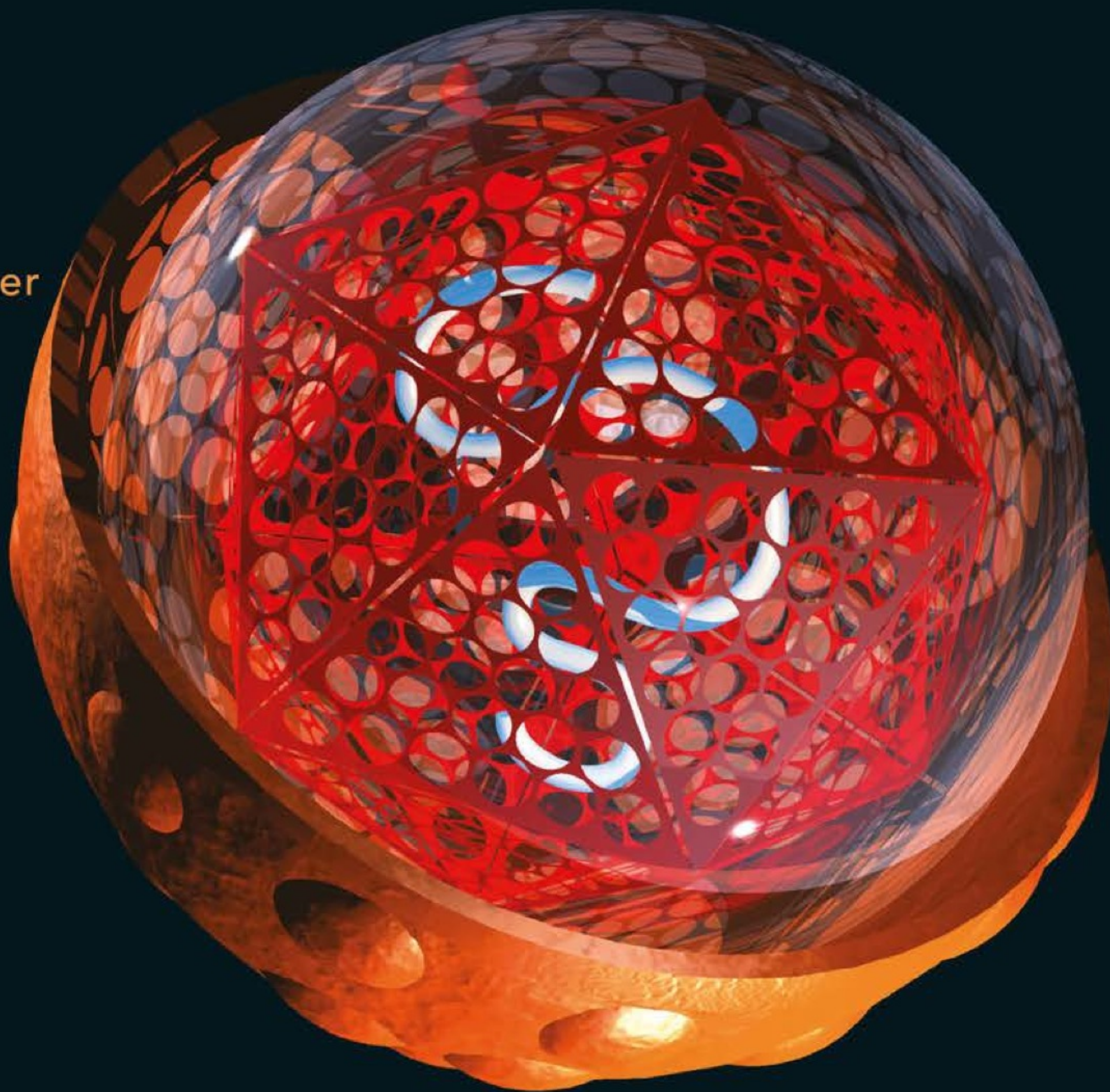


Geo. F. Brooks
Karen C. Carroll
Janet S. Butel
Stephen A. Morse
Timothy A. Mietzner



MICROBIOLOGIA MÉDICA

de Jawetz, Melnick e Adelberg

26ª Edição

Mc
Graw
Hill
Education



LANGE®

Tradução

Cláudio M. Rocha-de-Souza

Pesquisador visitante do Instituto de Tecnologia de Imunobiológicos Bio-Manguinhos — FIOCRUZ.
Doutor em Microbiologia Médica pela Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ).

Revisão técnica desta edição

José Procópio Moreno Senna

Pesquisador da vice-diretoria de desenvolvimento tecnológico do Instituto de Tecnologia de Imunobiológicos Bio-Manguinhos — FIOCRUZ.
Professor da disciplina de Bacteriologia do Mestrado Profissional em Tecnologia de Imunobiológicos Bio-Manguinhos — FIOCRUZ.
Doutor em Biologia Celular e Molecular pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS).



M626 Microbiologia médica de Jawetz, Melnick e Adelberg [recurso eletrônico] / Geo. F. Brooks ... [et al.] ; [tradução: Cláudio M. Rocha-de-Souza ; revisão técnica: José Procópio Moreno Senna].
– 26. ed. – Dados eletrônicos. – Porto Alegre : AMGH, 2014.

Editado também como livro impresso em 2014.
ISBN 978-85-8055-335-2

1. Microbiologia. I. Brooks, Geo. F.

CDU 579

Catálogo na publicação: Ana Paula M. Magnus – CRB10/2052

Um livro médico LANGE

Geo. F. Brooks, MD

*Professor of Laboratory Medicine and
Microbiology and Immunology
Chief, Microbiology Section
Clinical Laboratories
University of California, San Francisco, California*

Karen C. Carroll, MD

*Professor of Pathology
The Johns Hopkins University School of Medicine
Director, Division Medical Microbiology
The Johns Hopkins Hospital, Baltimore, Maryland*

Janet S. Butel, PhD

*Distinguished Service Professor
Chair, Department of Molecular Virology and Microbiology
Baylor College of Medicine, Houston, Texas*

Stephen A. Morse, PhD

*Associate Director for Environmental Microbiology
Division of Foodborne, Waterborne,
and Environmental Diseases
National Center for Emerging and Zoonotic
Infectious Diseases
Centers for Disease Control and Prevention
Atlanta, Georgia*

Timothy A. Mietzner, PhD

*Associate Professor
Department of Microbiology and Molecular Genetics
University of Pittsburgh School of Medicine, Pittsburgh
Adjunct Associate Professor of Microbiology
Arizona School of Dentistry and Oral Health
Mesa, Arizona*

MICROBIOLOGIA MÉDICA

de Jawetz, Melnick e Adelberg

26ª Edição

Versão impressa
desta obra: 2014



AMGH Editora Ltda.

2014

Obra originalmente publicada sob o título *Jawetz, Melnick & Adelberg's medical microbiology*, 26th edition
ISBN 0071790314 / 9780071790314

Original edition copyright ©2013, The McGraw-Hill Global Education Holdings, LLC., New York, New York 10020.
All rights reserved.

Portuguese translation copyright ©2014, AMGH Editora Ltda., a Grupo A Educação S.A. company.
All rights reserved.

Gerente editorial: *Leticia Bispo de Lima*

Colaboraram nesta edição

Editor: *Alberto Schwanke*

Assistente editorial: *Mirela Favaretto*

Preparação de originais: *Nádia da Luz Lopes*

Leitura final: *Carla Rosane Romanelli*

Arte sobre capa original: *Estúdio Castellani*

Editoração eletrônica: *Estúdio Castellani*

Nota

Assim como a medicina, a microbiologia é uma ciência em constante evolução. À medida que novas pesquisas e a própria experiência clínica ampliam o nosso conhecimento, são necessárias modificações na terapêutica, onde também se insere o uso de medicamentos. Os autores desta obra consultaram as fontes consideradas confiáveis, num esforço para oferecer informações completas e, geralmente, de acordo com os padrões aceitos à época da publicação. Entretanto, tendo em vista a possibilidade de falha humana ou de alterações nas ciências médicas, os leitores devem confirmar estas informações com outras fontes. Por exemplo, e em particular, os leitores são aconselhados a conferir a bula completa de qualquer medicamento que pretendam administrar, para se certificar de que a informação contida neste livro está correta e de que não houve alteração na dose recomendada nem nas precauções e contraindicações para o seu uso. Essa recomendação é particularmente importante em relação a medicamentos introduzidos recentemente no mercado farmacêutico ou raramente utilizados.

Reservados todos os direitos de publicação, em língua portuguesa, à
AMGH EDITORA LTDA., uma parceria entre GRUPO A EDUCAÇÃO S.A. e MCGRAW-HILL EDUCATION
Av. Jerônimo de Ornelas, 670 – Santana
90040-340 Porto Alegre RS
Fone: (51) 3027-7000 Fax: (51) 3027-7070

É proibida a duplicação ou reprodução deste volume, no todo ou em parte, sob quaisquer formas ou por quaisquer meios (eletrônico, mecânico, gravação, fotocópia, distribuição na Web e outros), sem permissão expressa da Editora.

Unidade São Paulo
Av. Embaixador Macedo Soares, 10.735 – Pavilhão 5 – Cond. Espace Center
Vila Anastácio 05095-035 São Paulo SP
Fone: (11) 3665-1100 Fax: (11) 3667-1333

SAC 0800 703-3444 – www.grupoa.com.br

Prefácio

Esta 26ª edição de *Microbiologia médica de Jawetz, Melnick e Adelberg* permanece fiel aos objetivos da 1ª edição, publicada em 1954, de “oferecer uma apresentação sucinta, precisa e atualizada dos aspectos da microbiologia médica particularmente relevantes às áreas de infecções clínicas e quimioterapia”. Todos os capítulos foram atualizados para refletir a abrangência do conhecimento médico proporcionada pelos mecanismos moleculares, pelos avanços em nossa compreensão sobre a patogênese microbiana e pela descoberta de novos patógenos. Entre as novidades, destacam-se:

- Conceitos-chave ao longo dos capítulos.
- Novas questões de revisão.
- Resumos ao final de cada capítulo.
- Novas fotografias e microfotografias coloridas.

Também é nova nesta edição a contribuição de Barbara Detrick, PhD, Professor, Division of Clinical Immunology, Department of Pathology, Johns Hopkins University School of Medicine. O conhecimento da Dra. Detrick em imunologia clínica e no papel das citocinas na saúde e na doença será de imenso valor a esta e a futuras edições.

Esperamos que as mudanças desta edição sejam úteis aos estudantes de microbiologia.

Os autores

Sumário

S E Ç Ã O



Fundamentos da Microbiologia 1

Stephen A. Morse, PhD e Timothy A. Meitzner, PhD

- 1 A ciência da microbiologia 1
- 2 Estrutura celular 11
- 3 Classificação das bactérias 43
- 4 Crescimento, sobrevivência e morte dos microrganismos 55
- 5 Cultura de microrganismos 67
- 6 Metabolismo microbiano 77
- 7 Genética microbiana 101

S E Ç Ã O



Imunologia 123

Barbara Detrick, PhD

- 8 Imunologia 123

S E Ç Ã O



Bacteriologia 149

Karen C. Carroll, MD

- 9 Patogênese da infecção bacteriana 149

- 10 Microbiota normal humana 165

- 11 Bacilos gram-positivos formadores de esporos: espécies *Bacillus* e *Clostridium* 175

- 12 Bacilos gram-positivos aeróbios não formadores de esporos: *Corynebacterium*, *Listeria*, *Erysipelothrix*, *Actinomyces* e patógenos relacionados 187

- 13 Estafilococos 199

- 14 Estreptococos, enterococos e outros gêneros relacionados 209

- 15 Bacilos entéricos gram-negativos (*Enterobacteriaceae*) 229

- 16 *Pseudomonas*, *Acinetobacter* e bactérias gram-negativas incomuns 245

- 17 Vibriões, *Campylobacter*, *Helicobacter* e bactérias associadas 255

- 18 *Haemophilus*, *Bordetella*, *Brucella* e *Francisella* 265

- 19 *Yersinia* e *Pasteurella* 279

- 20 Neissérias 285

- 21 Infecções causadas por bactérias anaeróbias 295

- 22 Legionelas, bartonelas e patógenos bacterianos incomuns 305

- 23 Micobactérias 313

- 24** Espiroquetas e outros microrganismos espiralados 327
- 25** Micoplasmas e bactérias com paredes celulares defeituosas 341
- 26** Riquetsias e gêneros relacionados 349
- 27** *Chlamydia* spp. 359
- 28** Quimioterapia antimicrobiana 371

S E Ç Ã O
IV Virologia 407

Jane Butel, PhD

- 29** Propriedades gerais dos vírus 407
- 30** Patogênese e controle das doenças virais 431
- 31** Parvovírus 451
- 32** Adenovírus 457
- 33** Herpes-vírus 467
- 34** Poxvírus 493
- 35** Vírus da hepatite 507
- 36** Picornavírus (grupos dos enterovírus e rinovírus) 527
- 37** Reovírus, rotavírus e calicivírus 543
- 38** Doenças virais transmitidas por artrópodes e roedores 553
- 39** Ortomixovírus (vírus *influenza*) 577
- 40** Paramixovírus e vírus da rubéola 591

- 41** Coronavírus 613
- 42** Raiva, infecções por vírus lentos e doenças causadas por príons 619
- 43** Vírus de cânceres humanos 633
- 44** Aids e lentivírus 653

S E Ç Ã O
V Micologia 671

Thomas G. Mitchell, PhD

- 45** Micologia médica 671

S E Ç Ã O
VI Parasitologia 715

*Judy A. Sakanari, PhD e
James H. McKerrow, MD, PhD*

- 46** Parasitologia médica 715

S E Ç Ã O
VII Diagnóstico em microbiologia médica e correlação clínica 753

Karen C. Carroll, MD

- 47** Princípios de microbiologia médica diagnóstica 753
- 48** Casos e correlações clínicas 785

Índice 823

A ciência da microbiologia

INTRODUÇÃO

A microbiologia é o estudo dos microrganismos. Um grande e diverso grupo de organismos microscópicos que existem em células isoladas ou em aglomerados, o qual também inclui os vírus, que são microscópicos mas não são células. Os microrganismos causam enorme impacto em toda a vida, bem como na constituição física e química de nosso planeta, e são responsáveis pelo transporte dos elementos químicos essenciais à vida, como o carbono, nitrogênio, enxofre, hidrogênio e oxigênio, além da fotossíntese, realizada por microrganismos diferentes das plantas verdes. Além disso, existem 100 milhões de vezes mais bactérias nos oceanos (13×10^{28}) do que estrelas no universo. A taxa de infecções virais nos oceanos é de cerca de 1×10^{23} por segundo, essas infecções removem entre 20 a 40% de todas as células bacterianas a cada dia. Estima-se que existam 5×10^{30} células microbianas na Terra; excluindo-se a celulose, essas células constituem cerca de 90% da biomassa da biosfera. Os seres humanos também têm íntima relação com os microrganismos, uma vez que mais de 90% das células do nosso corpo são micróbios. As bactérias presentes no intestino humano médio pesam aproximadamente 1 Kg, sendo que um adulto humano irá excretar o seu próprio peso em bactérias fecais a cada ano. O número de genes presentes na microbiota intestinal supera em 150 vezes o contido dentro do nosso genoma, até mesmo em nosso próprio genoma, 8% do DNA são derivados de fragmentos de genomas virais.

PRINCÍPIOS BIOLÓGICOS ILUSTRADOS PELA MICROBIOLOGIA

Em nenhuma outra forma, a **diversidade biológica** mostra-se tão notável quanto nos microrganismos, seres não diretamente

observados a olho nu. Quanto à forma e à função, em se tratando de propriedades bioquímicas ou de mecanismos genéticos, a análise dos microrganismos transporta-nos até os limites da compreensão biológica. Assim, a necessidade de **originalidade** — uma prova do mérito de uma **hipótese** científica — pode ser totalmente satisfeita pela microbiologia. Para ser útil, uma hipótese deve fornecer elementos básicos para uma **generalização**, e a ampla diversidade microbiana nos fornece um verdadeiro palco em que esse desafio é constante.

A **previsão**, a consequência prática da ciência, é o produto resultante de uma combinação de técnica e teoria. A **bioquímica**, a **biologia molecular** e a **genética** fornecem as ferramentas necessárias para a análise dos microrganismos. A **microbiologia** tem por função ampliar os horizontes dessas disciplinas científicas. Um biólogo pode descrever tal tipo de troca como **mutualismo**, ou seja, que tem a capacidade de favorecer todas as partes contribuintes. Os líquens são um exemplo de mutualismo microbiano; consistem em um fungo e um parceiro fototrófico, que pode ser uma alga (um eucarioto) ou uma cianobactéria (um procarioto). O componente fototrófico é o produtor primário, e o fungo atua fornecendo ao mesmo uma espécie de âncora de sustentação e proteção ao ambiente. Na biologia, o mutualismo é denominado **simbiose**, uma associação contínua que envolve diferentes organismos. Se a troca funciona principalmente em benefício de apenas uma das partes, a associação é descrita como parasitismo — uma relação em que um **hospedeiro** propicia o benefício primário ao parasito. O isolamento e a caracterização de um parasito, como, por exemplo, uma bactéria patogênica ou um vírus, com frequência exigem procedimentos laboratoriais que mimetizem o ambiente de crescimento proporcionado pelas células hospedeiras. Exigência que às vezes é um grande desafio para os pesquisadores.

Os termos “mutualismo”, “simbiose” e “parasitismo” estão relacionados com a ciência da **ecologia**, e os princípios da

biologia ambiental estão implícitos na microbiologia. Os microrganismos são produtos da **evolução**, a consequência biológica da **seleção natural** que opera sobre uma ampla variedade de organismos geneticamente diversos. Convém não esquecer a complexidade da história natural antes de formular generalizações acerca dos microrganismos, que constituem o conjunto mais heterogêneo de todos os seres vivos.

Existe uma importante divisão biológica que distingue os eucariotos, organismos que possuem um núcleo delimitado por membrana, dos procariotos, organismos cujo DNA não está fisicamente separado do citoplasma. Como descrito neste capítulo, bem como no Capítulo 2, outras diferenças importantes podem ser citadas entre os eucariotos e os procariotos. Por exemplo, os eucariotos distinguem-se pelo seu tamanho relativamente grande, bem como pela presença de organelas especializadas e delimitadas por membrana, como as mitocôndrias.

Conforme descreveremos adiante em mais detalhes, os microrganismos eucarióticos — ou, em termos filogenéticos, os *Eucarya* — são unificados por sua estrutura celular distinta e por sua história filogenética. Entre esses grupos de microrganismos estão as **algas**, os **protozoários**, os **fungos** e os **mixomicetos**.

VÍRUS

As propriedades singulares dos vírus os distinguem das outras formas de vida. Os vírus não possuem muitos dos atributos das células, o que inclui a capacidade de se replicar. Somente quando infecta uma célula é que um vírus adquire o atributo-chave de um sistema vivo a reprodução. Os vírus são conhecidos por infectarem todas as células, inclusive as células microbianas. Recentemente, foi descoberto que vírus denominados **virófagos** têm a capacidade de infectar outros vírus. As interações dos vírus com o hospedeiro tendem a ser altamente específicas, e a variedade biológica dos vírus existentes reflete a diversidade das células hospedeiras potenciais. A maior diversidade dos vírus é exibida pela ampla variedade de estratégias que eles usam para se replicar e sobreviver.

As partículas virais são geralmente pequenas (p. ex., adenovírus possui 90 nm) e consistem em uma molécula de ácido nucleico, DNA ou RNA, envolta por uma camada de proteína ou capsídeo (às vezes revestido por um invólucro de lipídeos, proteínas e carboidratos). As proteínas — com frequência glicoproteínas — encontradas no capsídeo determinam a especificidade da interação entre o vírus e a célula hospedeira. O capsídeo protege o ácido nucleico e facilita a fixação do vírus, bem como sua penetração na célula hospedeira. No interior da célula, o ácido nucleico viral direciona o mecanismo enzimático do hospedeiro para desempenhar funções associadas à replicação do vírus. Em alguns casos, a informação genética do vírus pode ser incorporada em forma de DNA dentro de um cromossomo do hospedeiro. Em outras circunstâncias, a informação genética viral pode servir de base para a produção celular e liberação de cópias do vírus, processo que requer a replicação do ácido nucleico viral e produção de proteínas virais específicas. A **maturação** consiste na organização do ácido nucleico e das subunidades proteicas recém-sintetizadas em partículas virais maduras que, em seguida, são liberadas no meio extracelular. Alguns vírus de tamanho muito pequeno necessitam do auxílio de outro vírus na célula hospedeira para sua

duplicação. O agente delta, também conhecido como vírus da hepatite D, é demasiado pequeno para codificar mesmo uma única proteína do capsídeo, e precisa do auxílio do vírus da hepatite B para sua transmissão. Os vírus são conhecidos por infectarem ampla variedade de hospedeiros vegetais e animais, bem como protistas, fungos e bactérias. Entretanto, a maioria dos vírus é capaz de infectar tipos específicos de célula e somente uma espécie de hospedeiro.

Alguns vírus são grandes e complexos. Por exemplo, o *Mimivirus* (um vírus de DNA), que infecta a *Acanthamoeba* (uma ameba de vida livre encontrada no solo) apresenta um diâmetro de 400 a 500 nm e um genoma que codifica 979 proteínas, incluindo as aminoacil tRNA sintetases (aaTRS), nunca encontradas fora de organismos celulares, como também enzimas que participam na biossíntese de polissacarídeos. Um vírus marinho ainda maior foi recentemente descoberto (megavírus); seu genoma (1.259,197-pb) codifica para 1.120 proteínas putativas, sendo assim maior do que os presentes em algumas bactérias (Quadro 7.1). Devido ao seu grande tamanho, esses vírus podem assemelhar-se a bactérias quando observados em preparações de coloração para microscopia óptica. Entretanto, não realizam divisão celular ou possuem ribossomos. Diversas doenças transmissíveis em plantas são causadas por **viroides** — pequenas moléculas de RNA circular de filamento único e covalentemente fechadas que se apresentam como estruturas semelhantes a bastonetes. Esses viroides não possuem capsídeos. Seu tamanho varia de 246 a 375 nucleotídeos de extensão. A forma extracelular de um viroide é RNA nu — não existe capsídeo de nenhum tipo. A molécula de RNA não contém genes que codificam proteínas, e, portanto, o viroide é totalmente dependente das funções do hospedeiro para sua replicação. O RNA viroide é replicado pela RNA polimerase dependente do DNA da planta hospedeira; a preferência por essa enzima pode contribuir para a patogenicidade dos viroides.

Constatou-se que as moléculas de RNA dos viroides contêm sequências de bases repetidas, invertidas em suas extremidades terminais 3' e 5', uma característica dos elementos transponíveis (Cap. 7) e de retrovírus. Por conseguinte, é provável que tenham evoluído a partir dos elementos transponíveis ou retrovírus por meio da deleção de sequências internas.

As propriedades gerais dos vírus de animais patogênicos para os seres humanos são descritas no Capítulo 29. Os vírus bacterianos são descritos no Capítulo 7.

PRÍONS

Várias descobertas notáveis, feitas nas últimas três décadas, levaram à caracterização molecular e genética do agente transmissível responsável pelo **scrapie** (prurido lombar dos carneiros), uma doença degenerativa do sistema nervoso central dos ovinos. Os estudos realizados identificaram uma proteína específica do **scrapie** em preparações de cérebros de carneiros infectados, que é capaz de reproduzir os sintomas da doença em carneiros anteriormente não infectados (Fig. 1.1). Os esforços para identificação de outros componentes, como o ácido nucleico, não tiveram sucesso. Para distinguir esse agente dos vírus e viroides, foi introduzido o termo **príon** para ressaltar sua natureza proteínica e infecciosa. A forma celular da proteína príon (PrP^c) é codificada pelo DNA cromossômico do

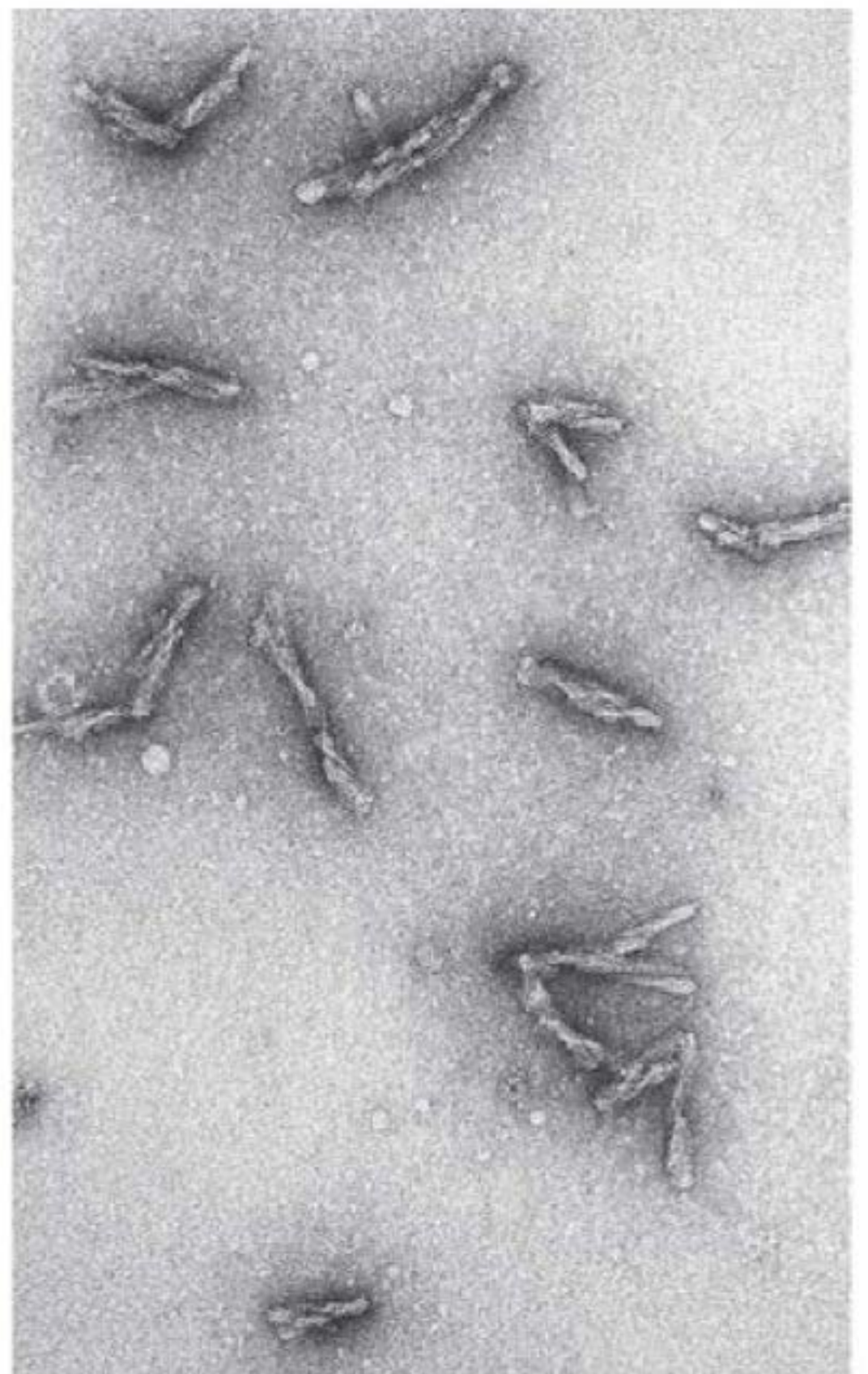


FIGURA 1.1 Príon. Príons isolados do cérebro de um *hamster* infectado por *scrapie*. Esta doença neurodegenerativa é causada por um príon. (Reproduzida, com autorização, de Stanley B. Prusiner.)

hospedeiro. A PrP^c é uma sialoglicoproteína com massa molecular (MM) de 33.000 a 35.000 daltons e alto conteúdo de uma estrutura secundária α -helicoidal sensível a proteases e solúvel em detergente. É expressa sobre a superfície dos neurônios por meio de uma âncora de glicosilfosfatidil inositol tanto em cérebros infectados quanto em cérebros não infectados. Uma mudança conformacional ocorre na proteína príon, alterando sua forma PrP^c normal ou celular para a conformação associada à doença, PrP^{Sc} (Fig. 1.2). Quando a PrP^{Sc} está presente em um indivíduo (devido à conversão conformacional espontânea ou infecção), é capaz de recrutar PrP^c e convertê-lo à isoforma associada à doença. Assim, os príons replicam utilizando o próprio substrato PrP^c que está presente no hospedeiro.

Existem outras doenças importantes causadas por príons (Quadro 1.1 e Cap. 42). O *kuru*, a doença de Creutzfeldt-Jakob (DCJ), a doença de Gerstmann-Sträussler-Scheinker e a insônia familiar fatal acometem os seres humanos. A encefalopatia espongiforme bovina, acredita-se que seja causada pela ingestão de rações e farinhas de ossos preparadas com sobras de carneiros abatidos, foi a responsável pela morte de mais de 184.000 cabeças de gado bovino na Grã-Bretanha desde sua descoberta em 1985. Uma nova variante da DCJ (vDCJ) foi associada à ingestão de carne bovina infectada por príon no Reino Unido e na França. Uma característica comum a todas essas doenças é a conversão de uma sialoglicoproteína codificada pelo hospedeiro em uma forma resistente a protease como consequência da infecção.

As doenças humanas causadas por príons são singulares, uma vez que se manifestam em forma de doenças esporádicas, genéticas e infecciosas. O estudo da biologia dos príons constitui uma área importante da investigação biomédica em desenvolvimento, e ainda há muito conhecimento a ser adquirido.

As características que distinguem os vírus e príons do mundo microbiano estão apresentadas no Quadro 1.2.

Tanto a proteína príon normal (PN) quanto a proteína príon anormal (PP) estão presentes.

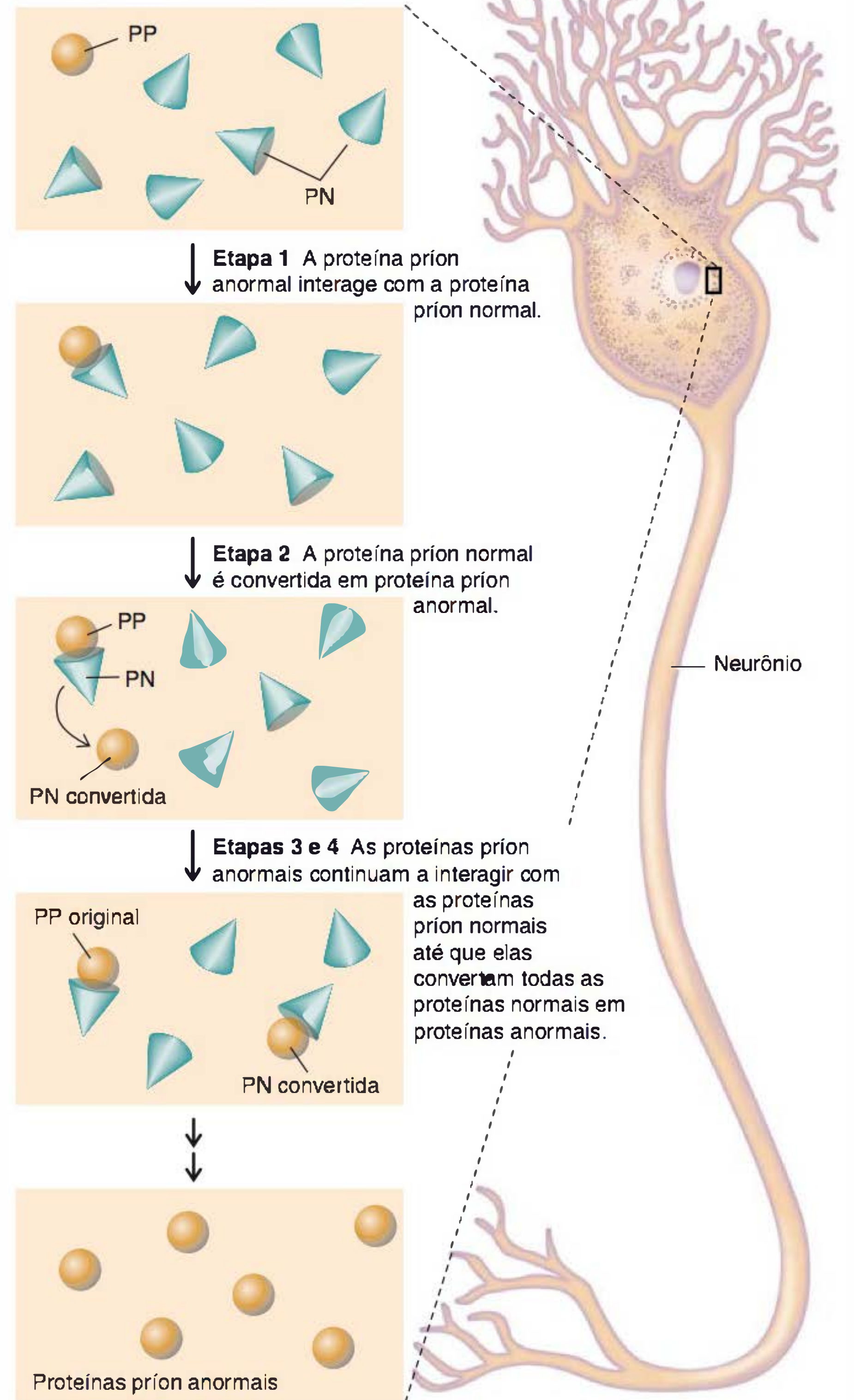


FIGURA 1.2 Mecanismo proposto pelo qual os príons se replicam. As proteínas príon normais e anormais diferem entre si por sua estrutura terciária. (Reproduzida, com autorização, de Nester EW, Anderson DG, Roberts CE, Nester MT (editors): *Microbiology: A Human Perspective*, 6th ed. McGraw-Hill, 2009, p. 342.)

PROCARIOTOS

As principais características que diferenciam os procariotos consistem em seu tamanho relativamente pequeno, em geral da ordem de 1 μm de diâmetro, e na ausência de membrana nuclear. O DNA de quase todas as bactérias é um círculo de cerca de 1 mm de extensão, representando o cromossomo procarioto. A maioria dos procariotos possui um único cromossomo. O DNA cromossômico tem de se dobrar mais de 1.000 vezes para ficar contido dentro da membrana da célula procariótica. Evidências substanciais sugerem a possibilidade de tais dobras serem ordenadas, permitindo uma proximidade de regiões específicas do DNA. A região especializada da célula que contém DNA é denominada **nucleoide**, podendo ser visualizada

QUADRO 1.1 Doenças causadas por príon comuns a seres humanos e a animais

Tipo	Nome	Etiologia
Doenças por príon no homem		
Aquisição	Doença variante de Creutzfeldt-Jakob ^a Kuru Doença iatrogênica de Creutzfeldt-Jakob ^b	Associada à ingestão ou inoculação de material infectado por príon
Esporádica	Doença de Creutzfeldt-Jakob	Fonte de infecção desconhecida
Familiar	Gerstmann-Sträussler-Scheinker Insônia familiar fatal Doença de Creutzfeldt-Jakob	Associada a mutações específicas dentro do gene que codifica a PrP
Doenças por príon em animais		
Gado	Encefalopatia espongiforme bovina	Exposição a carnes e ossos (ração) contaminados por príon
Carneiro	Scrapie	Ingestão de material contaminado por <i>scrapie</i>
Veado, alce	Doença degenerativa crônica	Ingestão de material contaminado por príon
Marta	Encefalopatia transmissível das martas	Fonte de infecção desconhecida
Gatos	Encefalite espongiforme felina ^a	Exposição a carnes e ossos (ração) contaminados por príon

^aAssociadas à exposição a materiais contaminados por encefalopatia espongiforme bovina (EEB).

^bAssociada a materiais biológicos contaminados por príon, tais como enxertos de dura-máter, transplante de córnea, hormônio do crescimento humano obtido de cadáveres ou instrumentos cirúrgicos contaminados por príon.

PrP, proteína priônica.

Reproduzido, com autorização, da American Society for Microbiology. Priola SA: How animal prions cause disease in humans. *Microbe* 2008; 3(12): 568.

QUADRO 1.2 Características diferenciadoras para vírus, viroides e príons

Vírus	Viroides	Príons
Agentes intracelulares obrigatórios	Agentes intracelulares obrigatórios	Proteína celular anormal
Apresentam ou DNA ou RNA revestido por uma camada de proteína	Consiste somente de RNA sem camada de proteína	Consiste somente de proteína, sem DNA ou RNA

Reproduzido, com autorização, de Nester EW, Anderson DG, Roberts CE, Nester MT (editors): *Microbiology: A Human Perspective*, 6th ed. McGraw-Hill, 2009, p. 13.)

por microscopia eletrônica, bem como por microscopia óptica após o tratamento da célula para tornar o nucleóide visível. Por conseguinte, seria um erro concluir que a diferenciação subcelular, nitidamente demarcada por membranas nos eucariotos, está ausente nos procariotos. Na verdade, alguns procariotos formam estruturas subcelulares delimitadas por membrana, com funções especializadas, como os cromatóforos das bactérias fotossintéticas (Cap. 2).

Diversidade dos procariotos

O pequeno tamanho do cromossomo procariótico limita a quantidade de informação genética que ele pode conter. Dados recentes, baseados na determinação da sequência do genoma, indicam que o número de genes dentro de um procarioto pode variar de 468 no *Mycoplasma genitalium* a 7.825 no *Streptomyces coelicolor*, e que muitos desses genes devem ter funções essenciais, como a produção de energia, a síntese das macromoléculas e a replicação celular. Qualquer procarioto transporta relativamente poucos genes que possibilitam a acomodação fisiológica do organismo a seu ambiente. A variedade de ambientes potenciais

dos procariotos é extraordinariamente ampla, podendo-se deduzir que o grupo dos procariotos abrange uma variedade heterogênea de especialistas, cada qual adaptado a um nicho estreitamente circunscrito.

A variedade de nichos procarióticos é ilustrada ao considerarmos as estratégias empregadas na produção de energia metabólica. A luz solar constitui a principal fonte de energia para a vida. Alguns procariotos, como as bactérias de cor púrpura, convertem a energia luminosa em energia metabólica sem produzir oxigênio. Outros procariotos — como, por exemplo, as bactérias azul-esverdeadas (**Cianobactérias**) — produzem oxigênio capaz de fornecer energia por meio da respiração, na ausência de luz. Os **microrganismos aeróbios** dependem da respiração com oxigênio para obterem energia. Alguns **microrganismos anaeróbios** podem utilizar aceptores de elétrons diferentes do oxigênio na respiração. Muitos anaeróbios realizam **fermentações**, em que a energia é obtida mediante o rearranjo metabólico dos substratos químicos de crescimento. A extraordinária variedade química dos substratos de crescimento potenciais para o crescimento aeróbio ou anaeróbio reflete-se na diversidade dos procariotos que se adaptaram à sua utilização.

Comunidades dos procariotos

Uma estratégia útil à sobrevivência dos especialistas consiste em formar **consórcios**, isto é, agrupamentos em que as características fisiológicas dos diferentes organismos contribuem para a sobrevivência do grupo como um todo. Se os organismos existentes no interior de uma comunidade fisicamente interconectada provêm diretamente de uma única célula, a comunidade consiste em um **clone** que pode conter até 10^8 células. A biologia dessa comunidade difere substancialmente daquela representada por uma única célula. Por exemplo, o elevado número de células praticamente assegura a presença, no interior do clone, de pelo menos uma célula portadora de uma variante de qualquer gene no cromossomo. Assim, a variabilidade genética — a fonte do processo evolutivo denominado seleção natural — é garantida no interior do clone. O elevado número de células no interior dos clones também tende a proporcionar uma proteção fisiológica para pelo menos alguns membros do grupo. Por exemplo, os polissacarídeos extracelulares podem fornecer proteção contra agentes potencialmente letais, como os antibióticos ou íons de metais pesados. As grandes quantidades de polissacarídeos produzidas pelo elevado número de células dentro de um clone podem possibilitar que as células em seu interior sobrevivam à exposição a determinado agente letal em uma concentração capaz de matar células isoladas.

Muitas bactérias usam um mecanismo de comunicação intercelular denominado *quorum sensing* para regular a transcrição dos genes envolvidos em diversos processos fisiológicos, como a bioluminescência, a transferência por conjugação de plasmídeos e a produção de determinantes de virulência. O dispositivo do *quorum sensing* depende da produção de uma ou mais moléculas sinalizadoras difusíveis denominadas **autoindutores** ou **feromônios**, que permitem à bactéria monitorar a densidade da sua própria população celular. Trata-se de um exemplo de comportamento multicelular nos procariotos.

Uma característica marcante dos procariotos é a sua capacidade de trocar pequenos fragmentos de informação genética. Esta informação pode ser transportada em **plasmídeos**, pequenos elementos genéticos especializados com capacidade de sofrer replicação dentro de pelo menos uma linhagem celular procariótica. Em alguns casos, os plasmídeos podem ser transferidos de uma célula para outra, sendo capazes de transportar conjuntos de informação genética especializada por meio de uma população. Alguns plasmídeos exibem **ampla variedade de hospedeiros**, que possibilita a transferência de conjuntos de genes a diversos organismos. Os **plasmídeos de resistência a fármacos**, que podem tornar diversas bactérias resistentes ao tratamento com antibióticos, são objeto de preocupação especial.

A estratégia de sobrevivência de uma única linhagem de células procarióticas pode levar a uma variedade de interações com outros organismos. Entre essas interações, podem-se incluir relações simbióticas ilustradas por complexas trocas nutricionais entre microrganismos no intestino humano. Tais trocas beneficiam tanto os microrganismos quanto o hospedeiro humano. As interações que envolvem parasitos podem ser deletérias para o hospedeiro. A simbiose avançada, ou parasitismo, pode levar à perda de funções que não permitem o crescimento do simbionte ou do parasito, independentemente de seu hospedeiro.

Os **micoplasmas**, por exemplo, são parasitos procariotos que perderam a capacidade de formar parede celular. A adaptação desses microrganismos a seu ambiente parasitado resultou na incorporação de uma quantidade significativa de colesterol no interior de suas membranas celulares. O colesterol, não encontrado em outros procariotos, é assimilado a partir do ambiente metabólico fornecido pelo hospedeiro. A perda de função também é exemplificada pelos parasitos intracelulares obrigatórios, como as **clamídias** e **riquetsias**, bactérias extremamente pequenas (com 0,2 a 0,5 μm de diâmetro) e que dependem da célula hospedeira para obter muitos metabólitos e coenzimas essenciais. Essa perda de função reflete-se na presença de um genoma menor, com menos genes (Quadro 7.1).

Os exemplos mais amplamente distribuídos de simbiontes bacterianos parecem os cloroplastos e as mitocôndrias, as organelas produtoras de energia dos eucariotos. Existem consideráveis evidências que levam à conclusão de que os ancestrais dessas organelas eram **endossimbiontes**, procariotos que estabeleceram simbiose no interior da membrana celular do hospedeiro eucariótico ancestral. A presença de inúmeras cópias das organelas pode ter contribuído para o tamanho relativamente grande das células eucarióticas e sua capacidade de especialização, característica que se reflete na evolução dos organismos multicelulares diferenciados.

Classificação dos procariotos

Para a compreensão de qualquer grupo de microrganismos, é necessário conhecer sua **classificação**. Um sistema de classificação apropriado possibilita ao cientista selecionar as características que irão tornar possível uma rápida e acurada categorização de um organismo recém-descoberto. A categorização possibilita a previsão de muitos outros traços compartilhados por outros membros da categoria. Em um ambiente hospitalar, a classificação bem-sucedida de determinado microrganismo patogênico pode fornecer a rota mais direta para sua eliminação. A classificação também pode proporcionar uma compreensão abrangente das relações entre diferentes organismos, informação capaz de assumir grande valor prático. Por exemplo, a eliminação de um microrganismo patogênico será relativamente prolongada se o seu *habitat* estiver ocupado por uma variante não patogênica.

Os princípios de classificação dos procariotos são discutidos no Capítulo 3. No início, é preciso reconhecer que qualquer característica de um procarioto pode servir como um possível critério de classificação. Entretanto, nem todos os critérios são igualmente eficazes no agrupamento dos organismos. Possuir DNA, por exemplo, não é um critério útil para se distinguirem os organismos, visto que todas as células contêm DNA. A presença de um plasmídeo com ampla variedade de hospedeiros não constitui um critério útil, uma vez que esses plasmídeos podem ser encontrados em diversos hospedeiros e não estar presentes o tempo todo. Para serem úteis, os critérios devem ser estruturais, fisiológicos, bioquímicos ou genéticos. Os **esporos** — estruturas celulares especializadas que podem permitir a sobrevivência do organismo em ambientes extremos — constituem critérios estruturais úteis para a classificação, visto que existem subgrupos bem caracterizados de bactérias que formam esporos. Alguns grupos de bactérias podem ser efetivamente subdivididos com base na sua capacidade de fermentar

carboidratos específicos, critérios que podem ser ineficazes quando aplicados a outros grupos de bactérias que não tenham qualquer capacidade fermentativa. Um teste bioquímico, a **coloração de Gram**, constitui um critério eficaz de classificação, já que a resposta ao corante reflete diferenças fundamentais e complexas na superfície celular bacteriana, dividindo a maior parte das bactérias em dois grupos principais.

Os critérios genéticos vêm sendo cada vez mais usados para a classificação das bactérias, e muitos deles tornaram-se possíveis em virtude do desenvolvimento de tecnologias baseadas na detecção do DNA. Na atualidade, é possível construir sondas genéticas ou realizar ensaios de amplificação de DNA (p. ex., testes de reação em cadeia da polimerase — PCR) capazes de identificar rapidamente os organismos que transportam regiões genéticas específicas com ancestral comum. A comparação de sequências de DNA para alguns genes levou à elucidação das **relações filogenéticas** entre os procariotos. Pode-se determinar a origem de linhagens celulares ancestrais, e os microrganismos podem ser agrupados com base nas suas afinidades evolutivas. Essas investigações levaram a algumas conclusões notáveis. Assim, por exemplo, a comparação de sequências do citocromo C sugere que todos os eucariotos, inclusive seres humanos, provêm de um de três diferentes grupos de bactérias fotossintéticas de cor púrpura. Tal conclusão explica em parte a origem evolutiva dos eucariotos, mas não leva totalmente em conta o ponto de vista geralmente aceito de que a célula eucariótica originou-se da fusão evolutiva de diferentes linhagens de células procarióticas.

Bactérias e arqueobactérias: as principais subdivisões dentro de procariotos

Um grande sucesso na filogenia molecular consistiu na demonstração de que os procariotos são classificados em dois principais grupos. A maioria das pesquisas foi dirigida para um grupo, o das bactérias. O outro grupo, constituído pelas arqueobactérias, tem recebido relativamente pouca atenção até o momento, em parte pelo fato de ser difícil estudar muitos de seus representantes em laboratório. Por exemplo, algumas arqueobactérias morrem ao entrar em contato com o oxigênio, enquanto outras crescem a temperaturas superiores à da ebulição da água. Antes mesmo de se obterem evidências moleculares, os principais subgrupos de arqueobactérias pareciam distintos. Os metanógenos efetuam uma respiração anaeróbia que dá origem ao metano; os halófilos exigem concentrações de sal extremamente altas para o seu crescimento; e os termoacidófilos necessitam de temperaturas altas e acidez. Na atualidade, sabe-se que esses procariotos compartilham características bioquímicas, tais como componentes da parede celular ou da membrana, que distinguem totalmente o grupo de todos os outros organismos vivos. Uma característica curiosa, compartilhada por arqueobactérias e eucariotos, é a presença de **íntrons** no interior dos genes. A função dos íntrons — segmentos de DNA que interrompem o DNA informativo no interior dos genes — ainda não foi estabelecida. O que sabemos é que os íntrons representam uma característica fundamental compartilhada pelo DNA das arqueobactérias e dos eucariotos. Esse traço comum sugere que — assim como as mitocôndrias e os cloroplastos parecem representar derivados evolutivos das bactérias — o núcleo dos eucariotos teria se originado de um ancestral arqueobacteriano.

PROTISTAS

O “núcleo verdadeiro” dos eucariotos (do grego *karyon*, “núcleo”) representa apenas uma de suas características diferenciais. As organelas delimitadas por membrana, os microtúbulos e os microfilamentos dos eucariotos formam uma estrutura intracelular complexa diferente daquela encontrada nos procariotos. Os agentes responsáveis pela motilidade das células eucarióticas são os flagelos ou cílios — estruturas complexas constituídas de inúmeros filamentos que não se assemelham aos flagelos dos procariotos. A expressão gênica nos eucariotos ocorre por meio de uma série de eventos que levam à integração fisiológica do núcleo com o retículo endoplasmático, estrutura sem equivalência nos procariotos. Os eucariotos diferem pela organização de seu DNA celular em cromossomos separados por um aparelho mitótico distinto durante a divisão celular.

Em geral, a transferência genética entre os eucariotos depende da fusão dos **gametas haploides** para formar uma célula **diploide** que contém um conjunto completo de genes derivados de cada gameta. O ciclo de vida de muitos eucariotos encontra-se quase totalmente no estado diploide, forma não encontrada nos procariotos. A fusão dos gametas para formar uma progênie reprodutiva é um evento altamente específico que estabelece a base para a **espécie** eucariótica. Esse termo só pode ser aplicado metaforicamente aos procariotos, que trocam fragmentos de DNA no processo de recombinação. Os agrupamentos taxonômicos dos eucariotos baseiam-se frequentemente em **propriedades morfológicas** compartilhadas, e é digno de nota o fato de muitos determinantes taxonomicamente úteis serem os associados à reprodução. Quase todas as espécies bem-sucedidas de eucariotos são aquelas cujas células estão estreitamente relacionadas, membros da mesma espécie, podendo recombinar-se para formar descendentes viáveis. As estruturas que contribuem direta ou indiretamente para o evento reprodutivo tendem a ser altamente desenvolvidas e com modificações menores entre espécies estreitamente relacionadas extensamente conservadas.

Os eucariotos microbianos — **protistas** — são membros dos quatro grupos principais: algas, protozoários, fungos e mixomicetos. É preciso ressaltar que esses agrupamentos não são necessariamente filogenéticos. Os microrganismos estreitamente relacionados podem ser categorizados separadamente, visto que certas semelhanças bioquímicas e genéticas subjacentes podem não ter sido reconhecidas.

Algas

O termo “algas” foi utilizado durante muito tempo para descrever todos os organismos que geram O_2 como produto da fotossíntese. Um importante subgrupo desses organismos — as bactérias azul-esverdeadas, ou cianobactérias — consiste em procariotos, de modo que esses microrganismos não são mais denominados algas. Tal classificação é reservada exclusivamente aos organismos eucarióticos fotossintéticos. Todas as algas contêm clorofila na membrana fotossintética de seus cloroplastos subcelulares. Muitas espécies de algas são microrganismos unicelulares. Outras algas podem formar estruturas multicelulares extremamente grandes. Os *kelps** de algas pardas possuem, às vezes,

* N. de R.T. *Kelps* são algas grandes pertencentes à classe *Phaeophyta*. Algumas espécies podem ser muito longas e formar “florestas de *kelps*”.



FIGURA 1.3 Microscopia eletrônica de varredura (ampliada 4.000 vezes) do dinoflagelado *Gymnodinium*. (Reproduzida, com autorização, de David M. Phillips/Visuals Unlimited.)

várias centenas de metros de extensão. Muitas algas produzem toxinas que são venenosas para o homem e outros animais. Os dinoflagelados, algas unicelulares, causam proliferação de algas, ou a maré vermelha, nos oceanos (Fig. 1.3). As marés vermelhas causadas pelas espécies de dinoflagelados *Gonyaulax* são preocupantes, pois este organismo produz neurotoxinas, tais como a **saxitoxina** e a **goniautoxina**, que se acumula em mariscos (p. ex.: moluscos, mexilhões, vieiras e ostras) que se alimentam deste organismo. A ingestão desses mariscos pelo ser humano resulta em sintomas de **paralisia por envenenamento**, que pode levar à morte.

Protozoários

Os protozoários são protistas unicelulares incapazes de realizar fotossíntese. Os protozoários mais primitivos parecem formas flageladas que, em muitos aspectos, assemelham-se aos representantes das algas. Aparentemente, os ancestrais desses protozoários eram algas que se tornaram **heterótrofos** — as necessidades nutricionais desses organismos são supridas por compostos orgânicos. A adaptação a um modo heterotrófico de vida foi às vezes acompanhada da perda dos cloroplastos, e, assim, as algas deram origem aos protozoários estreitamente relacionados. Foram observados eventos semelhantes em laboratório como resultado de mutações ou adaptações fisiológicas.

Os protozoários flagelados parecem ter evoluído para os tipos ameboides e ciliados. Formas intermediárias são conhecidas e podem apresentar flagelos em um estágio do seu ciclo de vida e pseudópodes (característicos das amebas) em outro estágio. Um quarto grupo importante de protozoários, os esporozoários, é constituído por parasitos estritos, em geral imóveis; a maior parte desses grupos reproduz-se sexuadamente ou assexuadamente, alternando gerações por meio de esporos. Os protozoários parasitos de seres humanos são discutidos no Capítulo 46.

Fungos

Os fungos são protistas não fotossintéticos que crescem como uma massa de filamentos ramificados e entrelaçados (“hifas”), conhecida como **micélio**. O maior micélio em extensão contínua produzido por um fungo foi encontrado no leste do Oregon (EUA) abrangendo uma área de 2.400 acres (9,7 km²). Embora as hifas exibam paredes transversais, tais paredes são perfuradas, permitindo a livre passagem dos núcleos e do citoplasma. Por conseguinte, o microrganismo como um todo é um cenócito (massa multinucleada de citoplasma contínuo) confinado dentro de uma série de tubos ramificados. Esses tubos, constituídos de polissacarídeos, como a quitina, são homólogos às paredes celulares. As formas miceliais são denominadas **bolores**; alguns tipos, conhecidos como **leveduras**, não formam micélio, mas são facilmente reconhecidos como fungos pela natureza de seus processos de reprodução sexuada e pela presença de formas de transição.

Os fungos provavelmente representam um ramo evolutivo dos protozoários. Não têm qualquer relação com os actinomicetos, que consistem em bactérias miceliais com as quais se assemelham superficialmente. As principais subdivisões (*phyla*) dos fungos são: *Chytridiomycota*, *Zygomycota* (os zigomicetos), *Ascomycota* (os ascomicetos), *Basidiomycota* (os basidiomicetos) e os “deuteromicetos” (ou fungos imperfeitos).

A evolução dos ascomicetos a partir dos ficomicetos é observada em um grupo de transição cujos membros formam um zigoto, que, em seguida, se transforma diretamente em asco. Acredita-se que os basidiomicetos tenham evoluído a partir dos ascomicetos. A classificação dos fungos e seu significado clínico são discutidos em detalhes no Capítulo 45.

Mixomicetos

São microrganismos que se caracterizam pela presença, em um estágio do seu ciclo de vida, de uma massa de citoplasma multinucleada e amebóide denominada **plasmódio**. O plasmódio de um mixomiceto é uma estrutura análoga ao micélio de um fungo verdadeiro. Ambos são cenocíticos. No micélio, o fluxo citoplasmático limita-se à rede ramificada de tubos de quitina, ao passo que, no plasmódio, o citoplasma pode fluir em todas as direções. Esse fluxo faz que o plasmódio migre na direção de sua fonte alimentar, que frequentemente consiste em bactérias. Em resposta a um sinal químico (p. ex.: o AMP cíclico 3' 5' [Cap. 7]), o plasmódio, que atinge um tamanho macroscópico, diferencia-se em um corpo pedunculado capaz de produzir células móveis, flageladas ou amebóides. Essas células iniciam uma nova etapa no ciclo de vida do mixomiceto (Fig. 1.4). Com frequência, o ciclo é iniciado por fusão sexual de células individuais.

O ciclo de vida dos mixomicetos ilustra um tema central deste capítulo: a interdependência das formas vivas. O crescimento dos mixomicetos depende de nutrientes fornecidos por células bacterianas ou, em alguns casos, por células vegetais. A reprodução dos mixomicetos via plasmódios pode depender do reconhecimento intercelular e da fusão entre células da mesma espécie. Para uma compreensão mais completa de um microrganismo, é necessário não apenas o conhecimento dos outros organismos com os quais ele coevoluiu como também uma apreciação sobre a variedade de respostas fisiológicas capazes de contribuir para a sua sobrevivência.

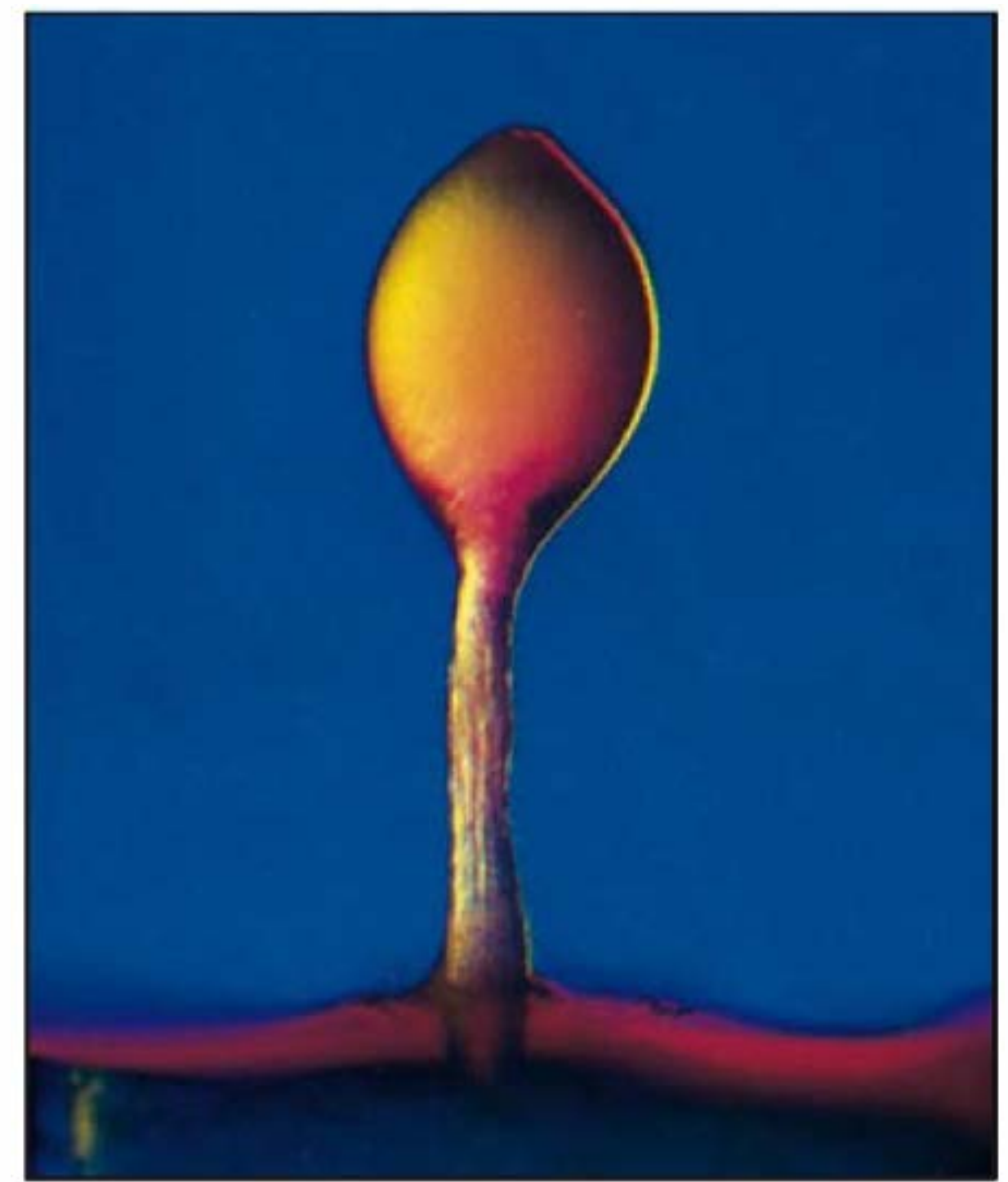
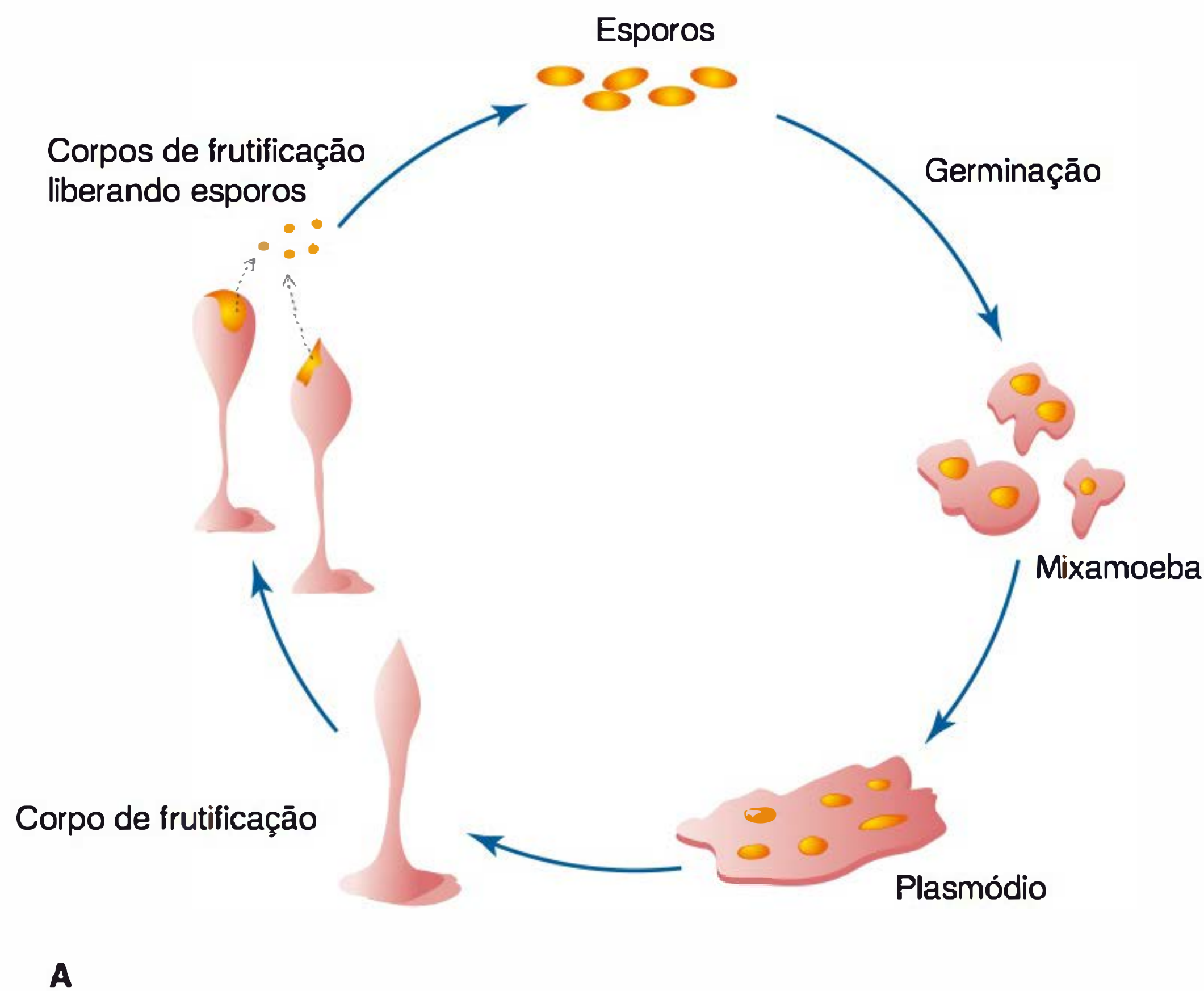


FIGURA 1.4 Mixomicetos. (A) Ciclo de vida de um mixomiceto acelular. (B) Corpo de frutificação de um mixomiceto acelular. (Reproduzida, com autorização, de Carolina Biological Supply/Phototake, Inc.)

RESUMO DO CAPÍTULO

- Os microrganismos são um grupo grande e diversificado que abrangem seres uni e pluricelulares; eles também incluem vírus, que são microscópios, porém não celulares.
- Um vírus consiste em uma molécula de ácido nucleico (DNA ou RNA) envolvida por proteínas, que formam o capsídeo. Alguns vírus podem apresentar um envelope composto por lipídeos, proteínas e carboidratos.
- Um príon é uma proteína infectante capaz de causar doenças neurológicas crônicas.
- Procariotos são divididos em bactérias e arqueobactérias.
- Procariotos são haploides.
- Eucariotos inferiores, ou protistas, estão representados em quatro grupos principais: algas, protozoários, fungos e mixomicetos.
- Eucariotos possuem membrana nuclear e são diploides.

QUESTÕES DE REVISÃO

- Qual dos seguintes termos caracteriza a interação entre um fungo e uma alga em um líquen?
 - Parasitismo
 - Simbiose
 - Endossimbiose
 - Endoparasitismo
 - Consórcio
- Qual dos seguintes agentes não possui ácido nucleico?
 - Bactéria
 - Vírus
 - Viroide
 - Príon
 - Protozoário
- Qual dos seguintes organismos não é um protista?
 - Bactéria
 - Alga
 - Protozoário
 - Fungo
 - Mixomiceto
- Qual dos seguintes agentes contém simultaneamente DNA e RNA?
 - Bactéria
 - Vírus
 - Viroide
 - Príon
 - Plasmídeo
- Um homem de 65 anos de idade desenvolveu demência progressiva no decorrer de alguns meses, com ataxia e sonolência. O perfil eletroencefalográfico mostrou paroxismos com altas voltagens e ondas lentas, sugestivos de doença de Creutzfeldt-Jakob. Esta doença é causada por qual dos seguintes agentes?
 - Bactéria
 - Vírus
 - Viroide
 - Príon
 - Plasmídeo
- Qual dos seguintes microrganismos não é infectado por vírus?
 - Bactéria
 - Protozoário
 - Células humanas
 - Vírus
 - Nenhuma das opções acima
- Vírus, bactérias e protozoários são caracterizados unicamente por seus respectivos tamanhos. Verdadeiro ou falso?
 - Verdadeiro
 - Falso

8. Qual dos seguintes microrganismos é um procarioto?
- (A) Arqueobacteria
(B) Protozoário
(C) Vírus
(D) Príon
(E) Fungo
9. *Quorum sensing* em procariotos envolve:
- (A) Comunicação intercelular
(B) Produção de feromônios
(C) Um exemplo de comportamento multicelular
(D) Regulação de genes envolvidos em diversos processos fisiológicos
(E) Todas as respostas acima
10. Vinte minutos após a ingestão de mariscos crus, um homem de 35 anos de idade apresentou parestesia facial e nas extremidades, cefaleia e ataxia. Esses sintomas são resultados de uma neurotoxina produzida por algas chamadas:
- (A) Ameba
(B) Cianobactéria
(C) Dinoflagelado
(D) Kelp
(E) Nenhuma das respostas acima

Respostas

- | | | | |
|------|------|------|-------|
| 1. B | 4. A | 7. B | 10. C |
| 2. D | 5. D | 8. A | |
| 3. A | 6. E | 9. E | |

REFERÊNCIAS

- Arslan D, Legendre M, Seltzer V. et al.: Distant Mimivirus relative with a larger genome highlights the fundamental features of Megaviridae. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2011;108:17486.
- Belay ED: Transmissible spongiform encephalopathies in humans. *Annu Rev Microbiol* 1999;53:283.
- Colby DW, Prusiner SB: De novo generation of prion strains. *Nature Rev Microbiol* 2011;9:771.
- Diener TO: Viroids and the nature of viroid diseases. *Arch Virol* 1999;15(Suppl):203.
- Fournier PE, Raoult D: Prospects for the future using genomics and proteomics in clinical microbiology. *Annu Rev Microbiol* 2011;65:169.
- Lederberg J (editor): *Encyclopedia of Microbiology*, 4 vols. Academic Press, 1992.
- Olsen GJ, Woese CR: The winds of (evolutionary) change: Breathing new life into microbiology. *J Bacteriol* 1994;176:1.
- Pelczar MJ Jr, Chan ECS, Krieg NR: *Microbiology: Concepts and Applications*. McGraw-Hill, 1993.
- Priola SA: How animal prions cause disease in humans. *Microbe* 2008; 3:568.
- Prusiner SB: Biology and genetics of prion diseases. *Annu Rev Microbiol* 1994;48:655.
- Reisser W (editor): *Algae and Symbiosis: Plants, Animals, Fungi, Viruses, Interactions Explored*. Biopress, 1992.
- Schloss PD, Handelsman J: Status of the microbial census. *Microbiol Mol Biol Rev* 2004;68:686.
- Sleigh MA: *Protozoa and Other Protists*. Chapman & Hall, 1990.
- Whitman WB, Coleman DC, Wiebe WJ: Prokaryotes: The unseen majority. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1998;95:6578.

Estrutura celular

INTRODUÇÃO

Neste capítulo, discutimos a estrutura básica e a função dos componentes que constituem as células eucarióticas e as procarióticas. O capítulo inicia-se com uma discussão sobre o microscópio. Historicamente, foi o microscópio que primeiramente revelou a presença das bactérias e, mais tarde, os segredos da estrutura celular. Hoje, continua sendo uma poderosa ferramenta em biologia celular.

MÉTODOS ÓPTICOS

O microscópio óptico

O poder de resolução do microscópio óptico, em condições ideais, corresponde aproximadamente a metade do comprimento de onda da luz utilizada. (O **poder de resolução** refere-se a distância que deve separar dois pontos de luz para que sejam vistos como duas imagens distintas.) No caso da luz amarela, cujo comprimento de onda é de $0,4 \mu\text{m}$, o menor diâmetro separável é, portanto, de cerca de $0,2 \mu\text{m}$, ou seja, um terço da largura de uma célula procariótica típica. A ampliação útil no microscópio é a que possibilita a visualização das menores partículas passíveis de resolução. Em geral, vários tipos de microscópio óptico são empregados em microbiologia.

A. Microscópio de campo luminoso (microscópio óptico comum)

O microscópio de campo luminoso é o mais empregado em microbiologia de rotina, e consiste em duas séries de lentes (**objetiva e ocular**), que funcionam em conjunto na resolução de imagens. Estes microscópios geralmente empregam uma objetiva com poder de aumento de 100 vezes, com uma ocular de aumento de 10 vezes, aumentando a amostra 1.000 vezes. Por conseguinte, as partículas com $0,2 \mu\text{m}$ de diâmetro são ampliadas até cerca de $0,2 \text{mm}$, tornando-se nitidamente visíveis. A ampliação adicional não proporciona maior resolução dos detalhes, e pode reduzir a área visível (**campo**).

Com esse microscópio, as amostras são visualizadas devido a diferenças de **contraste** entre elas e o meio ao redor. Muitas bactérias são difíceis de visualizar devido à perda de contraste com o meio. Corantes podem ser usados para corar células ou suas organelas e aumentar seu contraste de modo a tornar mais fácil a visualização em microscopia de campo luminoso.

B. Microscópio de contraste de fase

O microscópio de contraste de fase foi desenvolvido para aumentar as diferenças de contraste entre as células e o meio ao redor, tornando possível que as células vivas sejam vistas sem que precisem ser coradas; com microscópios de campo luminoso, é preciso empregar preparações que coram e matam a célula. O microscópio de contraste de fase tem como vantagem o fato de que as ondas de luz passam através de objetos transparentes, tais como as células, aparecendo em diferentes fases, dependendo das propriedades dos materiais através dos quais elas passam. Esse efeito é ampliado por um anel especial nas lentes da objetiva do microscópio de contraste de fase, o que leva à formação de imagem escura em forma de luz de fundo.

C. Microscópio de campo escuro

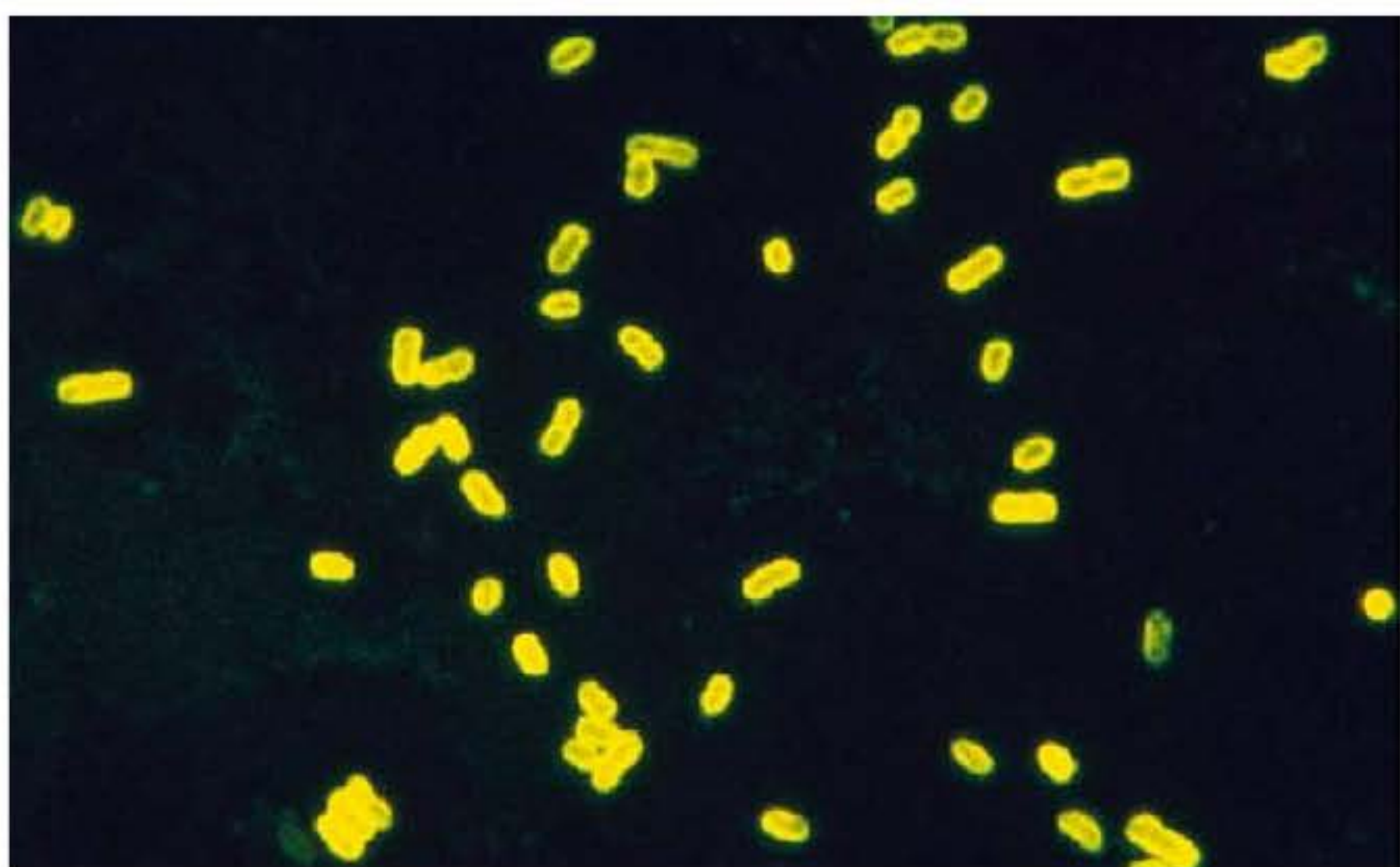
O microscópio de campo escuro é um microscópio óptico no qual o sistema de iluminação foi modificado para atingir somente os lados da amostra. Isso é obtido pelo uso de um condensador especial que bloqueia tanto os raios da luz direta quanto a luz refletida para o exterior através de um espelho posicionado ao lado do condensador em ângulo oblíquo. Cria-se assim um “campo escuro” que contrasta com a borda sombreada das amostras, surgindo quando os raios oblíquos são refletidos a partir das bordas da amostra em direção ascendente à objetiva do microscópio. A resolução obtida por um microscópio de campo escuro é bastante elevada. Assim, essa técnica foi particularmente valiosa na observação de certos organismos, como o *Treponema pallidum*, um espiroqueta com menos de $0,2 \mu\text{m}$ de diâmetro e que não pode ser observado com um microscópio óptico convencional ou de contraste de fase (Fig. 2.1A).

D. Microscópio de fluorescência

O microscópio de fluorescência é utilizado para visualização de amostras que **fluorescem**, que é a faculdade de absorver a luz em comprimentos de onda curtos (ultravioleta) e não brilhar em comprimentos de onda mais longos (luz visível). Alguns organismos fluorescem naturalmente devido à presença de substâncias fluorescentes naturais presentes no interior das células, tais como a clorofila. Aqueles que não apresentam fluorescência natural podem ser corados com um grupo de corantes fluorescentes, chamados **fluorocromos**. O microscópio de fluorescência é amplamente utilizado em diagnósticos de microbiologia clínica. Por exemplo, o fluorocromo auramina O,

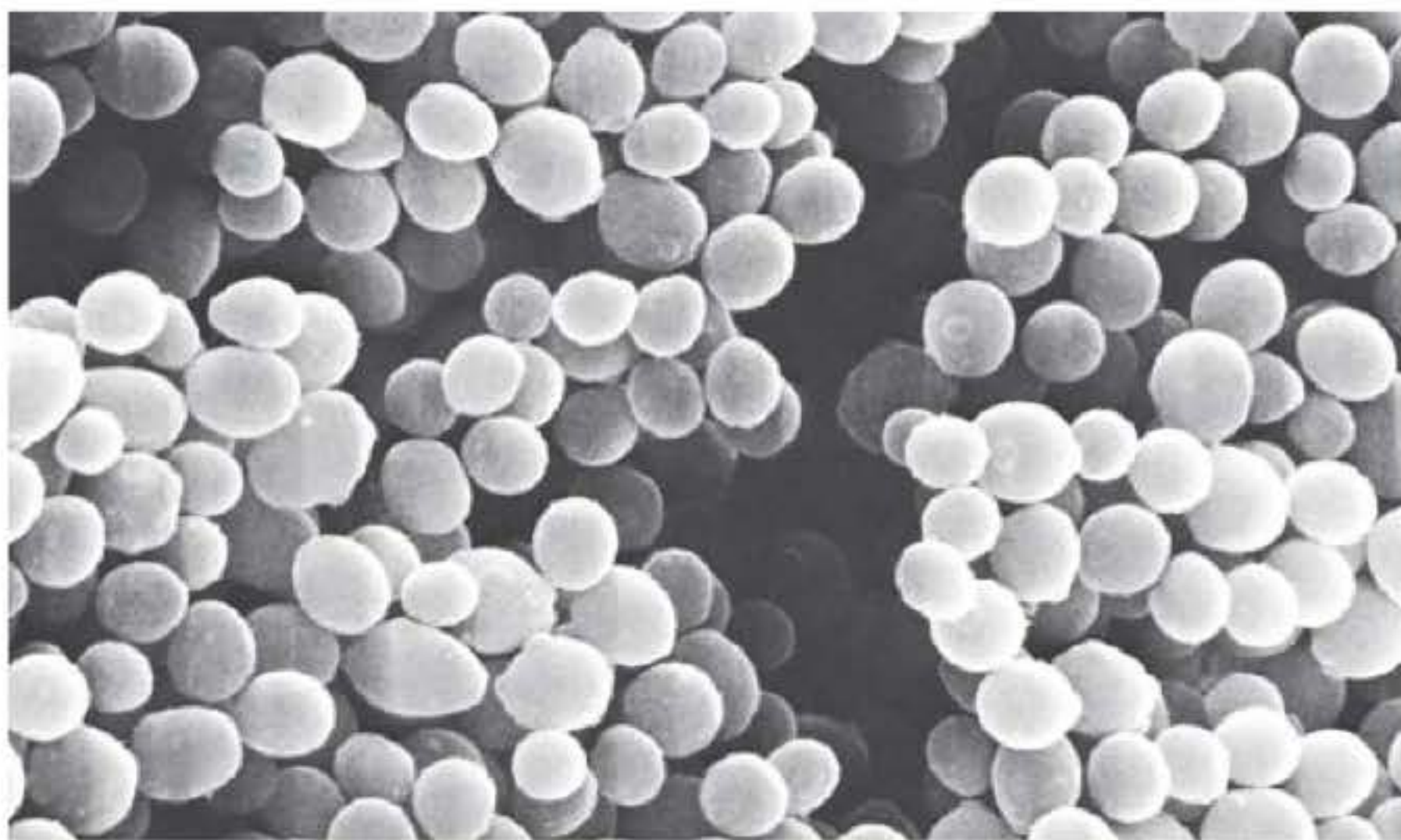


A



B

10 μm



C

FIGURA 2.1 (A) Exame positivo de microscopia de campo escuro. Os treponemas são reconhecíveis pela sua forma espiralada característica e os movimentos deliberados para a frente e para trás com rotação em torno do eixo longitudinal. (Reproduzida, com autorização, de Charles Stratton/Visuals Unlimited.) (B) Fotomicrografia de fluorescência. Bastonetes marcados com corante fluorescente. (© Evans Roberts) (C) Microscopia eletrônica de varredura da bactéria — *Staphylococcus aureus* (ampliada 32.000 vezes). Reproduzida, com autorização, de David M. Phillips/Photo Researchers, Inc.)

que dá um brilho amarelo quando exposto à luz ultravioleta, é fortemente absorvido pelo *Mycobacterium tuberculosis*, a bactéria que causa a tuberculose. Quando o corante é aplicado a uma amostra sob suspeita de conter o *M. tuberculosis* e exposta à luz ultravioleta, a bactéria pode ser detectada pela aparência dos organismos com um brilho amarelo contra um fundo escuro.

O principal uso da microscopia de fluorescência é na técnica de diagnóstico chamada **técnica do anticorpo fluorescente (FA, fluorescent-antibody)** ou **imunofluorescência**. Por essa técnica, anticorpos específicos (p. ex., anticorpos contra a *Legionella pneumophila*) são marcados quimicamente com um fluorocromo, como o **isotiocianato de fluoresceína (FITC, fluorescein isothiocyanate)**. Em seguida, tais anticorpos fluorescentes são adicionados a uma lâmina de microscópio que contém a amostra clínica. Se a amostra contiver *L. pneumophila*, o anticorpo fluorescente se liga aos antígenos de superfície da bactéria, produzindo fluorescência quando exposto à luz ultravioleta (Fig. 2.1B).

E. Microscópio de interferência diferencial de contraste

Os microscópios de **interferência diferencial de contraste (DIC, differential interference contrast)** utilizam um polarizador para produzir luz polarizada. Os feixes de luz polarizada passam através de um prisma que vai gerar dois tipos distintos de feixes, os quais passam através da amostra e entram nas lentes da objetiva, onde são recombinados em um feixe simples. Devido às ligeiras diferenças do índice de refração das substâncias para cada feixe que passa por elas, os feixes combinados não ficam totalmente na mesma fase; em vez disso, criam um efeito de interferência que intensifica as sutis diferenças na estrutura celular. Estruturas, como esporos, vacúolos e grânulos, aparecem em forma tridimensional. A microscopia de DIC é particularmente útil para a observação de células não coradas devido à sua capacidade de gerar imagens que revelam estruturas celulares internas, menos aparentes pelas técnicas de microscopia óptica.

O microscópio eletrônico

O alto poder de resolução dos microscópios eletrônicos possibilitou aos cientistas observar em detalhes as estruturas das células procarióticas e das eucarióticas. A resolução superior do microscópio eletrônico deve-se ao fato de os elétrons terem um comprimento de onda muito mais curto do que o dos fótons de luz branca.

Existem dois tipos de microscópio eletrônico de uso geral: o **microscópio eletrônico de transmissão (MET)**, que tem muitas características em comum com o microscópio óptico, e o **microscópio eletrônico de varredura (MEV)**. O MET foi o primeiro a ser desenvolvido, e utiliza um feixe de elétrons emitido de um canhão, que é direcionado ou focalizado por um condensador eletromagnético sobre uma amostra delgada. À medida que os elétrons incidem na amostra, são dispersos diferencialmente de acordo com o número e a massa de átomos na amostra; alguns elétrons atravessam a amostra, sendo reunidos e focalizados por uma lente objetiva eletromagnética que fornece uma imagem da amostra ao sistema de lentes projetoras para maior ampliação. A imagem é visualizada ao incidir em uma tela que fluoresce com a incidência dos elétrons, e pode

ser registrada em filme fotográfico. O MET tem uma capacidade de resolução de 0,001 μm para as partículas distantes. Os vírus, com diâmetros de 0,01 a 0,2 μm , podem ser facilmente observados.

Em geral, o MEV tem menor poder de resolução do que o MET, mas é particularmente útil ao fornecer imagens tridimensionais da superfície dos materiais microscópicos. Os elétrons são focados através de lentes em um ponto muito fino. A interação dos elétrons com a amostra resulta na liberação de diferentes formas de radiação (p. ex., elétrons secundários) da superfície do material, que podem ser capturadas por um detector apropriado, ampliadas e, em seguida, apresentadas em forma de imagem na tela de uma televisão (Fig. 2.1C).

Uma técnica importante em microscopia eletrônica consiste no uso de “sombreamento”. Esta técnica envolve a deposição de uma fina camada de metal pesado (p. ex.: platina) sobre a amostra, colocando-a no trajeto de um feixe de íons metálicos no vácuo. O feixe é direcionado obliquamente até a amostra, de modo que esta adquira uma “sombra” na forma de uma área não revestida no lado oposto. Quando um feixe de elétrons atravessa a preparação recoberta no microscópio eletrônico e forma-se uma cópia positiva da imagem “negativa”, obtém-se um efeito tridimensional (p. ex., Fig. 2.22).

Outras técnicas importantes de microscopia eletrônica consistem no uso de cortes ultrafinos de material embebido; um método de congelamento-ressecamento de amostras que impede a deformação causada pelos procedimentos convencionais de ressecamento; e a utilização de coloração negativa com material de alta densidade de elétrons, como o ácido fosfotúngstico ou sais de urânio (Fig. 42.1). Na ausência desses sais de metais pesados, não haveria contraste suficiente para detectar os detalhes da amostra.

Microscópio de varredura confocal a laser

O **microscópio de varredura confocal a laser (MVCL)** acopla uma fonte de raio *laser* à luz do microscópio. Na microscopia de varredura confocal a *laser*, um feixe de *laser* é espalhado contra um espelho que o direciona através de um orifício que ajusta precisamente o plano de foco do feixe a uma camada vertical no interior da amostra. Pela iluminação precisa de um único plano da amostra, a intensidade de iluminação cai rapidamente acima e abaixo do plano de foco, e a luz se perde para outros planos de focos, minimizados. Assim, em uma amostra relativamente espessa, podem-se observar várias camadas ajustando-se o plano de foco da luz a *laser*.

Certas células são frequentemente coradas com corantes fluorescentes para que se tornem mais visíveis. Como alternativa, imagens com falsas cores podem ser geradas pelo ajuste do microscópio de modo que diferentes camadas apresentem diferentes colorações. Os MVCL são equipados com um programa de computador para agrupar imagens digitais e processá-las posteriormente. Assim, as imagens obtidas de diferentes camadas podem ser armazenadas e superpostas digitalmente para se reconstruir uma imagem tridimensional da amostra inteira.

Microscópios de varredura por sonda

Uma nova classe de microscópios, chamados **microscópios de varredura por sonda**, medem as características da superfície

pelo movimento de uma sonda pontiaguda sobre a superfície do objeto. A **microscopia de varredura por tunelamento** e o **microscópio de força atômica** são exemplos dessa nova classe de microscópios, que possibilitam aos cientistas visualizar átomos ou moléculas na superfície de uma amostra. Por exemplo, as interações entre as proteínas de uma bactéria *Escherichia coli* podem ser estudadas com um microscópio de força atômica.

ESTRUTURA DA CÉLULA EUCARIÓTICA

O núcleo

O **núcleo** contém o genoma da célula, e é delimitado por uma membrana que consiste em um par de membranas separadas por um espaço de espessura variável. A membrana interna é geralmente um saco simples, mas a membrana externa é, em muitos casos, contínua ao retículo endoplasmático (RE). A **membrana nuclear** exibe permeabilidade seletiva devido à presença de poros que consistem em um complexo de diversas proteínas cuja função é importar e exportar substâncias de/para dentro ou de/para fora do núcleo. Os cromossomos das células eucarióticas contêm macromoléculas de DNA lineares, dispostas em dupla hélice, visíveis ao microscópio óptico apenas quando a célula sofre divisão, e o DNA encontra-se em uma forma altamente condensada; nas outras fases do ciclo, os cromossomos não estão condensados e apresentam o aspecto mostrado na Figura 2.2. As macromoléculas de DNA da célula eucariótica estão associadas a proteínas básicas, denominadas **histonas**, que se ligam ao DNA por interações iônicas.

Uma estrutura frequentemente visível no interior do núcleo é o **nucléolo**, uma área rica em RNA, o local da síntese do RNA ribossômico (Fig. 2.2). As proteínas ribossômicas sintetizadas no citoplasma são transportadas ao nucléolo e combinam-se com o RNA ribossômico para formar as subunidades (grande e pequena) do ribossomo eucariótico. Em seguida, são exportadas para o citoplasma, onde se associam para formar um ribossomo intacto que pode funcionar na síntese das proteínas.

Estruturas citoplasmáticas

O citoplasma das células eucarióticas caracteriza-se pela presença do RE, vacúolos, plastídeos autorreprodutivos e um citoesqueleto elaborado, constituído de microtúbulos, microfilamentos e filamentos intermediários.

O **retículo endoplasmático (RE)** é uma rede de membranas ligadas por canais contínuos à membrana nuclear. São reconhecidos dois tipos de RE: o **rugoso**, que contém ribossomos 80S ligados, e o **liso**, que não os possui (Fig. 2.2). O RE rugoso é o principal produtor de glicoproteínas e produz o material da nova membrana, transportada através da célula. O RE liso participa da síntese dos lipídeos e, em alguns aspectos, do metabolismo dos carboidratos. O **aparelho de Golgi** consiste em vesículas de membranas que funcionam em conjunto com o RE para modificar quimicamente e transformar os produtos do RE destinados a serem secretados e que atuam em outras estruturas da membrana da célula.

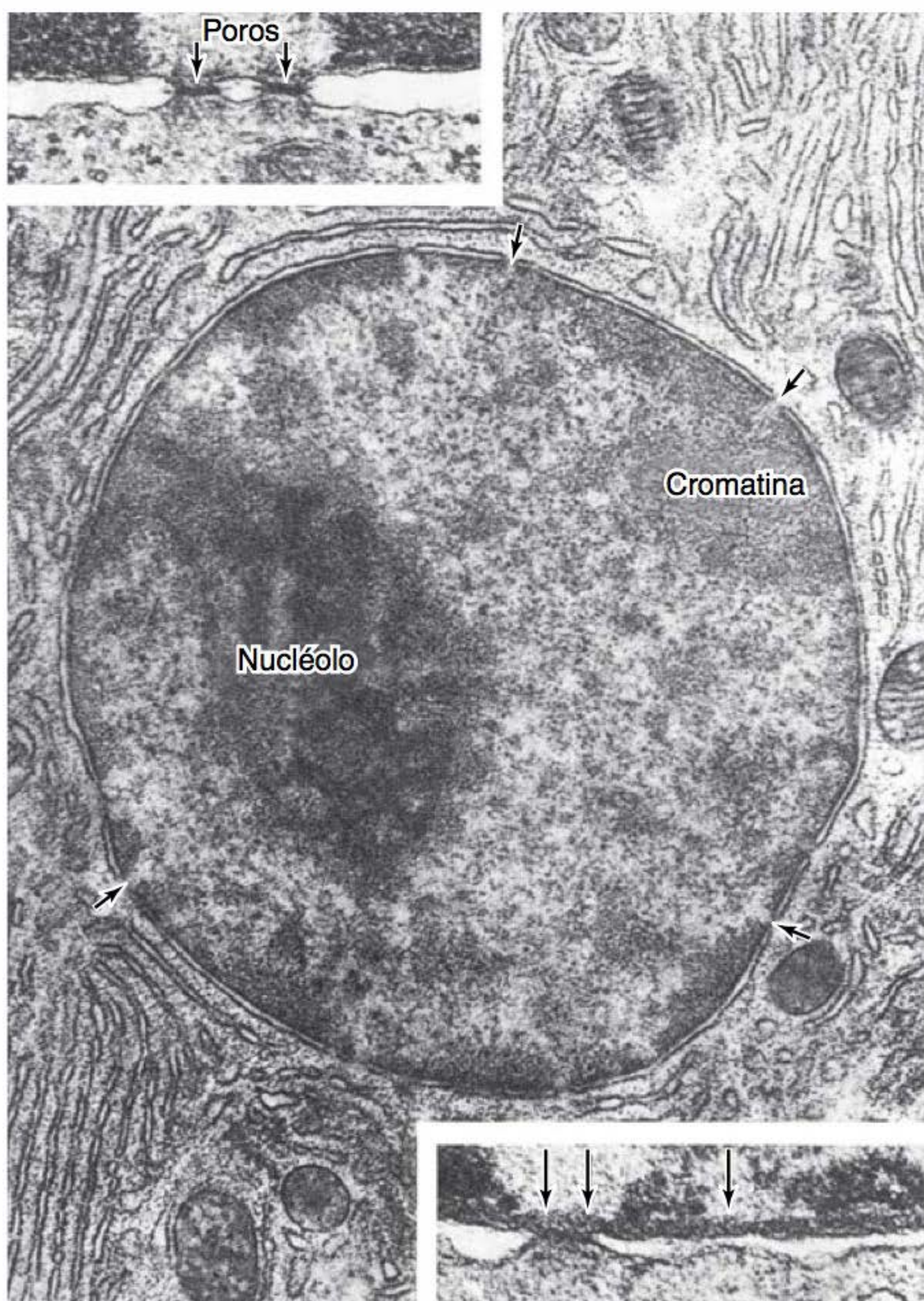


FIGURA 2.2 Micrografia eletrônica de um corte fino de um núcleo eucariótico típico mostrando um nucléolo proeminente e grandes agregações de heterocromatina contra a membrana nuclear, atravessada por poros (setas). **Quadro superior à esquerda.** Dois poros nucleares com seus diafragmas. **Quadro inferior à direita.** Lâmina fibrosa presente na face interna do envelope nuclear. O retículo endoplasmático e várias mitocôndrias são visíveis no citoplasma. (Reproduzida, com autorização, de Fawcett DW: *Bloom and Fawcett. A Textbook of Histology*, 12th ed. Copyright © 1994. Com autorização de Chapman & Hall, New York, NY, EUA.)

Os plastídeos consistem nas **mitocôndrias** e nos **cloroplastos**. Diversas linhas de evidência sugerem que as mitocôndrias e cloroplastos eram descendentes de antigos organismos procarióticos, tendo surgido do engolfamento de uma célula procariótica por uma célula maior (**endossimbiose**). As mitocôndrias apresentam o tamanho de procariotos, e sua membrana, que perdeu esteróis, é muito menos rígida que a membrana citoplasmática das células eucarióticas, que contêm esteróis. A mitocôndria possui dois grupos de membranas. A membrana externa é semipermeável e possui inúmeros pequenos canais que permitem a passagem de íons e pequenas moléculas (p. ex., adenosina trifosfato [ATP]). A invaginação da membrana externa forma um sistema de membranas externas dobradas, denominadas **cristas**, locais das enzimas envolvidas na respiração e na produção de ATP. As cristas também contêm proteínas de transporte específicas que regulam a passagem dos metabólitos para dentro e para fora da **matriz** mitocondrial. Esta contém

várias enzimas, em particular as ligadas ao ciclo do ácido cítrico. Os cloroplastos são organelas de células fotossintéticas capazes de converter a energia da luz solar em energia química através da fotossíntese. A clorofila e os outros componentes necessários à fotossíntese estão localizados em uma série de membranas de discos flutuantes que se chamam **tilacoides**. A forma, o tamanho e o número dos cloroplastos por célula variam bastante. Diferentemente da mitocôndria, os cloroplastos são, em geral, muito maiores do que os procariotos. As mitocôndrias e os cloroplastos contêm seu próprio DNA, que existe em uma forma covalente circular fechada e codifica para algumas (não todas) das proteínas que o compõem e RNA de transferência. As mitocôndrias e os cloroplastos também contêm ribossomos 70S, da mesma maneira que os procariotos.

Alguns microrganismos eucarióticos (p. ex., *Trichomonas vaginalis*) não possuem mitocôndria e em seu lugar apresentam uma membrana próxima a uma organela respiratória, chamada **hidrogenossomo**. Os hidrogenossomos podem ter surgido por endossimbiose, e foram identificados alguns que contêm DNA e ribossomos. O hidrogenossomo, de tamanho quase similar ao da mitocôndria, não possui cristas e nem as enzimas do ciclo do ácido tricarbóxico. O piruvato é retirado pelo hidrogenossomo, e são produzidos H_2 , CO_2 , acetato e ATP.

Os **lisossomos** são sacos ligados à membrana que contêm várias enzimas digestivas utilizadas pela célula para digerir as macromoléculas, tais como proteínas, ácidos graxos e polissacarídeos. O lisossomo permite que essas enzimas sejam separadas do citoplasma, pois elas podem destruir as macromoléculas celulares se não forem controladas. Após a hidrólise das macromoléculas nos lisossomos, os monômeros resultantes passam através do lisossomo para o citoplasma, onde servem como nutrientes.

O **peroxissomo** é uma estrutura ligada à membrana cuja função é produzir H_2O_2 pela redução de O_2 a partir de vários doadores de hidrogênio. O H_2O_2 produzido no peroxissomo é subsequentemente degradado em H_2O e O_2 pela enzima **catalase**.

O **citoesqueleto** é uma estrutura tridimensional que preenche o citoplasma. Os tipos primários de fibra, compreendendo o citoesqueleto, são os **microfilamentos**, os **filamentos intermediários** e os **microtúbulos**. Os microfilamentos, que possuem cerca de 3 a 6 nm de diâmetro, são polímeros compostos de subunidades da proteína **actina**. Estas fibras formam envelope em torno da célula, definindo e mantendo a forma da célula. Os microfilamentos também podem ser responsáveis por movimentos celulares, como os de deslizamento, contração e citocinese.

Os microtúbulos são tubos cilíndricos, de 22 a 25 nm de diâmetro, compostos por subunidades da proteína **tubulina**. Essas estruturas auxiliam os microfilamentos na manutenção da estrutura celular, na formação de fibras finas para a separação dos cromossomos durante a mitose, e desempenham importante papel na motilidade celular. Os filamentos intermediários possuem cerca de 10 nm de diâmetro e fornecem força tensional à célula.

Camadas superficiais

O citoplasma é limitado por uma membrana plasmática, composta de proteínas e fosfolípidos, semelhante à membrana da

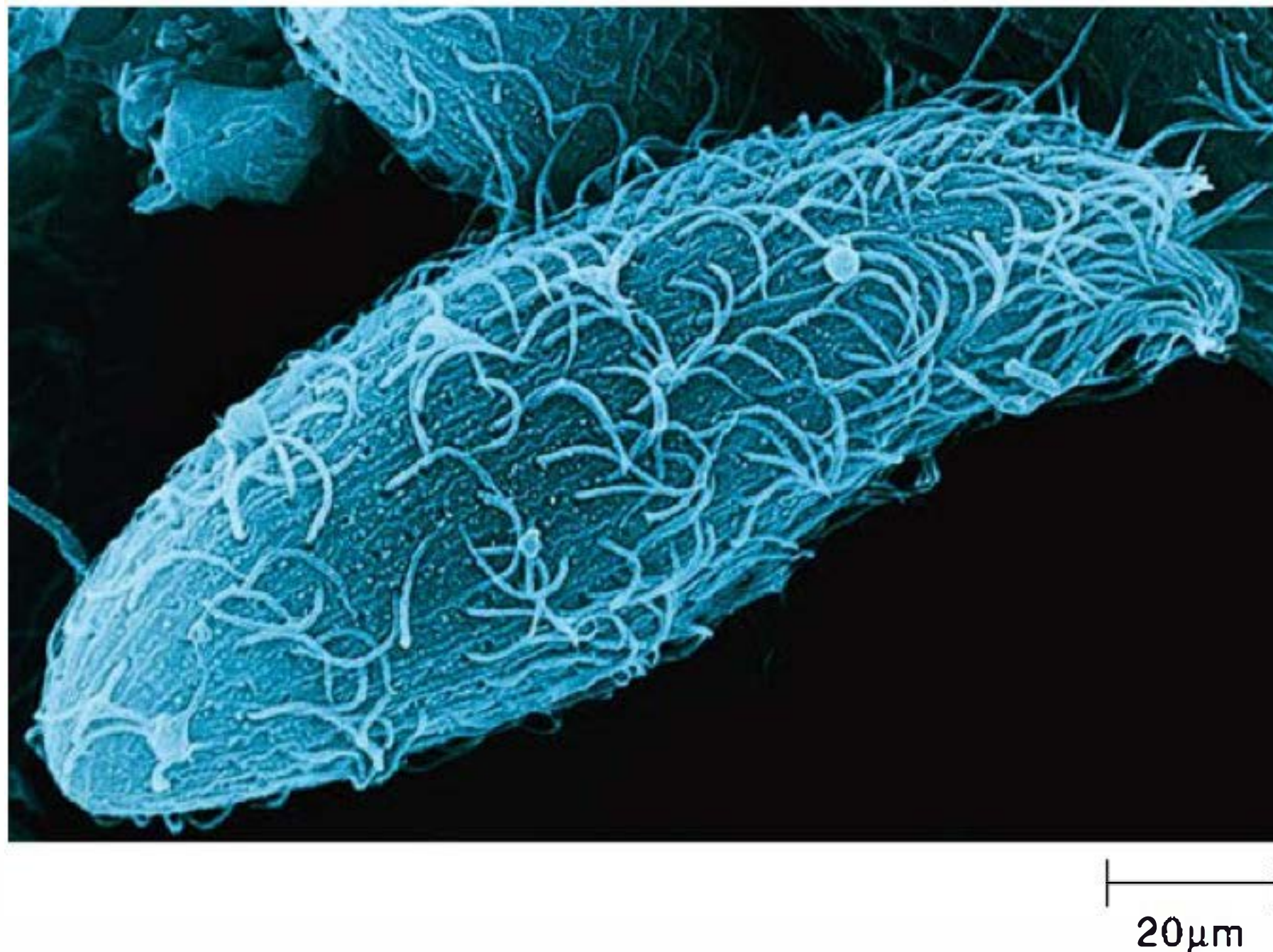


FIGURA 2.3 Um paramécio se movimentando com o auxílio de cílios presentes na superfície celular. (© Manfred Kage).

célula procariótica ilustrada adiante (Fig. 2.10). A maioria das células animais não tem outras camadas superficiais; entretanto, as células vegetais apresentam uma parede celular externa composta de celulose. Muitos microrganismos eucarióticos também possuem uma **p parede celular** externa, que pode ser constituída de um polissacarídeo, como a celulose ou a quitina, ou de material inorgânico, como, por exemplo, a parede de sílica das diatomáceas.

Organelas de motilidade

Muitos microrganismos eucarióticos possuem organelas denominadas **flagelos** (p. ex., *Trichomonas vaginalis*) ou **cílios**

(p. ex., *Paramecium*), que exibem movimento semelhante a uma onda para impulsionar a célula através da água. Os flagelos das células eucarióticas originam-se da região polar da célula, enquanto os cílios, mais curtos que os flagelos, circundam a célula (Fig. 2.3). Tanto os flagelos quanto os cílios das células eucarióticas possuem a mesma estrutura básica e composição bioquímica idêntica. Ambos consistem em uma série de microtúbulos, cilindros proteicos ocos constituídos de uma proteína denominada **tubulina**, circundados por uma membrana. A disposição dos microtúbulos é denominada “sistema 9 + 2”, visto que consiste em nove pares periféricos de microtúbulos circundando dois microtúbulos centrais (Fig. 2.4).

ESTRUTURA DA CÉLULA PROCARIÓTICA

A célula procariótica é mais simples que a eucariótica em todos os níveis, com uma única exceção: seu envelope celular é mais complexo.

O nucleóide

Os procariotos não possuem um núcleo verdadeiro; em vez disso, o DNA é empacotado em uma estrutura conhecida como **nucleóide**, o qual pode ser visualizado ao microscópio óptico em material corado (Fig. 2.5). É Feulgen-positivo, indicando a presença de DNA. O DNA de carga negativa é pelo menos em parte neutralizado por pequenas poliaminas e íons magnésio; entretanto, existem proteínas semelhantes à histona nas bactérias que, presumivelmente, desempenham papel semelhante ao das histonas na cromatina eucariótica.

As micrografias eletrônicas de uma típica célula procariótica, como a que se vê na Figura 2.5, revelam a ausência de

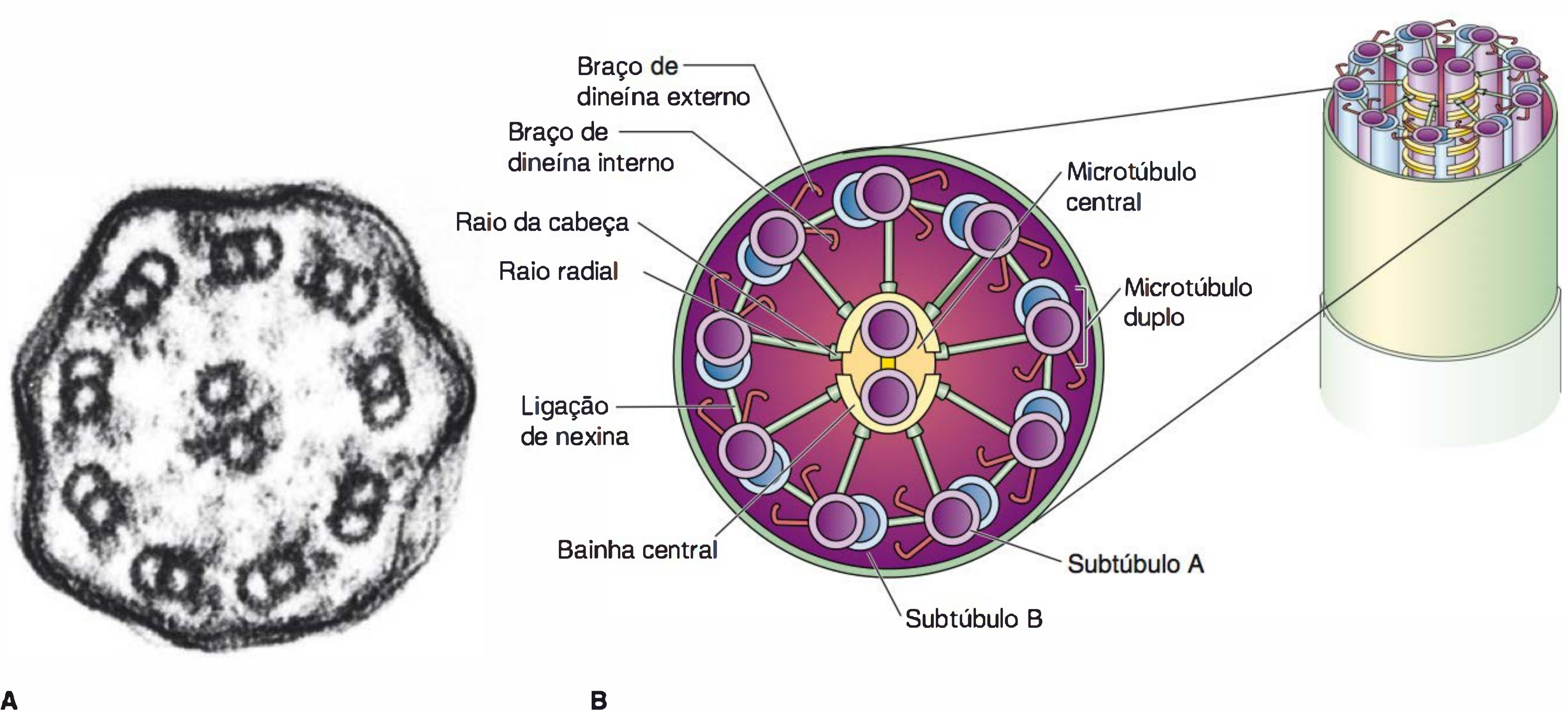


FIGURA 2.4 Estrutura ciliar e flagelar. (A) Microscopia eletrônica de uma seção transversal de um cílio. Notar os dois microtúbulos centrais circundados por nove microtúbulos duplos (ampliada 160.000 vezes). (Reproduzida, com autorização, de KG Murti/Visuals Unlimited.) (B) Diagrama da estrutura de um cílio e de um flagelo. (Reproduzida, com autorização, de Willey JM, Sherwood LM, Woolverton CJ (editors): *Prescott, Harley and Klein's Microbiology*, 7th ed., New York: McGraw-Hill; 2008. © The McGraw-Hill Companies, Inc.)

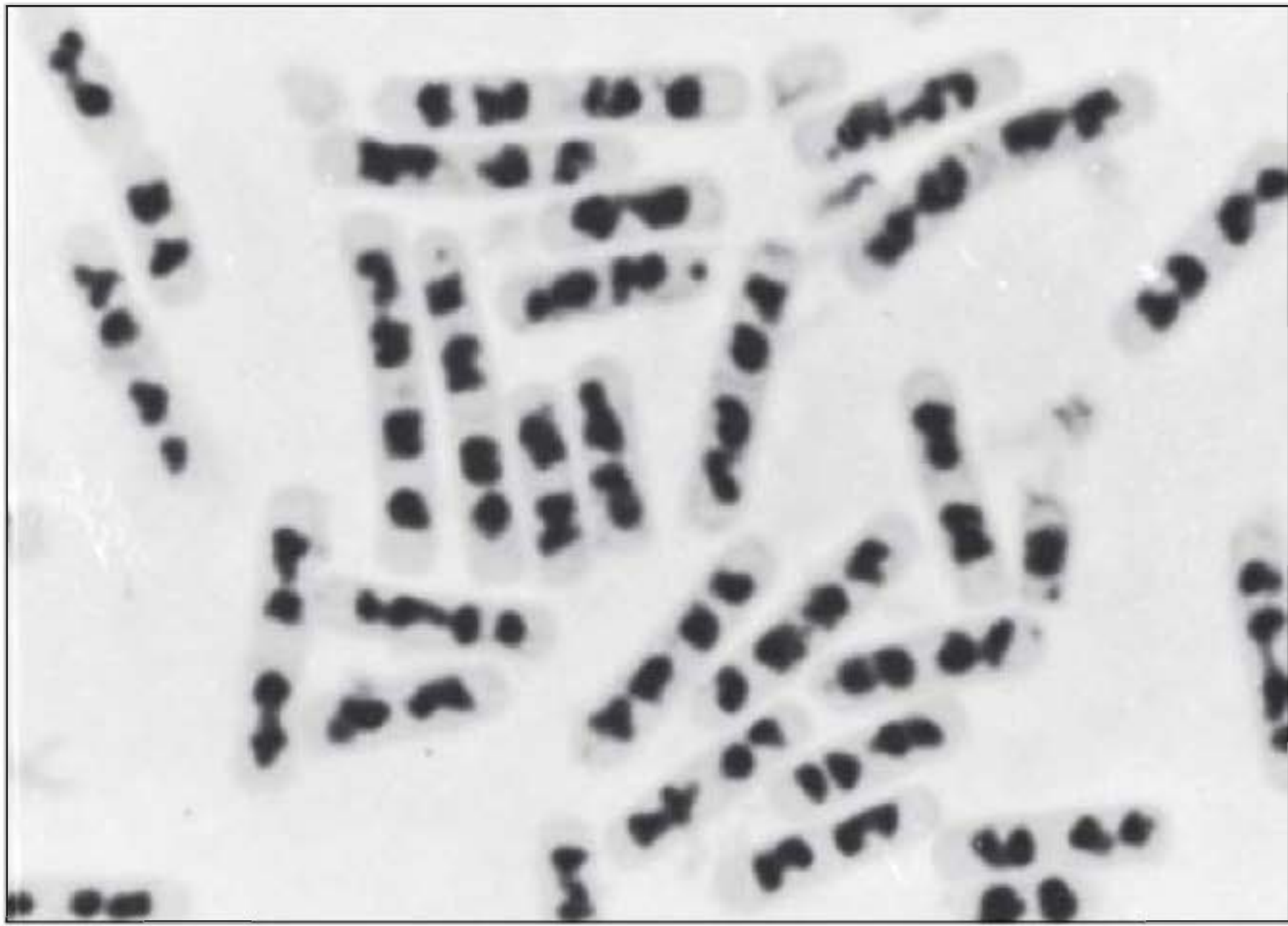


FIGURA 2.5 Nucleoides do *Bacillus cereus* (ampliada 2.500 vezes). (Reproduzida, com autorização, de Robinow C: The chromatin bodies of bacteria. *Bacteriol Rev* 1956; 20:207.)

membrana nuclear e aparelho mitótico. A exceção a esta regra é constituída pelos planctomicetos, um grupo divergente de bactérias aquáticas que possuem um nucleóide circundado por um envelope nuclear que consiste em duas membranas. A distinção entre procariotos e eucariotos ainda é baseada no fato de que os procariotos não possuem um aparato mitótico como os eucariotos. A região nuclear (Fig. 2.6) é preenchida com fibrilas de DNA. O nucleóide da maioria das células bacterianas consiste em uma única molécula circular contínua, cujo tamanho vai de 0,58 a quase 10 milhões de pares de bases. Entretanto, algumas (poucas) bactérias podem ter dois, três ou mesmo quatro cromossomos. Por exemplo, o *Vibrio cholerae* e a *Brucella melitensis* têm dois cromossomos desiguais. Existem exceções à regra da circularidade, pois alguns procariotos (p. ex., *Borrelia burgdorferi* e *Streptomyces coelicolor*) possuem um cromossomo linear.

Nas bactérias, o número de nucleóides e, conseqüentemente, o de cromossomos depende das condições de crescimento (Fig. 2.5). As bactérias de crescimento rápido têm mais nucleóides por célula do que as de crescimento lento; entretanto, quando inúmeras cópias estão presentes, são todas iguais (*i. e.*, as células procarióticas são **haploides**).

Estruturas citoplasmáticas

As células procarióticas carecem de plastídeos autônomos, como as mitocôndrias e os cloroplastos; as enzimas de transporte de elétrons localizam-se na membrana citoplasmática. Os pigmentos fotossintéticos (carotenóides, bacterioclorofila) das bactérias que efetuam a fotossíntese estão contidos na membrana intracitoplasmática, de morfologia variada. Vesículas de membrana (**cromatóforos**) ou lamelas costumam ser observadas em tipos de membrana. Algumas bactérias fotossintéticas têm estruturas não unitárias, em forma de membranas fechadas, chamadas **clorossomos**. Em algumas cianobactérias (antigamente conhecidas como algas azul-esverdeadas), as membranas fotossintéticas frequentemente formam estruturas em inúmeras camadas, denominadas tilacoides (Fig. 2.7). Os principais pigmentos acessórios utilizados para a captação

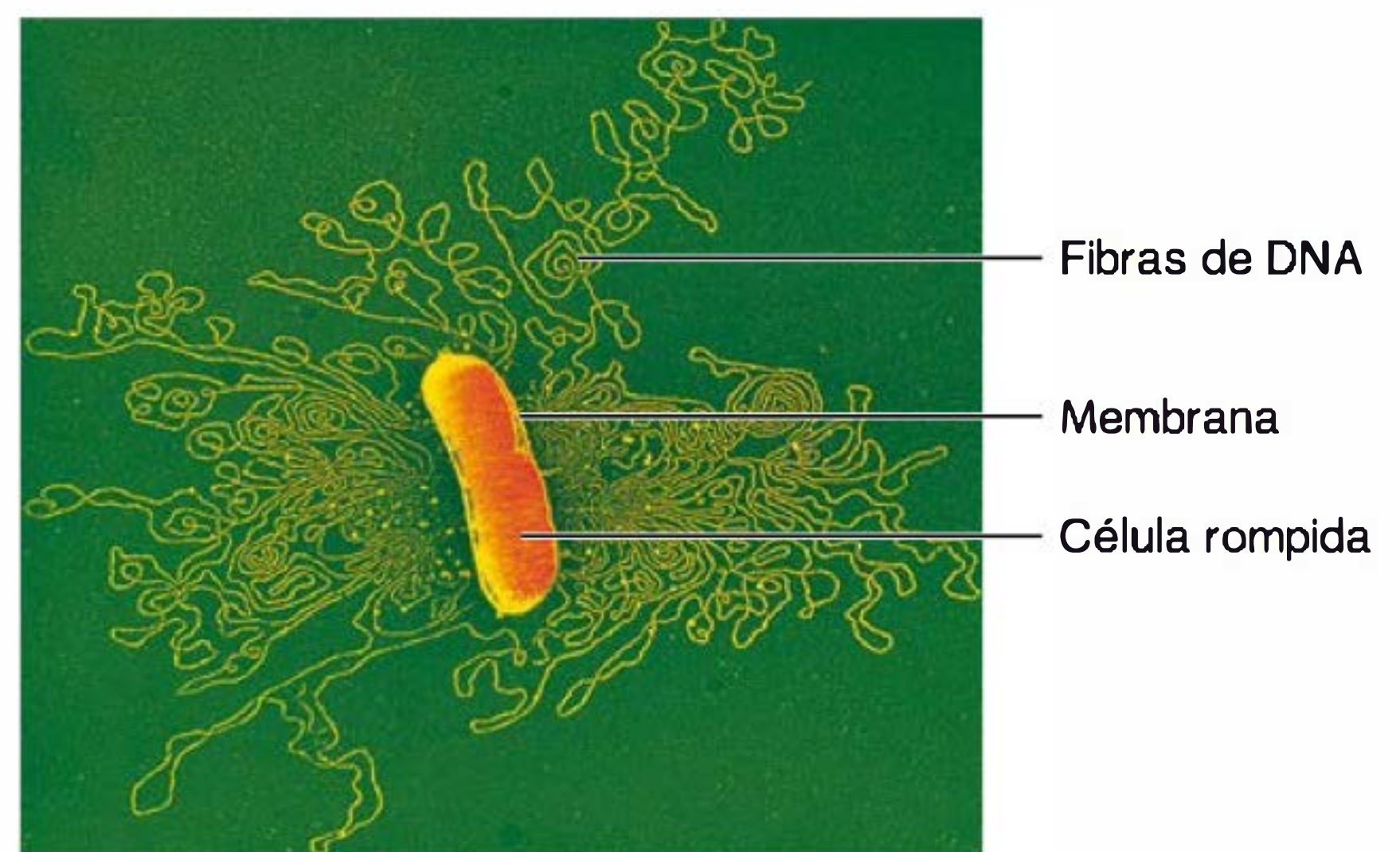
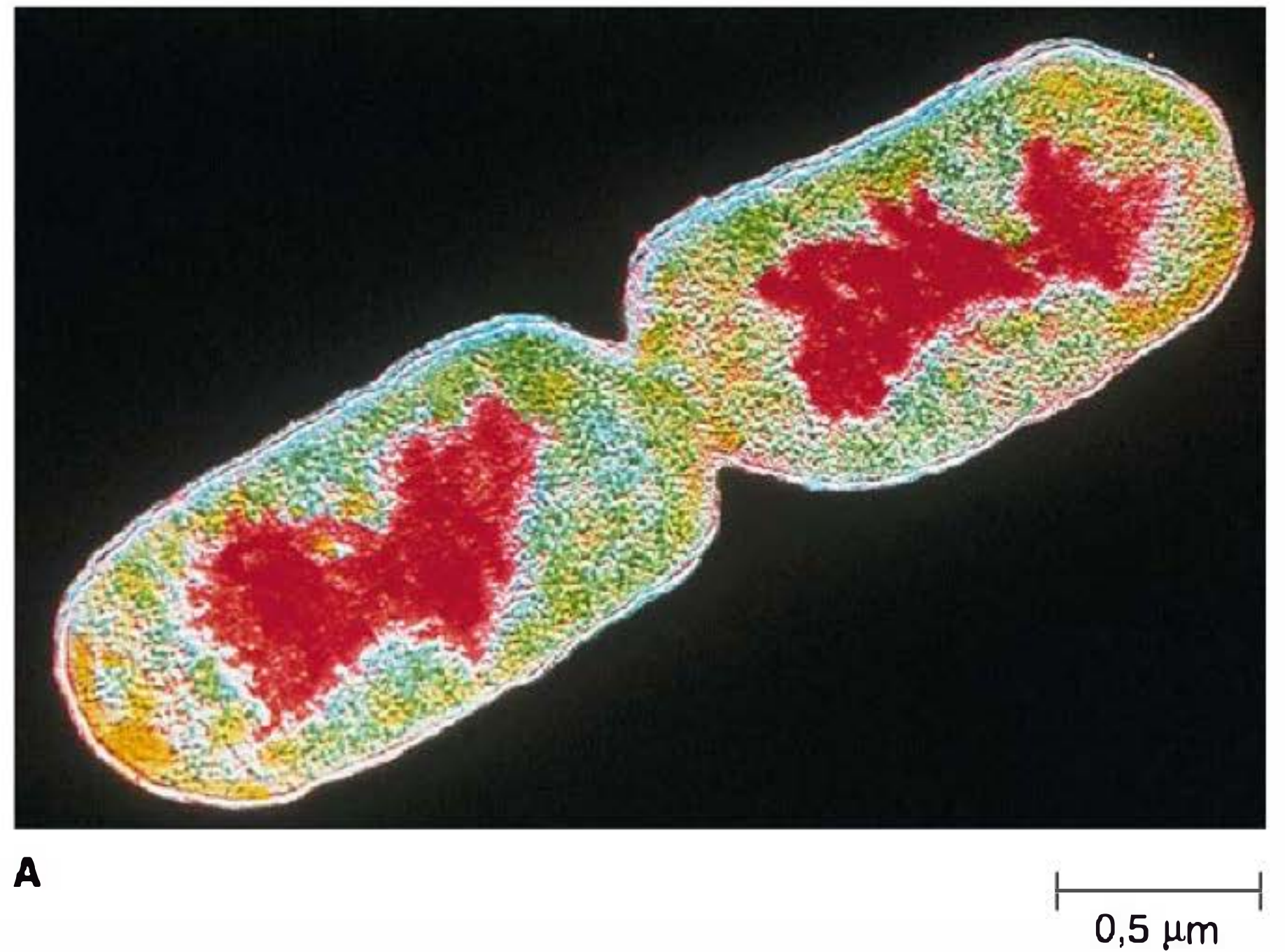


FIGURA 2.6 O nucleóide. (A) Micrografia eletrônica de transmissão ampliada e colorida de uma *Escherichia coli* com seu DNA observado em vermelho. (© CNRI/SPL/Photo Researchers, Inc.) (B) Cromossomo liberado de uma célula lisada de *E. coli*. Notar como o DNA deve estar firmemente enovelado para poder caber dentro da bactéria. (© Dr. Gopal Murti/SPL/Photo Researchers.)

da luz são as ficobilinas encontradas na superfície externa das membranas tilacoides.

As bactérias frequentemente armazenam materiais em forma de grânulos insolúveis, que aparecem como corpos refráteis no citoplasma quando vistos à microscopia de contraste de fase. Esses chamados corpos de inclusão quase sempre funcionam no armazenamento de energia ou como reservatório dos blocos estruturais de construção. A maioria das inclusões celulares é rodeada por fina membrana composta de lipídeo, que serve para separar adequadamente a inclusão do citoplasma. Um dos corpos de inclusão mais comuns consiste no **ácido poli-β-hidroxibutírico (PHB)**, um composto semelhante ao lipídeo que consiste em unidades de cadeias de ácido β-hidroxibutírico conectadas através de ligações éster. O PHB é produzido quando uma fonte de nitrogênio, enxofre ou fósforo encontra-se limitada e existe um excesso de carbono no meio (Fig. 2.8A). Outro produto da armazenagem formado por procariotos quando há um excesso de carbono é o **glicogênio**, um polímero da glicose. O PHB e o glicogênio são usados como fontes de carbono quando a síntese das proteínas e

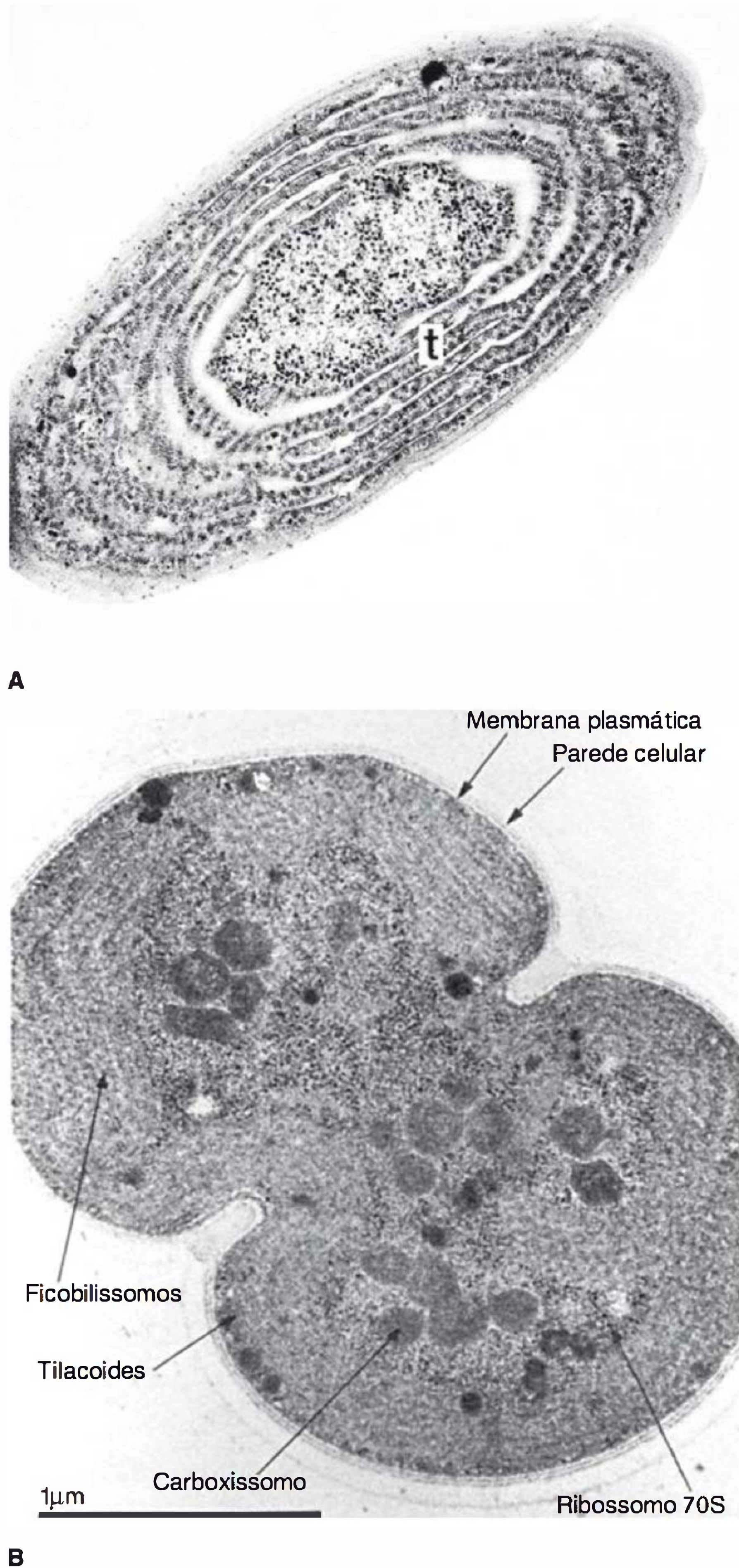


FIGURA 2.7 (A) Corte fino de *Synechococcus lividus* mostrando um extenso sistema de tilacoide. Os ficobilissomos desses tilacoides são perfeitamente visíveis como grânulos na localização t (ampliada 85.000 vezes). (Reproduzida, com autorização, de Elizabeth Gantt/Visuals Unlimited.) (B) Seção fina de *Synechocystis* durante a divisão. Diversas estruturas estão visíveis. (Reproduzida, com autorização, de Carlsberg Research Communications 42:77-98, 1977, com gentil autorização de Springer Science+Business Media.)

a síntese do ácido nucleico são reiniciadas. Uma variedade de procariotos é capaz de oxidar compostos de enxofre reduzidos, como o sulfeto de hidrogênio e o tiosulfato, produzindo grânulos intracelulares de **enxofre** elementar (Fig. 2.8C). Como

as fontes de enxofre reduzido se tornam limitantes, o enxofre em grânulos é oxidado, geralmente em sulfato, e os grânulos desaparecem lentamente. Muitas bactérias acumulam grandes reservas de fosfato inorgânico em forma de grânulos de **poli-fosfato** (Fig. 2.8B), os quais podem ser degradados e usados como fonte de fosfato para a síntese dos fosfolipídeos e a do ácido nucleico, como suporte de crescimento. Esses grânulos são às vezes denominados **grânulos de volutina** ou **grânulos metacromáticos**, uma vez que se coram de vermelho com corante azul. Esses grânulos são característicos das corinebactérias (Cap. 13).

Certos grupos de bactérias autotróficas que fixam dióxido de carbono para construir seus blocos bioquímicos contêm corpos poliédricos circundados por uma concha proteica (**carboxissomos**) que contém a enzima-chave para a fixação de CO_2 , a **carboxilase de ribulosebisfosfato** (Fig. 2.7B). Os **magnetossomos** são partículas de cristal do ferro mineral magnetita (Fe_3O_4) que permitem a certas bactérias aquáticas exibir magnetotaxia (*i. e.*, migração ou orientação da célula com respeito ao campo magnético da Terra). Os magnetossomos são circundados por uma membrana não unida que contém fosfolipídeos, proteínas e glicoproteínas. **Vesículas gasosas** são encontradas quase exclusivamente em microrganismos de *habitats* aquáticos, proporcionando-lhes a flutuação. A membrana da vesícula gasosa é uma camada proteica de 2 nm de espessura, impermeável à água e solutos mas permeável a gases; dessa forma, as vesículas gasosas existem como estruturas cheias de gás, circundadas pelos componentes do citoplasma (Fig. 2.9).

As bactérias contêm proteínas semelhantes à actina e a proteínas sem actina, ambas do citoesqueleto das células eucarióticas, como proteínas adicionais, que têm uma função de citoesqueleto (Fig. 2.10). Os homólogos da actina (p. ex., MreB, Mbl) realizam uma variedade de funções, ajudando a determinar a forma celular, a segregação dos cromossomos e a localizar proteínas com a célula. Os homólogos sem actina (p. ex., FtsZ) são proteínas únicas no citoesqueleto bacteriano (p. ex., SecY, MinD) e estão envolvidas na determinação da forma celular, na regulação da divisão da célula e na segregação cromossômica.

O envelope celular

As células procarióticas são circundadas por um complexo envelope composto por camadas que diferem em sua composição entre os grupos principais. Estas estruturas protegem os organismos de ambientes hostis, como extremos de osmolaridade, substâncias químicas e antibióticos.

A membrana celular

A. Estrutura

A membrana celular bacteriana, também denominada membrana citoplasmática, é visível em micrografias eletrônicas de cortes finos (Fig. 2.15). Trata-se de uma típica “unidade de membrana”, composta de fosfolipídeos e mais de 200 tipos diferentes de proteína. As proteínas respondem por cerca de 70% da massa da membrana, proporção consideravelmente elevada quando comparada com a das membranas das células dos mamíferos. A Figura 2.11 ilustra um modelo de organização

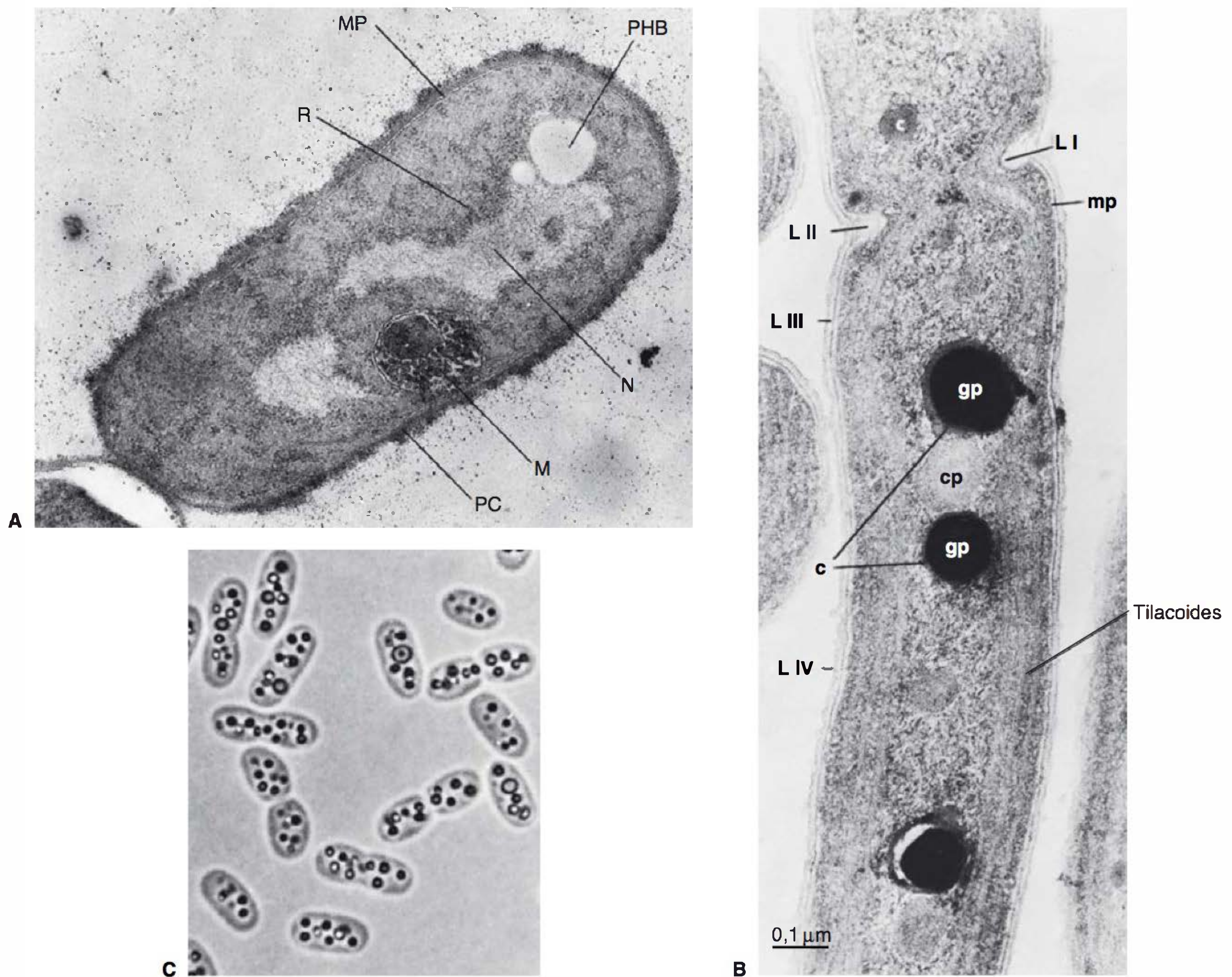


FIGURA 2.8 Corpos de inclusão em bactérias. (A) Micrografia eletrônica de *Bacillus megaterium* (ampliada 30.500 vezes) mostrando corpos de inclusão de ácido. PHB, poli- β -hidroxibutírico; PC, parede celular; N, nucleóide; MP, membrana plasmática; M, "mesossomo"; R, ribossomos. (Reproduzida, com autorização, de Ralph A. Slepecky/Visuals Unlimited.) (B) Ultraestrutura da cianobactéria *Anacystis nidulans*. A bactéria está se dividindo e um septo está parcialmente formado, L I e L II. Diversas características estruturais podem ser vistas, inclusive as camadas da parede celular, L III e L IV; gp, grânulos de polifosfato; cp, um corpo poliédrico; c, grânulos de cianoficina; mp, membrana plasmática. (Reproduzida, com autorização, do National Research Council of Canada.) (C) *Cromatium vinosum*, uma sulfobactéria púrpura, com grânulos intracelulares de enxofre, microscopia de campo luminoso (ampliada 2.000 vezes). (Reproduzida, com autorização, de John Holt (editor): *The Shorter Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*, 8th ed., 1977. Copyright © Bergey's Manual Trust. Published por Williams & Wilkins.)

da membrana. As membranas dos procariontos diferenciam-se daquelas das células eucarióticas pela ausência de esteróis, e a única exceção é representada pelos micoplasmas que incorporam esteróis, como o colesterol, em suas membranas quando crescem em meios que contenham esterol.

A membrana celular das arqueobactérias (Cap. 1) difere das demais bactérias. Algumas membranas de arqueobactérias contêm lipídeos únicos, os **isoprenoídeos**, em vez de ácidos graxos, unidos ao glicerol por uma ligação éter em vez de éster. Alguns destes lipídeos não possuem grupamentos fosfato e, assim, não são fosfolipídeos. Em outras espécies, a membrana celular é feita por monocamada lipídica, que consiste em lipídeos longos (com cerca de duas vezes a extensão de um fosfolipídeo) com glicerol-éteres em ambas as extremidades (tetraéteres de

diglicerol). As moléculas se orientam com os grupos glicerol polares nas superfícies e a cadeia de hidrocarbonetos apolares no interior. Esses lipídeos não usuais contribuem para a facultade de muitas arqueobactérias de crescer em condições ambientes como altas concentrações de sal, baixo pH ou temperaturas muito elevadas.

B. Função

As principais funções da membrana citoplasmática são (1) a permeabilidade seletiva e o transporte de solutos; (2) transporte de elétrons e fosforilação oxidativa em espécies aeróbicas; (3) excreção das exoenzimas hidrolíticas; (4) localização das enzimas e moléculas transportadoras que atuam na biossíntese

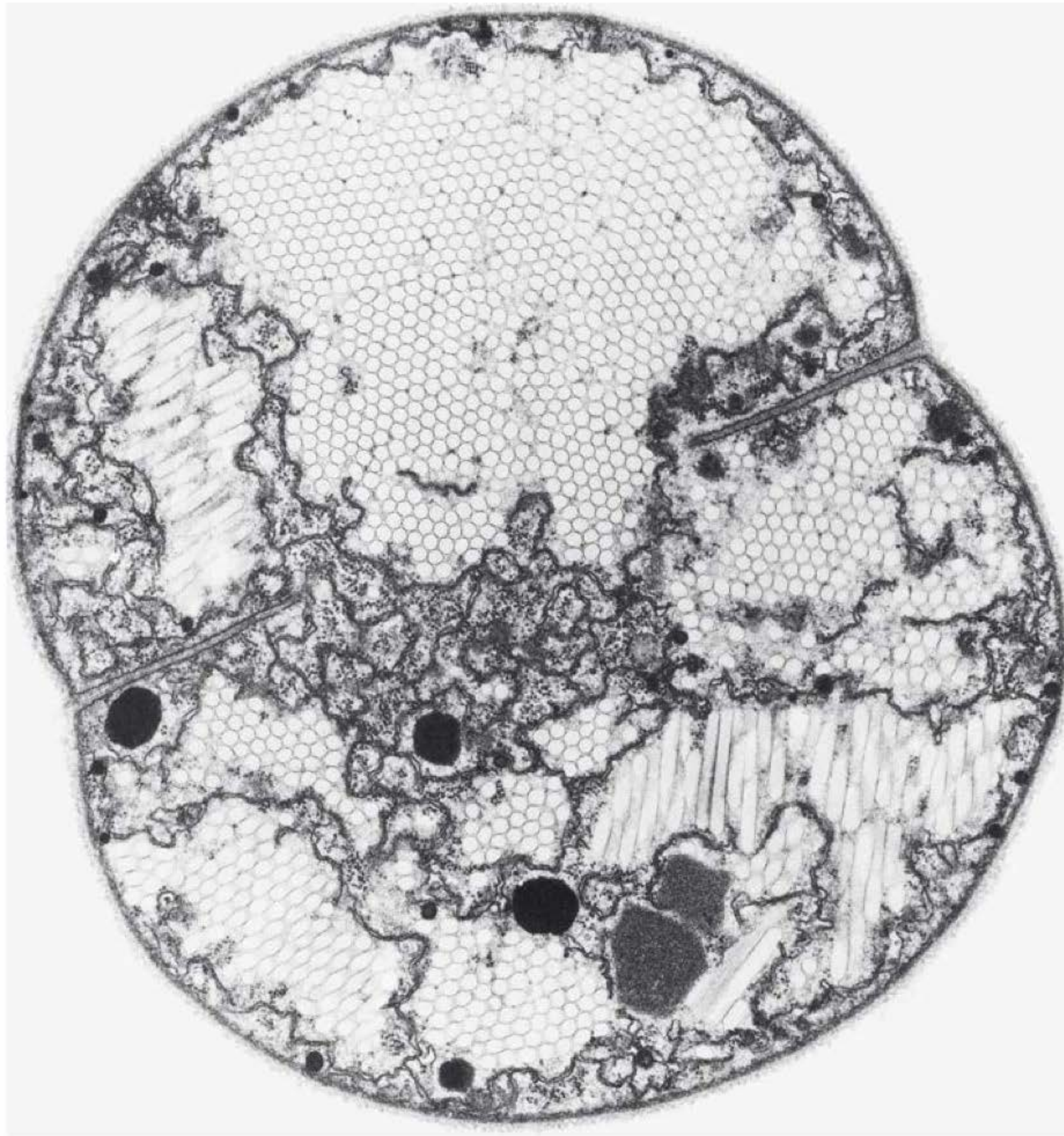


FIGURA 2.9 Corte transversal de uma célula em divisão de cianobactéria da espécie *Microcystis*, mostrando a distribuição hexagonal das vesículas gasosas cilíndricas (ampliada 31.500 vezes). (Micrografia obtida por HS Pankratz. Reproduzida, com autorização, de Walsby AE: Gas vesicles. *Microbiol Rev* 1994;58:94.)

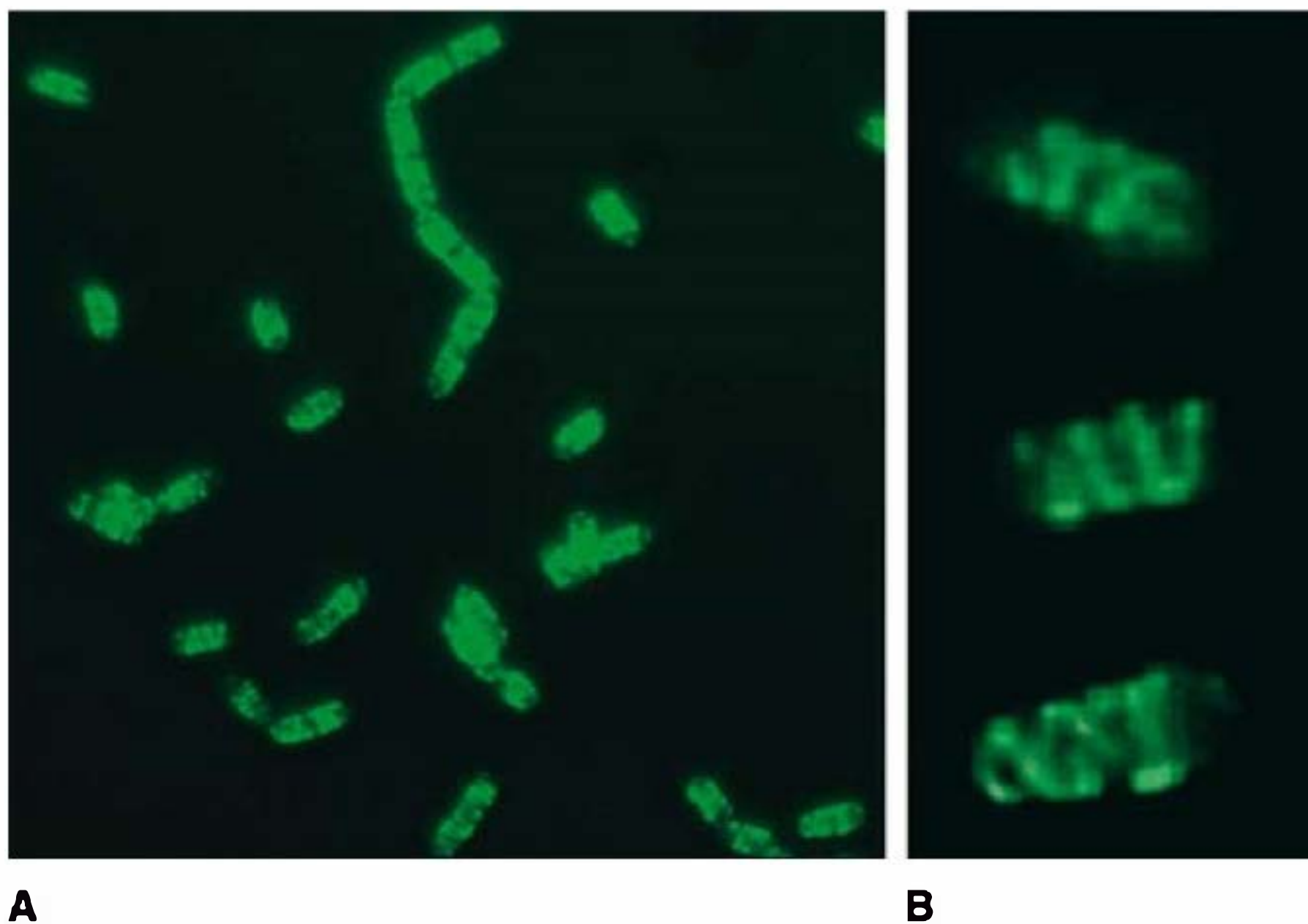


FIGURA 2.10 Citoesqueleto procariótico. Visualização da proteína de citoesqueleto MreB-like (Mbl) de *Bacillus subtilis*. A proteína Mbl foi fusionada com proteína verde fluorescente (PVF) e as células vivas foram examinadas por microscopia de fluorescência. (A) Setas indicando os cabos helicoidais do citoesqueleto que se estendem ao longo das células. (B) Três das células de (A) são mostradas com maior aumento. (Cortesia de Rut Carballido-Lopez e Jeff Errington.)

do DNA, dos polímeros da parede celular e dos lipídeos da membrana; e (5) localização dos receptores e outras proteínas do sistema quimiotático dos outros sistemas de transdução sensorial.

Pelo menos 50% da membrana citoplasmática deve encontrar-se no estado semilíquido para que ocorra o crescimento celular. A temperaturas baixas, tal estado é obtido mediante o aumento acentuado na síntese e na incorporação dos ácidos graxos insaturados em fosfolipídeos da membrana celular.

1. Permeabilidade e transporte — a membrana citoplasmática forma uma barreira hidrofóbica impermeável à maioria das moléculas hidrofílicas. Entretanto, existem vários mecanismos (sistemas de transporte) que capacitam a célula a transportar os nutrientes para o seu interior e produtos de degradação para fora. Esses sistemas de transporte atuam contra um gradiente de concentração para aumentar a concentração dos nutrientes no interior da célula, função que requer alguma forma de energia. Há três mecanismos gerais de transporte envolvidos no transporte da membrana: o **transporte passivo**, o **transporte ativo** e a **translocação de grupos**.

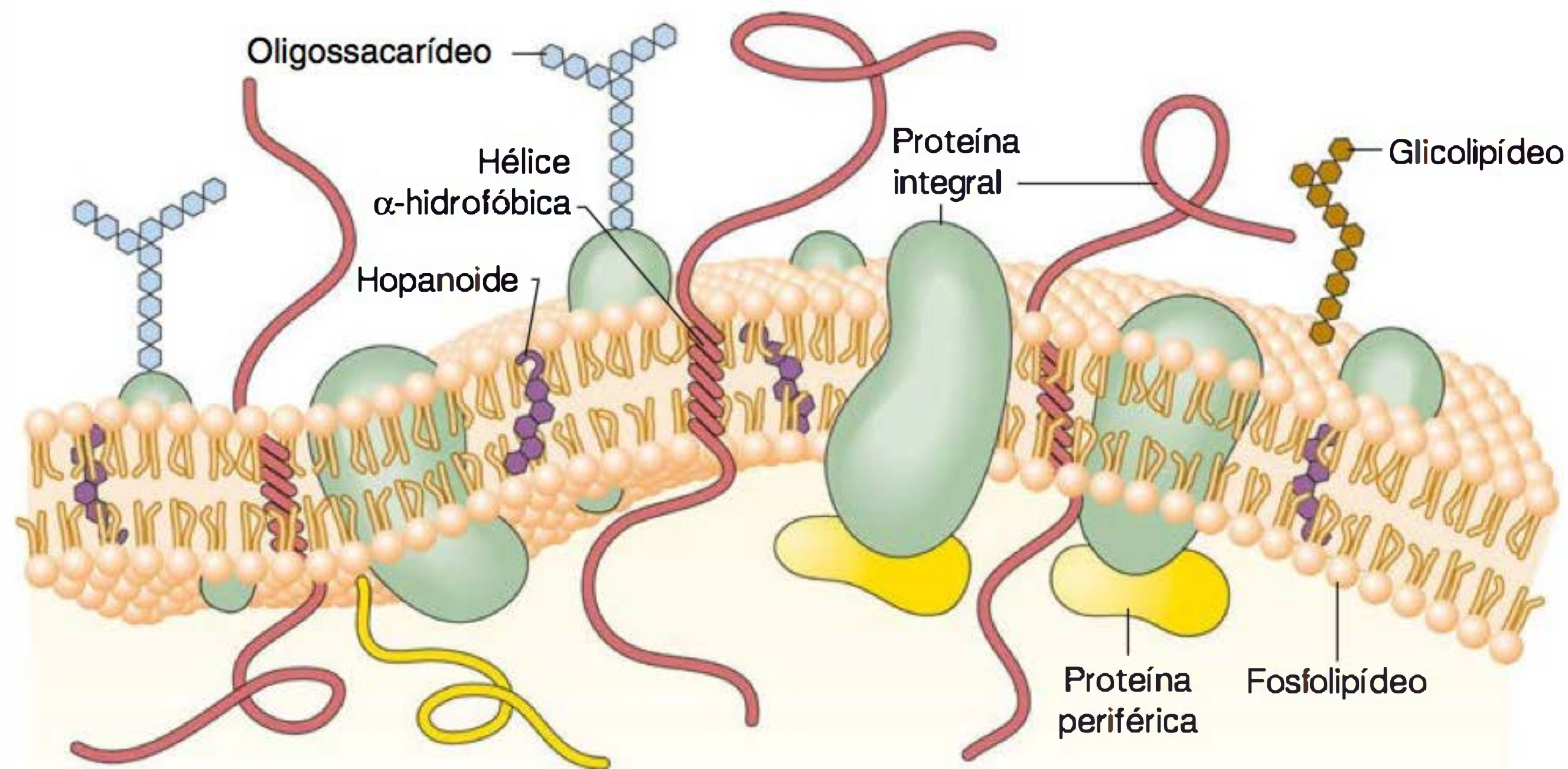


FIGURA 2.11 Estrutura celular da membrana plasmática. Este diagrama do modelo de mosaico fluido da estrutura da membrana bacteriana mostra as proteínas integrais (verde e vermelha) inseridas na bicamada lipídica. Proteínas periféricas (amarela) estão frouxamente associadas à membrana de superfície interna. As pequenas esferas representam as extremidades hidrofílicas da membrana fosfolipídica, e as caudas duplas, as cadeias de ácidos graxos hidrofóbicos. Outros lipídeos de membrana, tais como os hopanoídeos (púrpura), podem estar presentes. Por razões de clareza, os fosfolípidos são mostrados proporcionalmente em tamanho muito maior do que o tamanho real nas membranas. (Reproduzida, com autorização, de Willey JM, Sherwood LM, Woolverton CJ (editors): *Prescott, Harley, and Klein's Microbiology*, 7th ed, N: McGraw-Hill; 2008. © McGraw-Hill Companies, Inc.)

a. Transporte passivo — este mecanismo depende de difusão, não emprega energia e opera somente quando o soluto se encontra em alta concentração no lado exterior da célula. A **difusão simples** responde pela entrada de poucos nutrientes, como o oxigênio dissolvido, dióxido de carbono e a própria água. A difusão simples não proporciona velocidade nem seletividade. A **difusão facilitada** também não requer energia, de modo que o soluto nunca alcança uma concentração interna maior que a do lado externo da célula. Entretanto, a difusão facilitada é seletiva. As **proteínas de canal** formam canais seletivos que facilitam a passagem de moléculas específicas. A difusão facilitada é comum nos microrganismos eucarióticos (p. ex., leveduras), mas rara nos procariotos. O glicerol é um dos poucos compostos que entram nas células procarióticas por difusão facilitada.

b. Transporte ativo — muitos nutrientes encontram-se em uma concentração superior a 1.000 vezes como resultado do transporte ativo. Dependendo da fonte de energia empregada, existem dois tipos de mecanismo de transporte ativo: o **transporte acoplado a íons** e o sistema de **cassete de ligação ao ATP (transportador tipo ABC)**.

1) **Transporte acoplado a íons** — estes sistemas movimentam uma molécula através da membrana celular a expensas de um gradiente de íons previamente estabelecido, como a **força motriz de próton** ou **força motriz de sódio**. Existem três tipos básicos: **uniporte**, **simporte** e **antiporte** (Fig. 2.12). O transporte acoplado a íons é particularmente comum nos organismos aeróbios, que possuem um tempo de geração e uma forma motriz de íons mais fáceis do que nos anaeróbios. Os uniportadores catalisam o transporte de um substrato independente de qualquer íon acoplado. Os simportadores catalisam o transporte

simultâneo de dois substratos na mesma direção por um único transportador; por exemplo, um gradiente de H^+ pode permitir o simporte de um íon de carga oposta (p. ex., glicina) ou de uma molécula neutra (p. ex., galactose). Os antiportadores catalisam o transporte simultâneo de dois compostos de carga semelhante em direções opostas por um transportador comum (p. ex., H^+Na^+). Aproximadamente 40% dos substratos transportados por *E. coli* utilizam este mecanismo.

2) **Transporte tipo ABC** — este mecanismo emprega ATP diretamente para transportar os solutos para a célula. Nas bactérias gram-negativas, o transporte de muitos nutrientes é facilitado por **proteínas de ligação** específicas localizadas no espaço periplasmático; nas células gram-positivas, as proteínas de ligação estão presas junto à superfície externa da membrana celular. Tais proteínas funcionam transferindo o substrato ligado a um complexo de proteína ligada à membrana. Em seguida, a hidrólise do ATP é desencadeada, e a energia é usada para abrir os poros da membrana e permitir um movimento unidirecional do substrato para a célula. Aproximadamente 40% dos substratos transportados por *E. coli* utilizam este mecanismo.

c. Translocação de grupos — além do transporte verdadeiro, em que um soluto é movido através da membrana sem alteração da estrutura, as bactérias utilizam um processo denominado translocação de grupos (**metabolismo vetorial**) para efetuar a captação de determinados açúcares (p. ex., glicose e manose) com a fosforilação do substrato durante o processo de transporte. Em sentido estrito, a translocação de grupos não é um transporte ativo, pois não há gradiente de concentração envolvido. Esse processo possibilita que as bactérias utilizem de maneira eficiente suas fontes de energia ao acoplar o

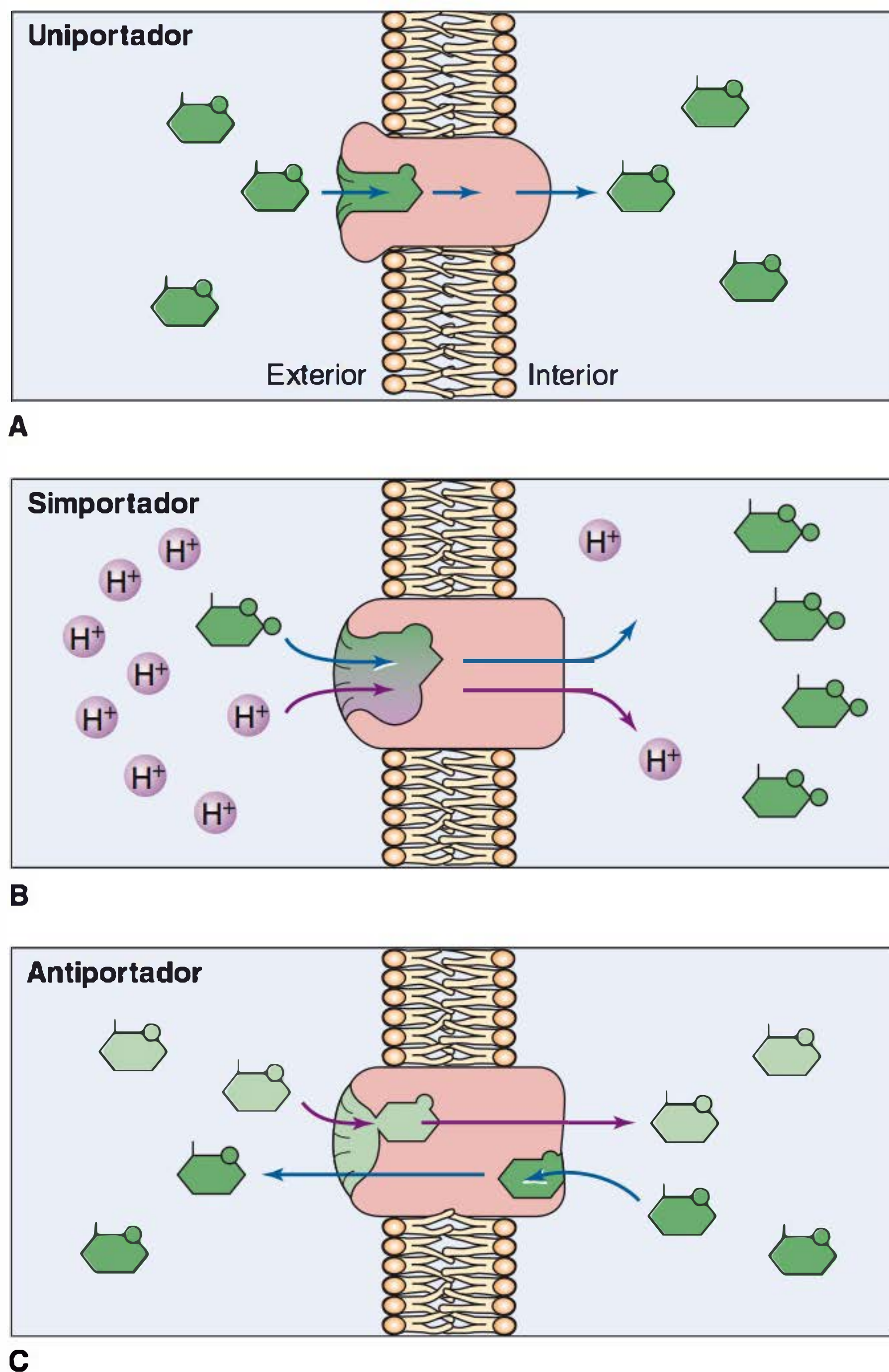


FIGURA 2.12 Três tipos de transportadores: (A) Uniportadores; (B) Simportadores; e (C) Antiportadores. Os uniportadores catalisam o transporte de uma única molécula independentemente de qualquer outra; os simportadores catalisam o transporte concomitante de duas moléculas distintas (em geral, um soluto e um íon de carga positiva, H^+) na mesma direção, enquanto os antiportadores catalisam o transporte pela troca de dois solutos similares em direções opostas. Uma única proteína de transporte pode catalisar apenas um, dois ou mesmo todos os três processos, dependendo das condições. Foi observado que uniportadores, simportadores e antiportadores são estruturalmente semelhantes e relacionados do ponto de vista evolutivo, e atuam por mecanismos semelhantes. (Reproduzida, com autorização, de Saier MH Jr: Peter Mitchell and his chemiosmotic theories. *ASM News* 1997; 63:13.)

transporte com o metabolismo. Nesse processo, uma proteína transportadora da membrana é inicialmente fosforilada no citoplasma à custa do fosfoenolpiruvato; em seguida, a proteína fosforilada liga-se ao açúcar livre na face externa da membrana e o transporta para o citoplasma, liberando-o em forma de açúcar-fosfato. Os referidos sistemas de transporte de açúcar são denominados sistemas de **fosfotransferase**. Esses sistemas também estão envolvidos no movimento direcionado para essas fontes de carbono (**quimiotaxia**) e na regulação de várias outras vias metabólicas (**repressão dos catabólitos**).

d. Processos especiais de transporte — o ferro (Fe) é um nutriente essencial para o crescimento de quase todas as bactérias. Em condições anaeróbias, geralmente encontra-se em estado de oxidação +2 e solúvel. Entretanto, em condições aeróbias, mostra-se geralmente em estado de oxidação +3 e insolúvel. Os compartimentos internos dos animais praticamente não contêm ferro livre, sequestrado em complexos proteicos, como a **transferrina** e a **lactoferrina**. Algumas bactérias solucionam este problema secretando **sideróforos** — compostos quelantes do Fe e que promovem seu transporte como um complexo solúvel. Um grupo principal de sideróforos consiste em derivados do ácido hidroxâmico ($-CONH_2OH$), o qual quela o Fe^{3+} fortemente. O complexo ferro-hidroxamato é transportado ativamente para a célula por ação cooperativa de um grupo de proteínas que se estende pela membrana externa, o periplasma e a membrana interna. O ferro é liberado, e o hidroxamato pode sair da célula e ser usado novamente no transporte de ferro.

Algumas bactérias patogênicas usam um mecanismo fundamentalmente diferente, que envolve receptores específicos que se ligam à transferrina e à lactoferrina do hospedeiro (bem como a outras proteínas do hospedeiro que contenham ferro). O ferro é removido e transportado para a célula por um processo dependente de energia.

2. Transporte de elétrons e fosforilação oxidativa — os citocromos, assim como outras enzimas e componentes da cadeia respiratória, inclusive certas desidrogenases, localizam-se na membrana celular. Por conseguinte, a membrana celular bacteriana constitui um análogo funcional da membrana mitocondrial — relação que tem sido utilizada por muitos biólogos para confirmar a teoria de que as mitocôndrias evoluíram a partir de bactérias simbióticas. No Capítulo 6, discutimos o mecanismo pelo qual a geração de ATP está acoplada ao transporte de elétrons.

3. Excreção das exoenzimas hidrolíticas e proteínas de patogenicidade — todos os microrganismos que dependem dos polímeros orgânicos macromoleculares como fonte de nutrientes (p. ex., proteínas, polissacarídeos, lipídeos) excretam enzimas hidrolíticas que degradam os polímeros em subunidades pequenas o suficiente para penetrarem na membrana celular. Os animais superiores secretam essas enzimas no lúmen do trato digestório, enquanto as bactérias (gram-positivas e gram-negativas) o fazem diretamente no meio externo ou no espaço periplasmático, entre a camada de peptidoglicano e a membrana externa da parede celular, no caso das bactérias gram-negativas (ver A parede celular).

Nas bactérias gram-positivas, as proteínas são secretadas diretamente, porém as proteínas secretadas por bactérias gram-negativas precisam atravessar a membrana externa. Foram descritas seis vias de secreção de proteínas em bactérias: sistemas de secreção tipos I, II, III, IV, V e VI. Uma visão geral esquemática dos sistemas tipos I a V é apresentada na Figura 2.13. Os sistemas de secreção tipos I e IV foram descritos em bactérias gram-negativas e gram-positivas, enquanto os sistemas de secreção tipos II, III, V e VI foram encontrados somente em bactérias gram-negativas. As proteínas secretadas através das vias tipos I e III atravessam a membrana interna (MI) e a membrana externa (ME) em uma etapa, enquanto as proteínas secretadas pelas

vias tipos II e V atravessam a MI e a ME em etapas distintas. As proteínas secretadas pelas vias tipos II e V são sintetizadas nos ribossomos citoplasmáticos, em forma de pré-proteínas que contêm uma **sequência-líder** ou **senalizadora** adicional de 15 a 40 aminoácidos — mais comumente, cerca de 30 aminoácidos — na extremidade aminoterminal e que exigem a presença do sistema *sec* para o seu transporte através da MI (citoplasmática). Em *E. coli*, a via *sec* compreende diversas proteínas da MI (SecD a SecF, SecY), uma ATPase associada à membrana celular (SecA) que fornece energia para exportação, uma proteína **chaperona** (SecB) que se liga à pré-proteína, e a peptidase sinal periplasmática. Após translocação, a sequência-líder é clivada pela **peptidase sinal** ligada à membrana, e a proteína madura é liberada no espaço periplasmático. Diferentemente, as proteínas secretadas pelos sistemas tipos I e III não possuem sequência-líder e são exportadas intactas.

Em bactérias gram-negativas e gram-positivas, outro sistema de translocação pela membrana plasmática, chamado via *tat*, pode mover proteínas através da membrana plasmática. Em bactérias gram-negativas, estas proteínas são então liberadas para o sistema tipo II (Fig. 2.13). A via *tat* difere do sistema *sec*, pois faz a translocação das proteínas em sua conformação final (dobra).

Embora as proteínas secretadas pelos sistemas tipos II e V sejam similares no mecanismo utilizado para atravessar a MI, existem diferenças na maneira como atravessam a ME. As proteínas secretadas pelo sistema tipo II são transportadas pela ME por um complexo multiproteico (Fig. 2.13). Trata-se da principal via para a secreção das enzimas de degradação extracelulares por bactérias gram-negativas. A elastase, a fosfolipase C e a exotoxina A, são secretadas por este sistema na *Pseudomonas aeruginosa*. Entretanto, as proteínas secretadas pelo sistema

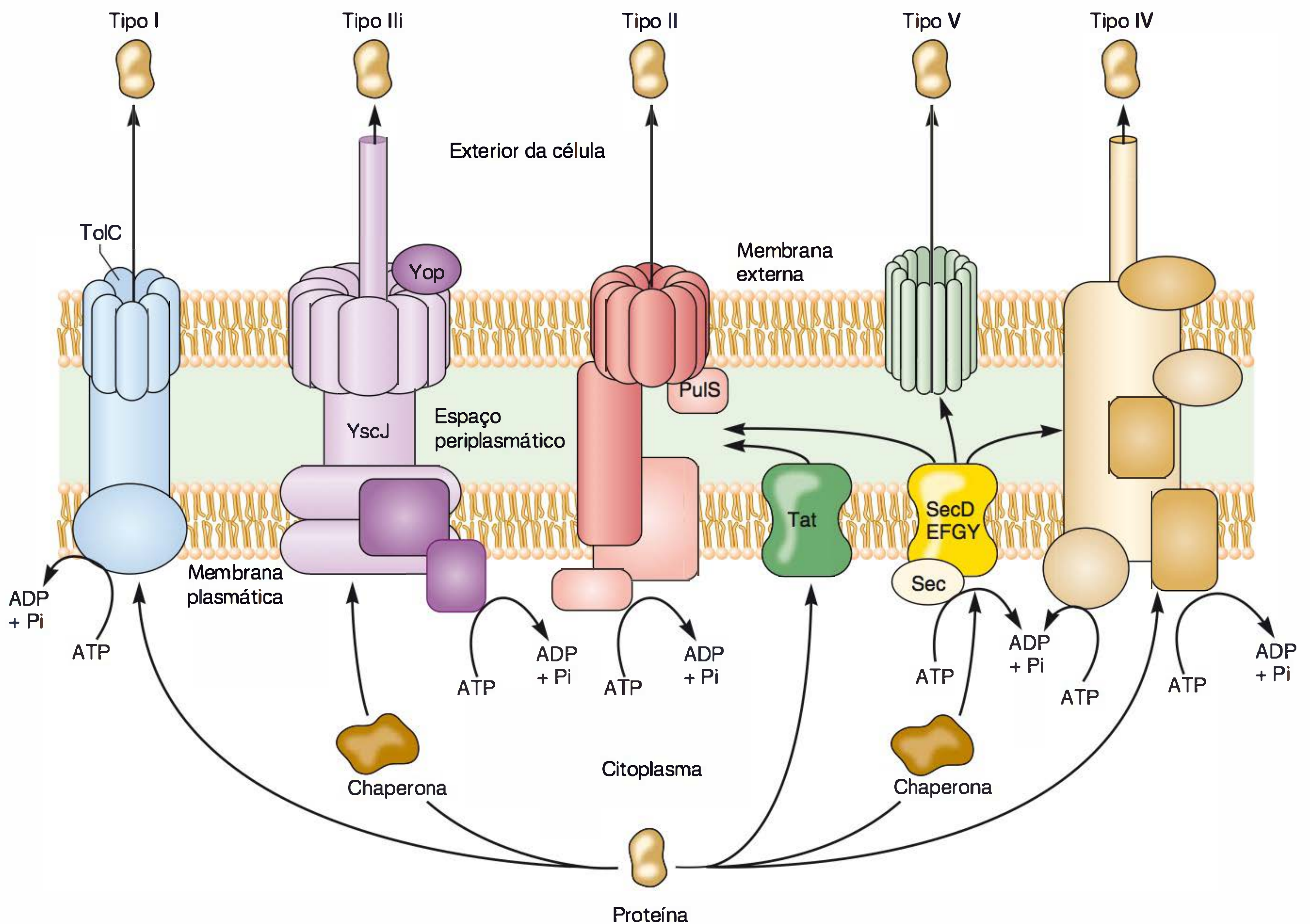


FIGURA 2.13 Sistemas de secreção de proteína em bactérias gram-negativas. Cinco sistemas de secreção de bactérias gram-negativas são mostrados. O sistema dependente da *sece* e a via *Tat* transportam proteínas do citoplasma para o espaço periplasmático. Os sistemas tipos II, V, às vezes, do tipo IV completam o processo de secreção iniciado pela via dependente da *sec*. O sistema *Tat* parece transportar proteínas somente para a via tipo II. Os sistemas tipos I e III desviam das vias dependente da *sece* *Tat*, movendo as proteínas diretamente do citoplasma, através da membrana externa para o espaço extracelular. O sistema de secreção tipo IV pode atuar tanto com a via dependente da *sec* quanto sozinho para transportar proteínas para o espaço extracelular. As proteínas translocadas pela via dependente da *sec* e pelo tipo III são transportadas para esses sistemas por proteínas chaperonas. ADP, adenosina difosfato; ATP, adenosina trifosfato; EFGY, PulS, SecD, TolC, Yop (Reproduzida, com autorização, de Willey JM, Sherwood LM, Woolverton CJ (editors): *Prescott, Harley, and Klein's Microbiology*, 7th ed., New York: McGraw-Hill; 2008. © McGraw-Hill Companies, Inc.)

tipo V autotransportam-se, através da membrana externa, por uma sequência carboxiterminal removida enzimaticamente sob a liberação da proteína para a ME. Algumas proteínas extracelulares — por exemplo, a IgA protease da *Neisseria gonorrhoeae* e a citotoxina de vacuolização do *Helicobacter pylori* — são secretadas por este sistema.

As vias de secreção tipos I e III são independentes do *sec* e, por isso, não envolvem o processamento aminoterminal das proteínas secretadas. A secreção das proteínas por essas vias ocorre em um processo contínuo, sem a presença de qualquer intermediário citoplasmático. A secreção tipo I é exemplificada pela α -hemolisina da *E. coli* e pela adenilciclase da *Bordetella pertussis*. A secreção tipo I requer três proteínas secretoras: um cassete de ligação ao ATP (transportador tipo ABC), que fornece energia para a secreção proteica; uma proteína da ME; e uma proteína de fusão da membrana, ancorada na membrana interna e que atravessa o espaço periplasmático (Fig. 2.13). Em lugar do peptídeo de sinalização, a informação localiza-se dentro dos 60 aminoácidos carboxiterminais da proteína secretada.

A via de secreção tipo III é um sistema **dependente de contato**. Este sistema é ativado pelo contato com a célula hospedeira, e então injeta uma toxina proteica diretamente na célula hospedeira. O aparelho de secreção tipo III é constituído por aproximadamente 20 proteínas, a maioria das quais localiza-se na MI. Esses componentes da MI são, em sua maioria, homólogos ao aparelho de biossíntese flagelar das bactérias tanto gram-positivas quanto gram-negativas. À semelhança da secreção tipo I, as proteínas secretadas pela via de secreção tipo III não estão sujeitas a processamento aminoterminal durante sua secreção.

As vias de secreção tipo IV secretam tanto toxinas polipeptídicas (direcionadas contra as células eucarióticas) quanto complexos proteína-DNA entre duas células bacterianas ou entre uma bactéria e uma célula eucariótica. O tipo IV de secreção é exemplificado pelo complexo proteína-DNA liberado por *Agrobacterium tumefaciens* em células de plantas. Além desse microrganismo, a *B. pertussis* e *H. pylori* possuem sistemas de secreção tipo IV que medeiam a secreção da toxina *pertussis* e do fator de indução da interleucina-8, respectivamente. O sistema de secreção tipo VI independente de *sec* foi recentemente descrito em *P. aeruginosa*, em que contribui para a patogenicidade em pacientes com fibrose cística. Este sistema de secreção é composto por 15 a 20 proteínas cujas funções bioquímicas ainda não estão bem compreendidas. Entretanto, estudos recentes sugerem que algumas dessas proteínas partilham homologia com as proteínas da cauda de bacteriófagos.

As características dos sistemas de secreção de proteínas de bactérias estão sintetizadas no Quadro 9.6.

4. Funções de biossíntese — a membrana celular constitui o local dos peptídeos transportadores sobre o qual se organizam as subunidades da parede celular (ver discussão sobre a síntese das substâncias da parede celular no Cap. 6), bem como das enzimas de biossíntese da parede celular. As enzimas para a síntese dos fosfolipídeos também se localizam na membrana celular.

5. Sistemas quimiotáticos — as substâncias atrativas e repelentes ligam-se a receptores específicos existentes na membrana

bacteriana (ver Flagelos). Existem pelo menos 20 quimiorreceptores diferentes na membrana da *E. coli*, alguns dos quais também atuam como primeira etapa no processo de transporte.

A parede celular

A pressão osmótica interna da maioria das bactérias varia de 5 a 20 atm devido à concentração de solutos obtida através do transporte ativo. Na maioria dos ambientes, esta pressão seria suficiente para provocar a ruptura da célula, se não fosse a presença de uma parede celular com elevada força de tensão (Fig. 2.14). A parede celular bacteriana deve sua força a uma camada constituída por uma substância conhecida como **mu-reína**, **mucopéptido** ou **peptidoglicano** (termos sinônimos). A estrutura do peptidoglicano é discutida adiante.

A maioria das bactérias é classificada como gram-positiva ou gram-negativa, de acordo com sua resposta à coloração pelo método de Gram. Este procedimento recebeu tal denominação do histologista Hans Christian Gram, que desenvolveu essa técnica de coloração diferencial na tentativa de corar bactérias em tecidos infectados. A coloração de Gram depende da capacidade de certas bactérias (as bactérias gram-positivas) de reter o complexo cristal de violeta (um corante púrpura) e iodo após breve lavagem com álcool ou acetona. As bactérias gram-negativas não retêm o complexo corante-iodo e tornam-se translúcidas, podendo, assim, tomar a coloração de fundo com safranina* (um corante vermelho). Assim, as bactérias gram-positivas aparecem na cor púrpura ao microscópio, e as gram-negativas, em vermelho. A distinção entre esses dois grupos reflete diferenças fundamentais em seus envelopes celulares (Fig. 2.15).

* N. de R.T. Pode-se empregar a fucsina como corante de fundo no lugar da safranina.

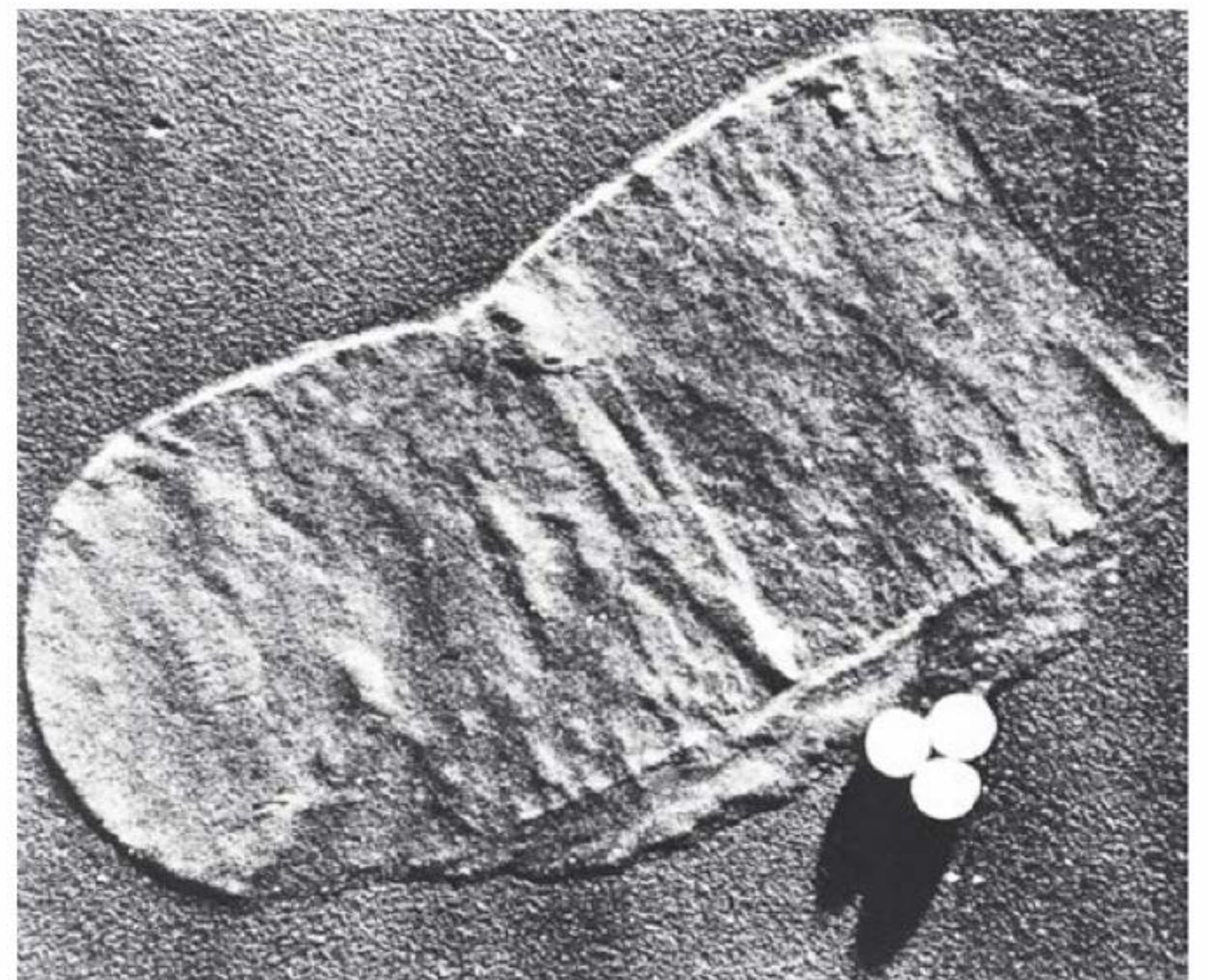


FIGURA 2.14 Parede celular de bactéria gram-positiva. Peptidoglicano de *Bacillus megaterium*, uma bactéria gram-positiva. As esferas de látex têm um diâmetro de 0,25 μm . (Reproduzida, com autorização, de Willey JM, Sherwood LM, Woolverton CJ [editors]: *Prescott, Harley, and Klein's Microbiology*, 7th ed. New York: McGraw-Hill; 2008. © McGraw-Hill Companies, Inc.)

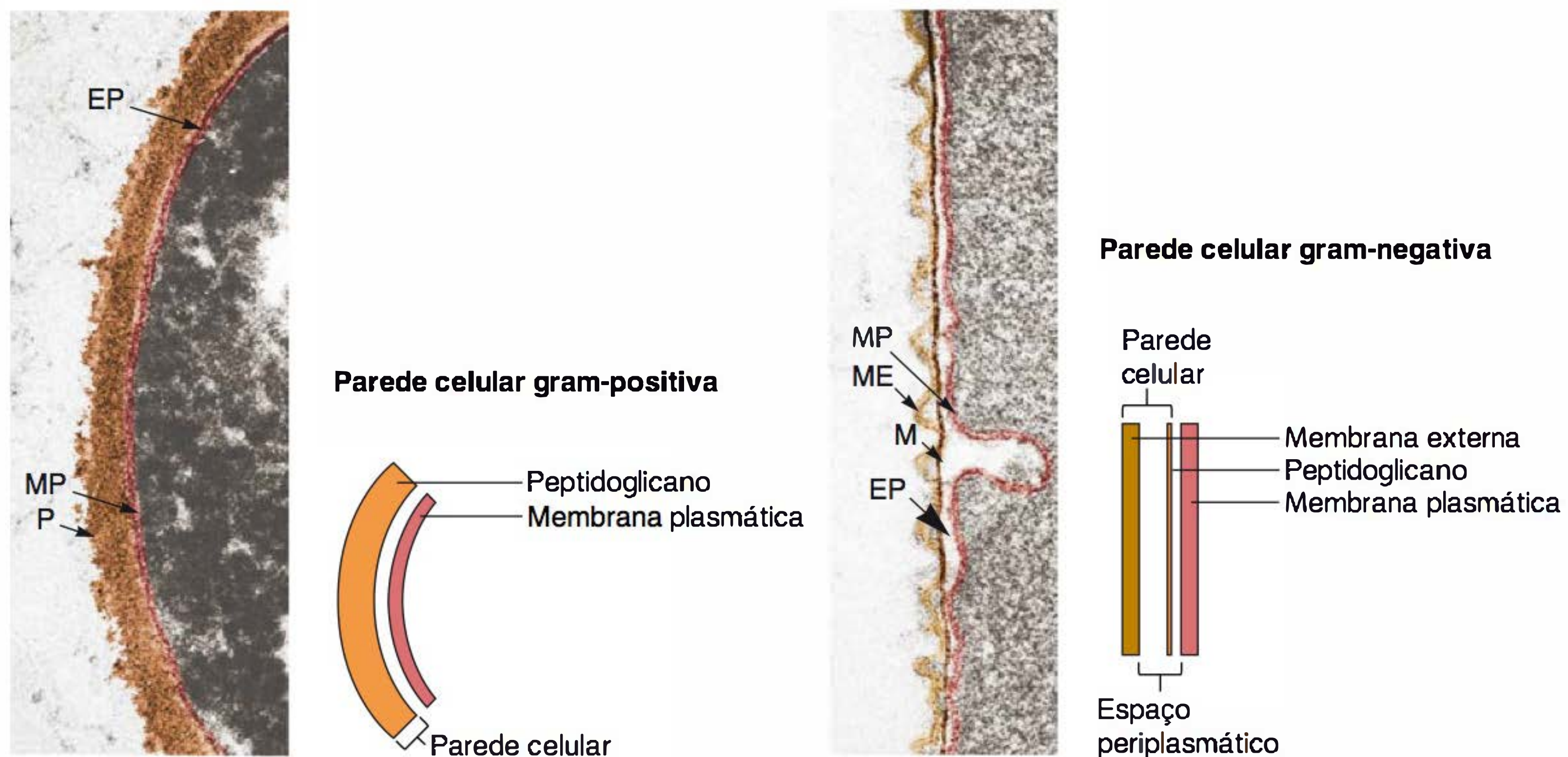


FIGURA 2.15 Paredes bacterianas gram-positivas e gram-negativas. Envelope gram-positivo de *Bacillus licheniformis* (**esquerda**) e micrografia eletrônica de *Aquaspirillum serpens* (**direita**). M, peptidoglicano ou mureína; ME, membrana externa; MP, membrana plasmática; EP, espaço periplásmico; P, parede (peptidoglicano) de bactéria gram-positiva (Reproduzida, com autorização, de T.J. Beveridge/Biological Photo Service.)

Além de proporcionar uma proteção osmótica, a parede celular desempenha papel essencial na divisão celular e atua como modelo para a sua própria biossíntese. Várias camadas da parede constituem os locais de importantes determinantes antigênicos da superfície celular, em que um componente — o lipopolissacarídeo das paredes celulares gram-negativas — é responsável pela atividade de endotoxina inespecífica das bactérias gram-negativas. Em geral, a parede celular não é seletivamente permeável; entretanto, uma camada da parede celular gram-negativa — a membrana externa — impede a passagem das moléculas relativamente grandes (ver adiante).

A biossíntese da parede celular e os antibióticos que interferem nesse processo são discutidos no Capítulo 6.

A. Camada de peptidoglicano

O peptidoglicano é um polímero complexo constituído, para fins de descrição, de três partes: um arcabouço, composto de *N*-acetilglicosamina e ácido *N*-acetilmurâmico alternados; um conjunto de cadeias laterais idênticas de tetrapeptídeos ligadas ao ácido *N*-acetilmurâmico; e um conjunto de ligações cruzadas peptídicas idênticas (Fig. 2.16). O arcabouço é o mesmo em todas as espécies bacterianas; as cadeias laterais de tetrapeptídeos e as pontes cruzadas de peptídeos variam de uma espécie para outra, e as de *Staphylococcus aureus* são ilustradas na Figura 2.16. Em muitas paredes celulares de bactérias gram-negativas, a ponte cruzada consiste em uma ligação peptídica direta entre o grupo amino de uma cadeia lateral do ácido diaminopimélico (DAP) e o grupo carboxila da *D*-alanina terminal de uma segunda cadeia lateral.

Todavia, as cadeias laterais de tetrapeptídeos de todas as espécies têm certas características importantes em comum. A maioria possui *L*-alanina na posição 1 (ligada ao ácido *N*-acetilmurâmico), *D*-glutamato ou *D*-glutamato substituído na posição 2, e *D*-alanina na posição 4. A posição 3 é a mais variável:

a maioria das bactérias gram-negativas tem o ácido diaminopimélico nessa posição, ao qual está ligado o componente lipoproteico da parede celular discutido adiante. As bactérias gram-positivas geralmente possuem *L*-lisina na posição 3; entretanto, algumas podem ter o ácido diaminopimélico ou outro aminoácido nesta posição.

O **ácido diaminopimélico** é um elemento exclusivo das paredes celulares bacterianas, e não é encontrado na parede celular das arqueobactérias ou dos eucariotos. É o precursor imediato da lisina na biossíntese bacteriana desse aminoácido (Fig. 6.19). Os mutantes bacterianos cuja via de biossíntese é bloqueada antes do ácido diaminopimélico crescem normalmente quando o meio contém esse ácido. Entretanto, quando recebem apenas *L*-lisina, sofrem lise, visto que continuam a crescer, porém são incapazes de formar especificamente o peptidoglicano da nova parede celular.

O fato de todas as cadeias de peptidoglicano exibirem ligações cruzadas significa que cada camada de peptidoglicano é uma única molécula gigante. Nas bactérias gram-positivas, existem até 40 camadas de peptidoglicano, constituindo até 50% do material da parede celular; nas bactérias gram-negativas, parece haver apenas uma ou duas camadas, constituindo 5 a 10% do material da parede. As bactérias devem suas formas, que são características de cada espécie, à estrutura de sua parede celular.

B. Componentes especiais das paredes celulares das bactérias gram-positivas

As paredes celulares da maioria das bactérias gram-positivas contêm consideráveis quantidades dos **ácidos teicoico** e **teicurônico**, que podem representar até 50% do peso seco da parede e 10% do peso seco da célula total. Além disso, algumas paredes gram-positivas podem conter moléculas de polissacarídeos.

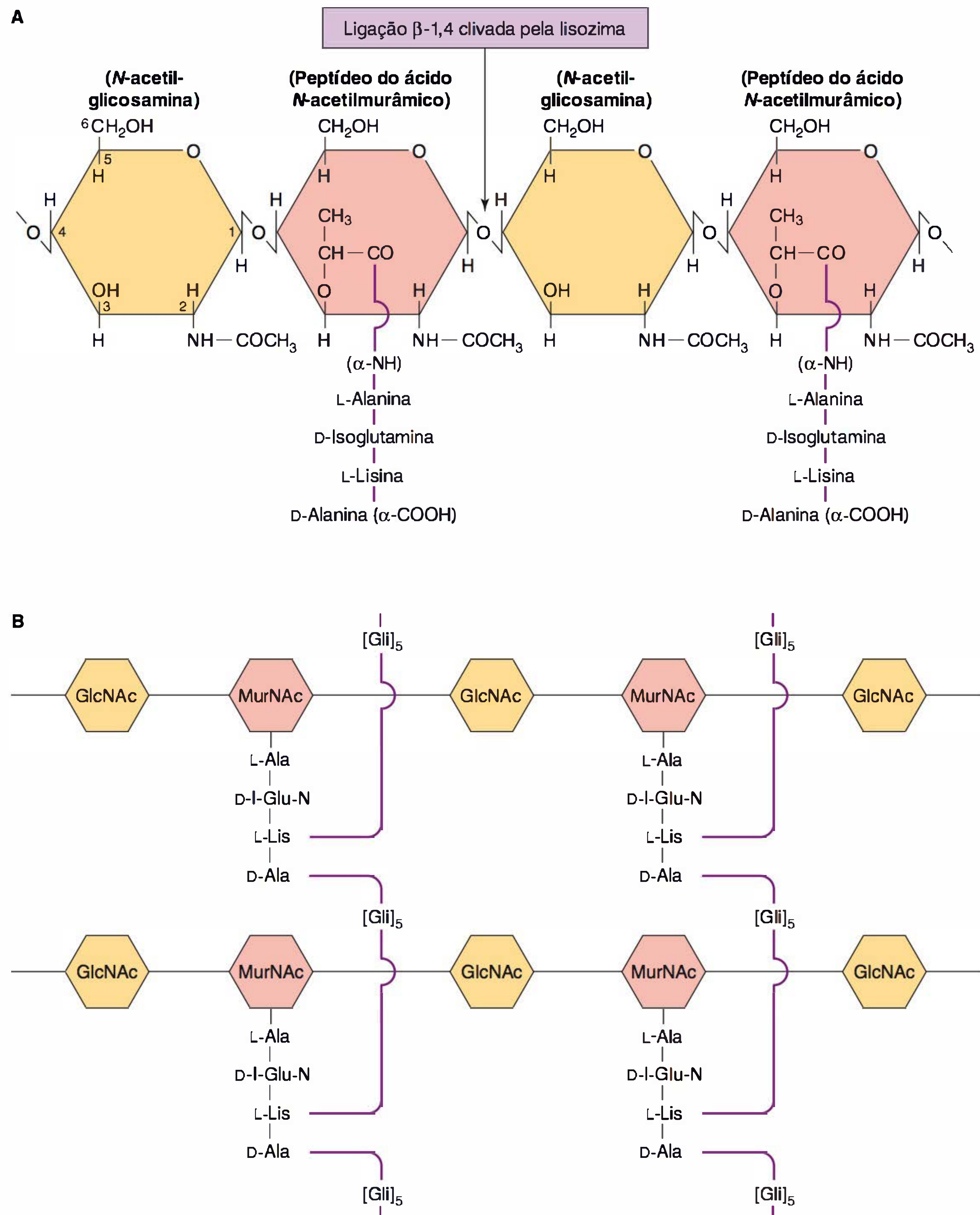


FIGURA 2.16 (A) Segmento do peptidoglicano de *Staphylococcus aureus*. O arcabouço do polímero consiste em subunidades alternadas de *N*-acetilglicosamina e ácido *N*-acetilmurâmico unidas por ligações β 1 \rightarrow 4. Os resíduos do ácido murâmico estão ligados a peptídeos curtos cuja composição varia de uma espécie bacteriana para outra. Em algumas espécies, os resíduos de *L*-lisina são substituídos por ácido diaminopimérico, um aminoácido encontrado na natureza apenas nas paredes celulares procarióticas. Observe os *D*-aminoácidos, também componentes característicos das paredes celulares dos procaríotos. As cadeias peptídicas do peptidoglicano apresentam ligações cruzadas entre arcabouços paralelos de polissacarídeos, como mostra a Figura 2.16B. (B) Representação esquemática da rede de peptidoglicano formada por ligação cruzada. As pontes compostas de cadeias peptídicas de pentaglicina ligam a α -carboxila do resíduo terminal de *D*-alanina de uma cadeia ao grupo ϵ -amino do resíduo de *L*-lisina da cadeia seguinte. A natureza da ligação cruzada varia entre diferentes espécies.

1. Ácidos teicoico e teicurônico — a expressão ácidos teicoicos abrange toda a parede, membrana ou polímeros capsulares que contêm resíduos de glicerolfosfato ou ribitol fosfato. Estes polialcoóis são conectados por ligações fosfodiéster e geralmente possuem outros açúcares e D-alanina ligados (Fig. 2.17A). Por serem relativamente carregados, os ácidos teicoicos são responsáveis, em parte, pela carga negativa da superfície celular como um todo. Existem dois tipos de ácido teicoico: o **ácido teicoico da parede (wall teichoic acid — WTA)**, que apresenta ligação covalente com o peptidoglicano; e o **ácido teicoico da membrana (ácido lipoteicoico)**, ligado de modo covalente ao glicolípido da membrana. Em virtude de os dois tipos de ácido teicoico da membrana estarem intimamente associados aos lipídeos, são chamados de **ácidos lipoteicoicos (lipoteichoic acids — LTA)**. Junto com o peptidoglicano, o WTA e o LTA fazem uma rede ou matriz polianiônica que proporciona funções relacionadas com a elasticidade, a porosidade, a força tensional e propriedades eletrostáticas do envelope. Embora nem todas as bactérias possuam WTA e LTA convencionais, as que não têm estes polímeros geralmente têm similares para tais funções.

Os ácidos teicoicos contêm, em sua maioria, grandes quantidades de D-alanina, geralmente ligada à posição 2 ou 3 do glicerol, ou à posição 3 ou 4 do ribitol. Todavia, em alguns dos ácidos teicoicos mais complexos, a D-alanina liga-se a um dos resíduos de açúcar. Além da D-alanina, outras moléculas podem estar ligadas aos grupos hidroxila livres do glicerol e do ribitol, como, por exemplo, glicose, galactose, N-acetilglicosamina,

N-acetilgalactosamina ou succinato. Uma espécie pode exibir mais de um tipo de molécula de açúcar além da D-alanina; nesse caso, não se sabe ao certo se os diferentes açúcares ocorrem nas mesmas moléculas ou em moléculas distintas do ácido teicoico. A composição do ácido teicoico, formado por determinada espécie bacteriana, pode variar de acordo com a composição do meio de crescimento.

Os ácidos teicoicos constituem os principais antígenos de superfície das espécies de bactérias gram-positivas que os possuem, e sua acessibilidade aos anticorpos foi tomada como evidência de que eles ocupam a superfície externa do peptidoglicano. Entretanto, sua atividade frequentemente mostra-se aumentada pela digestão parcial do peptidoglicano; sendo assim, muito do ácido teicoico pode ficar situado entre a membrana citoplasmática e a camada de peptidoglicano, estendendo-se possivelmente através dos poros da última (Fig. 2.17B). Nos pneumococos (*Streptococcus pneumoniae*), os ácidos teicoicos suportam determinantes antigênicos chamados antígenos de Forssman. No *Streptococcus pyogenes*, o LTA está associado à proteína M que se projeta da membrana celular através da camada do peptidoglicano. As longas moléculas da proteína M juntas com o LTA formam microfibrilas que facilitam a ligação do *S. pyogenes* às células animais.

Os **ácidos teicurônicos** são polímeros semelhantes, porém as unidades repetidas incluem os ácidos dos açúcares (p. ex., ácidos N-acetilmanosurônico ou D-glicosurônico) em lugar dos ácidos fosfóricos; são sintetizados em lugar dos ácidos teicoicos quando o fosfato constitui um fator limitante.

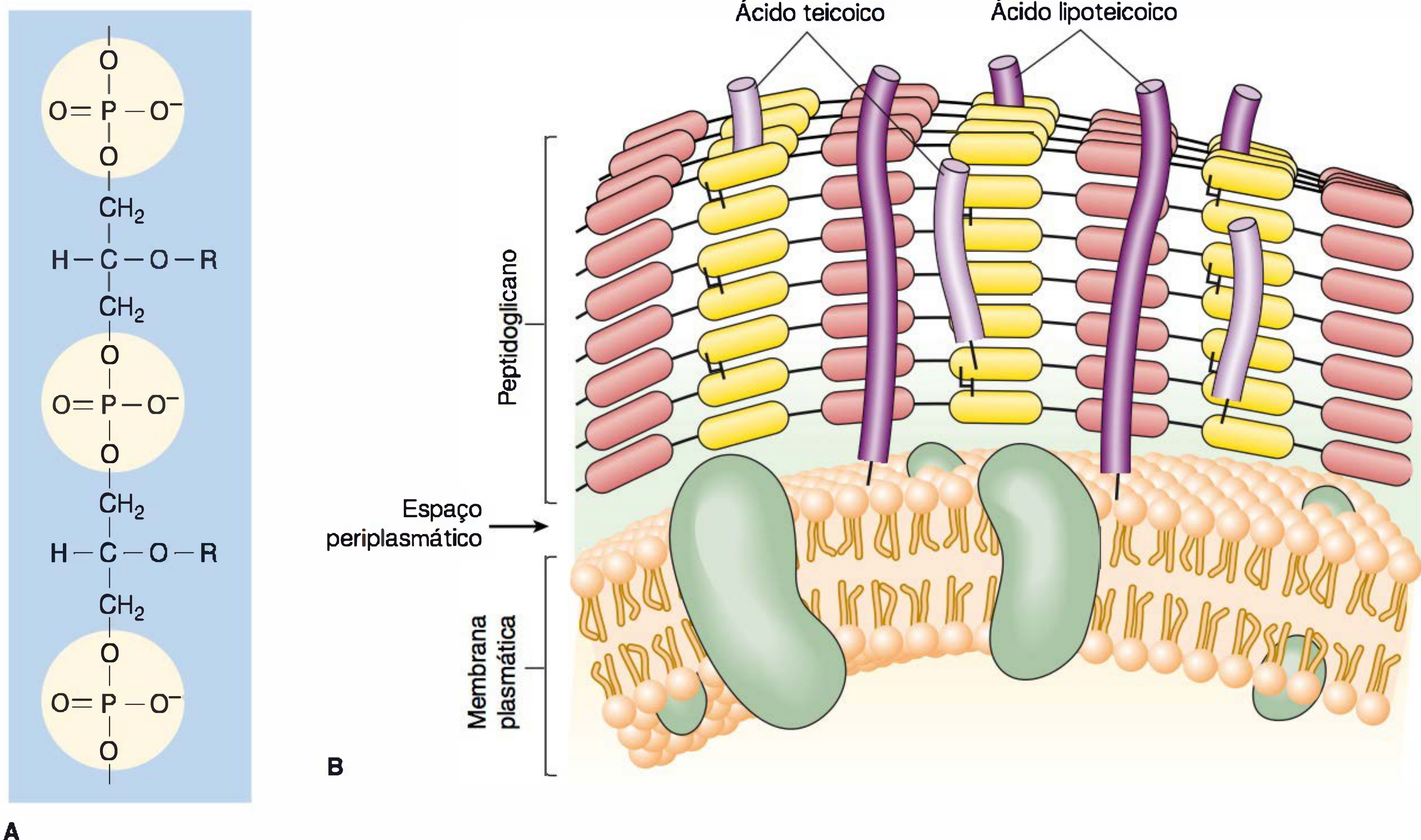


FIGURA 2.17 (A) Estrutura do ácido teicoico. O segmento de um ácido teicoico feito de glicerol, fosfato e uma cadeia lateral, R. R pode representar D-alanina, glicose ou outras moléculas. (B) Ácido teicoico e lipoteicoico da parede celular gram-positiva. (Reproduzida, com autorização, de Willey JM, Sherwood LM, Woolverton CJ (editors): Prescott, Harley, and Klein's Microbiology, 7th ed., New York: McGraw-Hill; 2008.)

2. Polissacarídeos — a hidrólise das paredes das células gram-positivas produz, em determinadas espécies, açúcares neutros, como a manose, arabinose, ramnose e glicosamina, bem como açúcares ácidos, como os ácidos glicurônico e manurônico. Sugeriu-se que esses açúcares existem como subunidades dos polissacarídeos na parede celular; entretanto, a descoberta de que os ácidos teicoico e teicurônico podem conter uma variedade de açúcares (Fig. 2.17A) faz que a verdadeira origem desses açúcares permaneça incerta.

C. Componentes especiais das paredes celulares dos microrganismos gram-negativos

As paredes celulares dos gram-negativos contêm três componentes localizados fora da camada de peptidoglicano: lipoproteína, membrana externa e lipopolissacarídeos (Fig. 2.18).

1. Membrana externa — a membrana externa é quimicamente distinta de todas as outras membranas biológicas. Forma uma estrutura em dupla camada; seu folheto interno assemelha-se, em sua composição, ao da membrana celular, enquanto

os fosfolípidos do folheto externo contêm um componente distinto, um **lipopolissacarídeo (LPS)**. Em consequência, os folhetos dessa membrana são assimétricos, e as propriedades dessa dupla camada diferem de modo considerável daquelas de uma membrana biológica simétrica, como a membrana celular.

A capacidade da membrana externa de excluir moléculas hidrofóbicas constitui uma característica peculiar entre as membranas biológicas e serve para proteger a célula (no caso das bactérias entéricas) das substâncias deletérias, como os sais biliares. Em virtude de sua natureza lipídica, seria de se esperar que a membrana externa também excluísse as moléculas hidrofílicas. Entretanto, a membrana externa possui canais especiais, constituídos por moléculas proteicas denominadas **porinas**, que permitem a difusão passiva dos compostos hidrofílicos de baixo peso molecular, tais como açúcares, aminoácidos e certos íons. As grandes moléculas de antibióticos penetram de modo relativamente lento através da membrana externa, contribuindo para a resistência relativamente alta das bactérias gram-negativas aos antibióticos. A permeabilidade da membrana externa varia bastante de uma espécie bacteriana

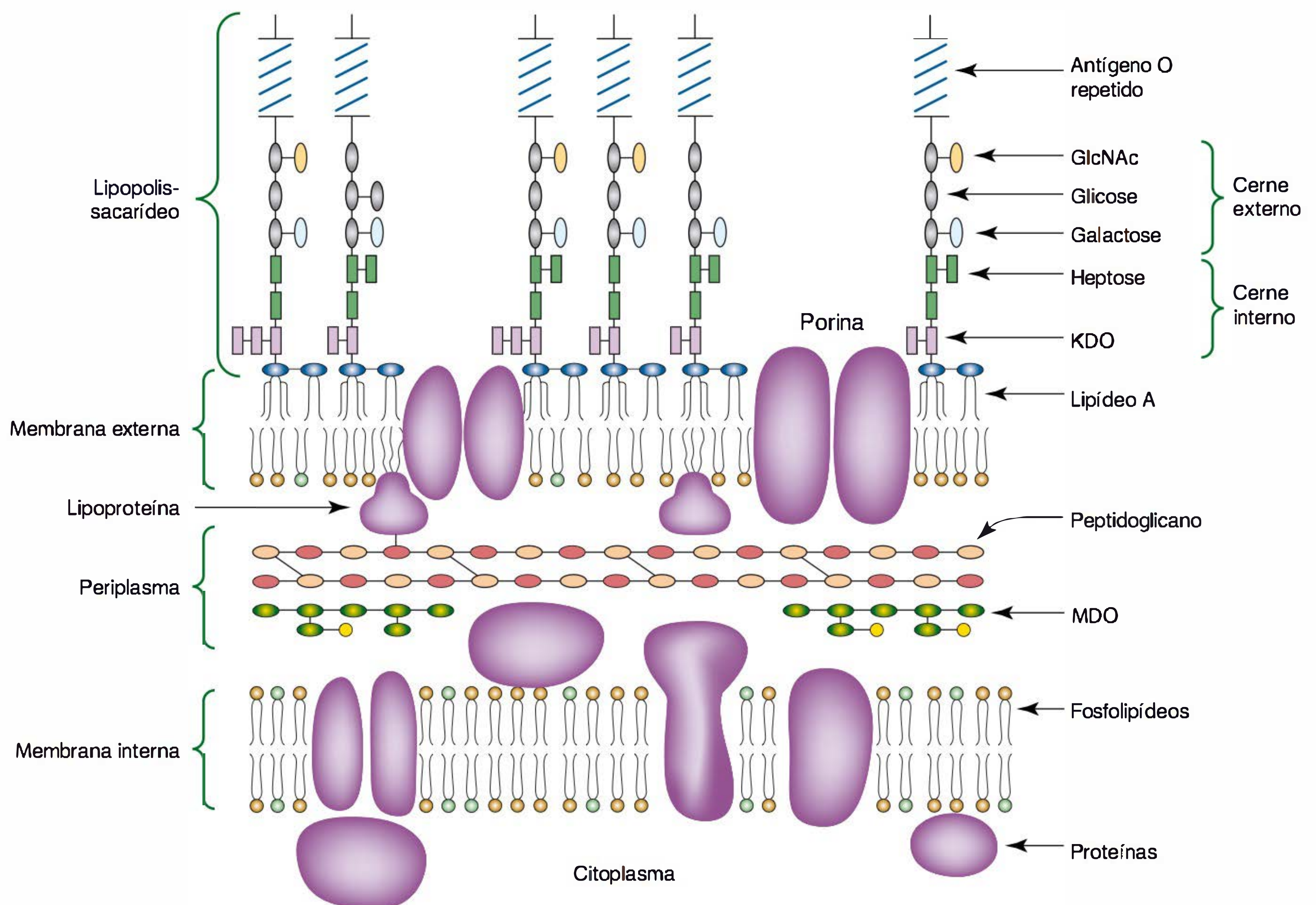


FIGURA 2.18 Representação molecular da parede de uma bactéria gram-negativa. As formas ovais e os retangulares representam resíduos de açúcar e as circulares indicam os grupos polares dos glicerofosfolípidos (fosfatidiletanolamina e fosfatidilglicerol). (MDO, oligossacarídeos derivados da membrana.) A região do cerne mostrada é a da *Escherichia coli* K-12, cepa que normalmente não contém um antígeno O repetido, a não ser que seja transformada com um plasmídeo apropriado. (Reproduzida, com autorização, de Raetz CRH: Bacterial endotoxins: Extraordinary lipids that activate eucaryotic signal transduction. *J Bacteriol* 1993;175:5745.)

gram-negativa para outra. Assim, por exemplo, em *P. aeruginosa*, extremamente resistente aos antibacterianos, a membrana externa é 100 vezes menos permeável do que a da *E. coli*.

As principais proteínas da membrana externa, denominadas de acordo com os genes que as codificam, foram classificadas em diversas categorias funcionais, com base nos mutantes em que estão ausentes, bem como em experimentos nos quais as proteínas purificadas foram reconstituídas em membranas artificiais. As porinas, exemplificadas por OmpC, D e F, assim como PhoE da *E. coli* e da *Salmonella typhimurium*^{*}, são proteínas triméricas que penetram em ambas as faces da membrana externa (Fig. 2.19). Formam poros relativamente inespecíficos que permitem a difusão livre de pequenos solutos hidrofílicos através da membrana. As porinas de espécies diferentes possuem diferentes limites de exclusão que variam desde pesos moleculares de cerca de 600 na *E. coli* e na *S. typhimurium* até mais de 3.000 na *P. aeruginosa*.

Os membros de um segundo grupo de proteínas da membrana externa, que se assemelham em muitos aspectos às porinas, são exemplificados por LamB e Tsx. LamB, uma porina induzível que também é o receptor do bacteriófago lambda, responde pela maior parte da difusão transmembrana da maltose e da maltodextrina; Tsx, o receptor do bacteriófago T6,

* N. de R.T. A nomenclatura mais atual seria: *Salmonella enterica* subespécie *enterica* sorovar *Typhimurium* ou *Salmonella Typhimurium*. O gênero *Salmonella*, que apresenta uma taxonomia extremamente complexa, é formada por 3 espécies (*S. enterica*, *S. bongori* e *S. subterranea*). Já a espécie *S. enterica* apresenta seis subespécies (*enterica*, *salamae*, *arizonae*, *diarizonae*, *houtanae* e *indica*), além de mais de 2.460 sorovares, que são escritos com letra maiúscula e não em itálico.

é responsável pela difusão transmembrana dos nucleosídeos e de alguns aminoácidos. A proteína LamB permite a passagem de outros solutos; entretanto, sua relativa especificidade pode refletir interações fracas de solutos com locais de configuração específica no interior do canal.

A OmpA é uma proteína abundante na membrana externa. Participa na ancoragem da membrana externa à camada de peptidoglicano como receptor de vários bacteriófagos, e atua como receptor do *pilus* sexual na conjugação bacteriana mediada pelo fator F (Cap. 7).

A membrana externa também contém um conjunto de proteínas menos abundantes, envolvidas no transporte de moléculas específicas, como a vitamina B₁₂ e complexos de ferro-sideróforos. Essas proteínas exibem alta afinidade pelos seus substratos, e é provável que atuem como os sistemas clássicos de transporte da membrana interna (citoplasmática). A função adequada dessas proteínas requer energia acoplada através de uma proteína denominada TonB. Outras proteínas de menos importância incluem um número limitado de enzimas, entre elas fosfolipases e proteases.

A topologia das principais proteínas da membrana externa, com base em estudos de ligação cruzada e na análise de relações funcionais, é apresentada na Figura 2.18. A membrana externa está conectada tanto à camada do peptidoglicano quanto à membrana citoplasmática. A conexão com a camada do peptidoglicano é mediada principalmente pela lipoproteína da membrana externa (ver adiante). Cerca de 33% das moléculas de lipoproteína apresentam ligação covalente com o peptidoglicano, e ajudam a manter as duas estruturas unidas. Uma associação não covalente de algumas das porinas com a

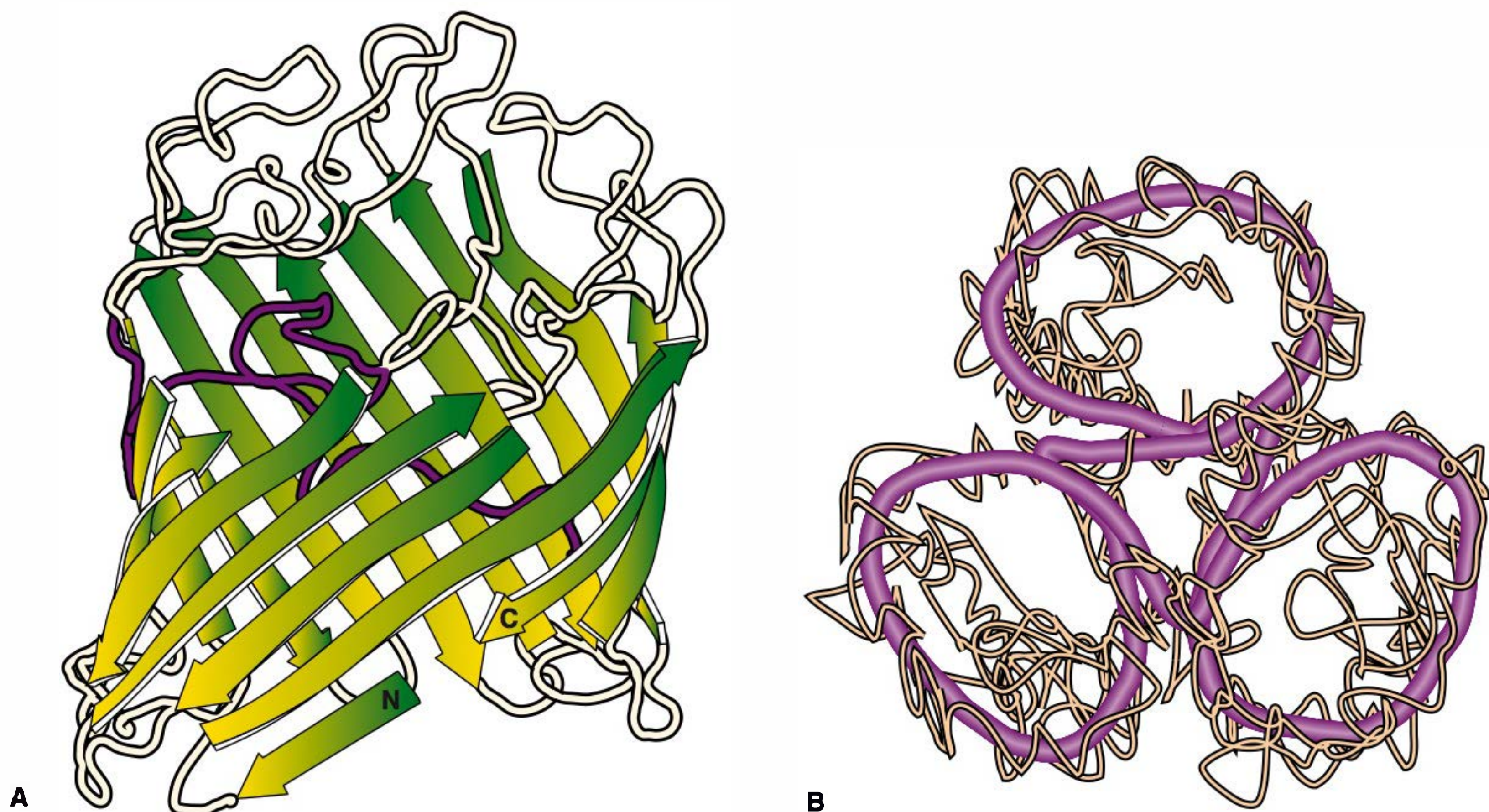


FIGURA 2.19 (A) Dobra geral de um monômero de porina (porina OmpF de *Escherichia coli*). A grande estrutura oca em barril β é formada pelo arranjo antiparalelo de 16 fitas β . As fitas são ligadas por alças curtas ou giros regulares na borda periplasmática (parte inferior), e alças irregulares longas estão voltadas para o exterior da célula (parte superior). A alça interna, que liga os filamentos β 5 e 6, estendendo-se no interior do barril, está representada em escuro. As terminações da cadeia estão indicadas. A superfície mais próxima do observador é envolvida em contatos de subunidades. (B) Representação esquemática do trímero OmpF. Vista do espaço extracelular ao longo do eixo de simetria molecular tripla. (Reproduzida, com autorização, de Schirmer T: General and specific porins from bacterial outer membranes. *J Struct Biol* 1998;121:101.)

camada de peptidoglicano desempenha um papel menor na conexão da membrana externa com essa estrutura. As proteínas da membrana externa são sintetizadas em ribossomos ligados à superfície citoplasmática da membrana interna; ainda não foi estabelecido como essas proteínas são transferidas para a membrana externa, porém uma hipótese aventada sugere que a transferência ocorre em zonas de adesão entre a membrana citoplasmática e a membrana externa, visíveis à microscopia eletrônica. Infelizmente, as evidências de tais áreas de adesão têm sido difíceis de ser demonstradas.

2. Lipopolissacarídeo (LPS) — o LPS das paredes celulares gram-negativas consiste em um glicolípido complexo, denominado lipídeo A, ao qual está ligado um polissacarídeo constituído de um cerne e uma série terminal de unidades repetidas (Fig. 2.20A). O componente do lipídeo A encontra-se embebido no folheto externo da membrana, ancorando o LPS. O LPS é sintetizado sobre a membrana citoplasmática e transportado até sua posição exterior final. A presença do LPS é necessária para a função de muitas proteínas da membrana externa.

O **lipídeo A** consiste em unidades dissacarídicas de glicosamina fosforilada, às quais estão ligados vários ácidos graxos de cadeia longa (Fig. 2.20). O ácido β -hidroximirístico, um ácido graxo de C14, está sempre presente e é exclusivo desse lipídeo.

Os outros ácidos graxos, juntamente com grupos substituintes nos fosfatos, variam de acordo com a espécie bacteriana.

O **cerne** do polissacarídeo, mostrado nas Figuras 2.20A e B, é semelhante em todas as espécies de bactérias gram-negativas que possuem LPS e inclui dois açúcares característicos, o **ácido cetodesoxioctanoico (KDO)** e uma heptose. Todavia, cada espécie contém uma unidade repetida peculiar, como, por exemplo, o da *Salmonella* que está ilustrada na Figura 2.20A. Em geral, as unidades de repetição consistem em trissacarídeos lineares ou em tetra ou pentassacarídeos ramificados. A unidade repetida é classificada como antígeno O. As cadeias hidrofílicas de carboidrato do antígeno O cobrem a superfície bacteriana e excluem os componentes hidrofóbicos.

As moléculas de LPS de carga negativa são ligadas de modo não covalente por cátions divalentes (*i. e.*, Ca^{2+} e Mg^{2+}), formando pontes cruzadas; isso estabiliza a membrana e proporciona uma barreira contra as moléculas hidrofóbicas. A remoção dos cátions divalentes com agentes quelantes ou seu deslocamento por antibióticos policatiônicos, como as polimixinas e os aminoglicosídeos, torna a membrana externa permeável as grandes moléculas hidrofóbicas.

O LPS, extremamente tóxico para os animais, foi denominado **endotoxina** das bactérias gram-negativas, por estar firmemente ligado à superfície celular, sendo liberado apenas quando as células sofrem lise. Quando o LPS é clivado em lipídeo A e

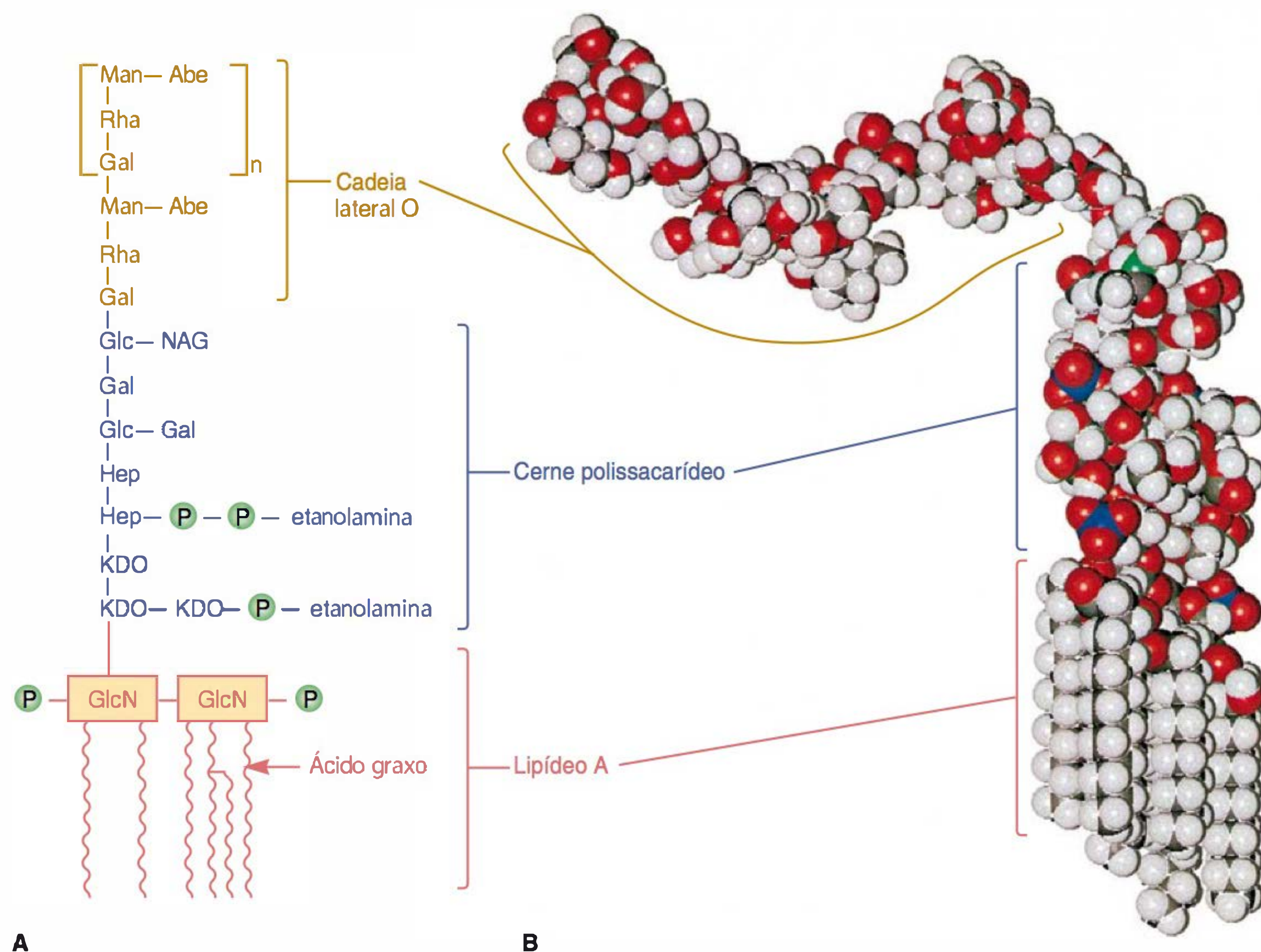


FIGURA 2.20 Estrutura de lipopolissacarídeo (A) Lipopolissacarídeo de *Salmonella*. Este diagrama levemente simplificado ilustra uma forma de LPS. (Abe, abequeose; Gal, galactose; GlcN, glicosamina; Hep, heptulose; KDO, 2 ceto-3-desoxioctonato; Man, manose; NAG, *N*-acetilglicosamina; P, fosfato; Rha, L-ramnose.) O lipídeo A está inserido na membrana externa. (B) Modelo molecular de um lipopolissacarídeo de *Escherichia coli*. O lipídeo A e o cerne polissacarídeo estão em linha reta; a cadeia lateral O está dobrada em ângulo neste modelo. (Reproduzida, com autorização, de Willey VM, Sherwood LM, Woolverton C.J. Prescott, Harley, and Klein's *Microbiology*, 7th ed., New York: McGraw-Hill; 2008. © The McGraw-Hill Companies, Inc.)

polissacarídeo, toda a toxicidade está associada ao lipídeo A. O antígeno O é altamente imunogênico em animais vertebrados. A especificidade antigênica, apresentada pelo antígeno O, é decorrente de sua alta variabilidade entre as espécies e até mesmo amostras dentro de uma mesma espécie bacteriana. O número de tipos antigênicos possíveis é muito grande: cerca de 1.000 foram reconhecidos apenas na *Salmonella*.

Nem todas as bactérias gram-negativas possuem o LPS na membrana externa composto de um número variável de unidades repetidas de oligossacarídeos (Fig. 2.20); os glicolipídeos da membrana externa e bactérias que colonizam as mucosas (p. ex., *Neisseria meningitidis*, *N. gonorrhoeae*, *Haemophilus influenzae* e *Haemophilus ducreyi*) possuem glicanos multiantenares (i. e., ramificados) relativamente curtos. Esses glicolipídeos menores foram comparados com as estruturas truncadas do “tipo R” do LPS, que não têm antígenos O e são produzidas por mutantes de bactérias entéricas, como a *E. coli*. Entretanto, suas estruturas assemelham-se mais estreitamente a dos glicosfingolipídeos das membranas celulares dos mamíferos, sendo mais apropriadamente denominadas **lipo-oligossacarídeos (LOS)**. Estas moléculas exibem extensa diversidade antigênica e estrutural mesmo dentro de uma única cepa. O LOS é um importante fator de virulência. Foram identificados epítomos no LOS que imitam estruturas do hospedeiro e podem tornar esses microrganismos capazes de escapar da resposta imunológica do hospedeiro. Alguns LOS (p. ex., os da *N. gonorrhoeae*, da *N. meningitidis* e da *H. ducreyi*) possuem um resíduo de *N*-acetilactosamina terminal ($\text{Gal}\beta\text{-1} \rightarrow 4\text{-GlcNAc}$) que se assemelha, do ponto de vista imunoquímico, ao precursor do antígeno i dos eritrócitos humanos. Na presença de uma enzima bacteriana denominada sialiltransferase e de um substrato do hospedeiro ou bacteriano (ácido citidina monofosfo-*N*-acetilneuramínico, CMP-NANA), o resíduo de *N*-acetilactosamina sofre sialilação. Essa sialilação, que ocorre *in vivo*, confere ao microrganismo as vantagens ambientais do mimetismo molecular de um antígeno do hospedeiro e do mascaramento biológico proporcionado provavelmente pelos ácidos siálicos.

3. Lipoproteína — as moléculas de uma lipoproteína inco-mum entrelaçam-se entre a membrana externa e as camadas do peptidoglicano (Fig. 2.18). A lipoproteína contém 57 aminoácidos, representando repetições de uma sequência de 15 aminoácidos; é um peptídeo ligado aos resíduos do DAP na cadeia lateral tetrapeptídica do peptidoglicano. O componente lipídico consiste em um diglicerídeo de tioéter ligado a uma cisteína terminal, inserido de modo não covalente na membrana externa. A lipoproteína é, numericamente, a proteína mais abundante de células gram-negativas (cerca de 700.000 moléculas por célula). Sua função (baseada no comportamento de mutantes deficientes em lipoproteína) é estabilizar a membrana externa e ancorá-la na camada do peptidoglicano.

4. O espaço periplasmático — o espaço entre a membrana interna e a externa, denominado **espaço periplasmático**, contém a camada de peptidoglicano e uma solução de proteínas semelhante a um gel. O espaço periplasmático representa cerca de 20 a 40% do volume celular, o que é bastante significativo. As proteínas periplasmáticas incluem proteínas de ligação para substratos específicos (p. ex., aminoácidos, açúcares, vitaminas e íons), enzimas hidrolíticas (p. ex., fosfatase alcalina e

5'-nucleotidase) que degradam substratos não transportáveis em formas passíveis de transporte e enzimas de desoxificação (p. ex., betalactamase e aminoglicosídeo fosforilase), que inativam determinados antibióticos. O periplasma também contém altas concentrações de polímeros altamente ramificados de D-glicose com 8 a 10 resíduos de comprimento, variadamente substituídos por resíduos de glicerolfosfato e fosfatidiletanolamina; alguns contêm ésteres de O-succinil. Esses, denominados **oligossacarídeos derivados de membrana**, parecem desempenhar algum papel na osmorregulação, visto que as células cultivadas em meio de baixa osmolaridade aumentam 16 vezes a síntese desses compostos.

D. Parede de células álcool-acidorresistentes

Algumas bactérias, notadamente o bacilo da tuberculose (*M. tuberculosis*) e bactérias semelhantes, possuem paredes celulares que contêm uma grande quantidade de **ceras**, hidrocarbonetos complexos ramificados (70 a 90 carbonos de extensão), conhecidos como **ácidos micólicos**. A parede celular é composta de peptidoglicano e de uma bicamada lipídica assimétrica; o folheto interno contém ácidos micólicos ligados ao arabinogalactano, e o folheto externo contém outros lipídeos. Esta é uma bicamada lipídica altamente ordenada, na qual proteínas estão embebidas, formando poros que contêm água, através dos quais os nutrientes e certos medicamentos podem passar lentamente. Alguns compostos também podem penetrar o domínio lipídico da parede celular, embora de maneira lenta. Essa estrutura hidrofóbica torna essas bactérias resistentes a muitos produtos químicos, como detergentes e ácidos fortes. Se um corante for introduzido nessas células por meio de um leve aquecimento ou tratamento com detergentes, não pode ser removido por ácido clorídrico diluído, como em outras bactérias. Dessa forma, tais organismos são chamados de **álcool-acidorresistentes**. A permeabilidade da parede celular às moléculas hidrofílicas é 100 a 1.000 vezes menor do que para a *E. coli* e pode ser responsável pela lenta taxa de crescimento observada nas micobactérias.

E. Parede celular das arqueobactérias

As arqueobactérias não possuem parede celular como as bactérias. Algumas possuem uma simples camada S (ver adiante) geralmente formada por glicoproteínas. Algumas arqueobactérias possuem uma parede celular rígida, composta por polissacarídeos ou um peptidoglicano chamado **pseudomureína**. A pseudomureína difere do peptidoglicano das bactérias por terem L-aminoácidos no lugar de D-aminoácidos e unidades dissacarídicas com uma ligação $\alpha\text{1} \rightarrow 3$ no lugar de $\beta\text{1} \rightarrow 4$. As arqueobactérias que possuem pseudomureína na parede celular são gram-positivas.

F. Camadas cristalinas de superfície

Muitas bactérias, gram-positivas e negativas, bem como arqueobactérias, possuem uma camada em treliça, bidimensional e cristalina de moléculas de proteínas ou glicoproteínas (**camada S**) como o mais externo componente do envelope celular. Nas bactérias gram-positivas e negativas, esta estrutura encontra-se, algumas vezes, em densas moléculas; em algumas arqueobactérias, está somente na camada externa da membrana celular.

As camadas S geralmente são compostas de um único tipo de molécula, às vezes com carboidratos ligados. As moléculas isoladas são capazes de se autoagrupar, ou seja, fazem camadas similares ou idênticas àquelas presentes nas células. As proteínas da camada S são resistentes à ação das enzimas proteolíticas e aos agentes desnaturantes. A função da camada S é incerta, mas provavelmente tem ação protetora; em alguns casos, foi demonstrado que protege a célula da ação das enzimas de degradação da parede celular, da invasão por *Bdellovibrio bacteriovorus* (um predador de bactérias) e dos bacteriófagos; também desempenha um papel na manutenção da forma celular em algumas espécies de arqueobactérias, e pode estar envolvida na adesão da célula às superfícies epidérmicas do hospedeiro.

G. Enzimas que atacam a parede celular

A ligação $\beta 1 \rightarrow 4$ da estrutura do peptidoglicano é hidrolisada pela enzima **lisozima** (Fig. 2.16), encontrada nas secreções animais (na lágrima, na saliva e nas secreções nasais), bem como na clara do ovo. Bactérias gram-positivas tratadas com lisozima em meios de baixa força osmótica sofrem lise; se a força osmótica do meio é aumentada para equilibrar-se com a pressão osmótica da célula, são liberados corpos esféricos livres, chamados **protoplastos**. A membrana externa da parede celular das bactérias gram-negativas previne o acesso da lisozima, a menos que seja rompida por ação de um agente, como o ácido etilenodiaminotetracético (EDTA), um composto quelante de cátions divalentes; em meio osmoticamente protegido, as células tratadas com EDTA-lisozima formam **esferoplastos** que ainda possuem remanescentes do complexo da parede gram-negativa, inclusive a membrana externa.

As próprias bactérias possuem um número de **autolisinas**, enzimas hidrolíticas que atacam o peptidoglicano, como as muramidases, glicosaminidases, endopeptidases e carboxipeptidases. Estas enzimas catalisam a reciclagem ou a degradação do peptidoglicano na bactéria; presume-se que participem do crescimento da parede celular, da reciclagem e da divisão celulares, porém sua atividade é mais evidente durante a dissolução das células mortas (autólise).

As enzimas que degradam as paredes das células bacterianas também são encontradas nas células que digerem bactérias (p. ex., os protozoários e as células fagocíticas dos animais superiores).

H. Crescimento da parede celular

A síntese da parede celular é necessária para a divisão celular; entretanto, a incorporação de novo material da parede celular varia de acordo com a forma da bactéria. As bactérias em forma de bastão (p. ex., *E. coli*, *Bacillus subtilis*) possuem dois modos de síntese da parede celular; o novo peptidoglicano é inserido ao longo de uma via helicoidal que leva ao alongamento da célula, e é inserido em um anel em volta do futuro local de divisão, levando à formação de um septo de divisão. As células cocoides, como o *S. aureus*, parecem não ter um modo de alongamento na síntese da parede celular. Em lugar disso, o novo peptidoglicano é inserido somente no local de divisão. Uma terceira forma de crescimento da parede celular é exemplificada por *S. pneumoniae*, que não é um coco verdadeiro, pois não são totalmente redondas, mas tem a forma de uma bola de rúgbi. O *S. pneumoniae* sintetiza a parede celular não apenas pelo septo, mas também pelos chamados “anéis equatoriais” (Fig. 2.21).

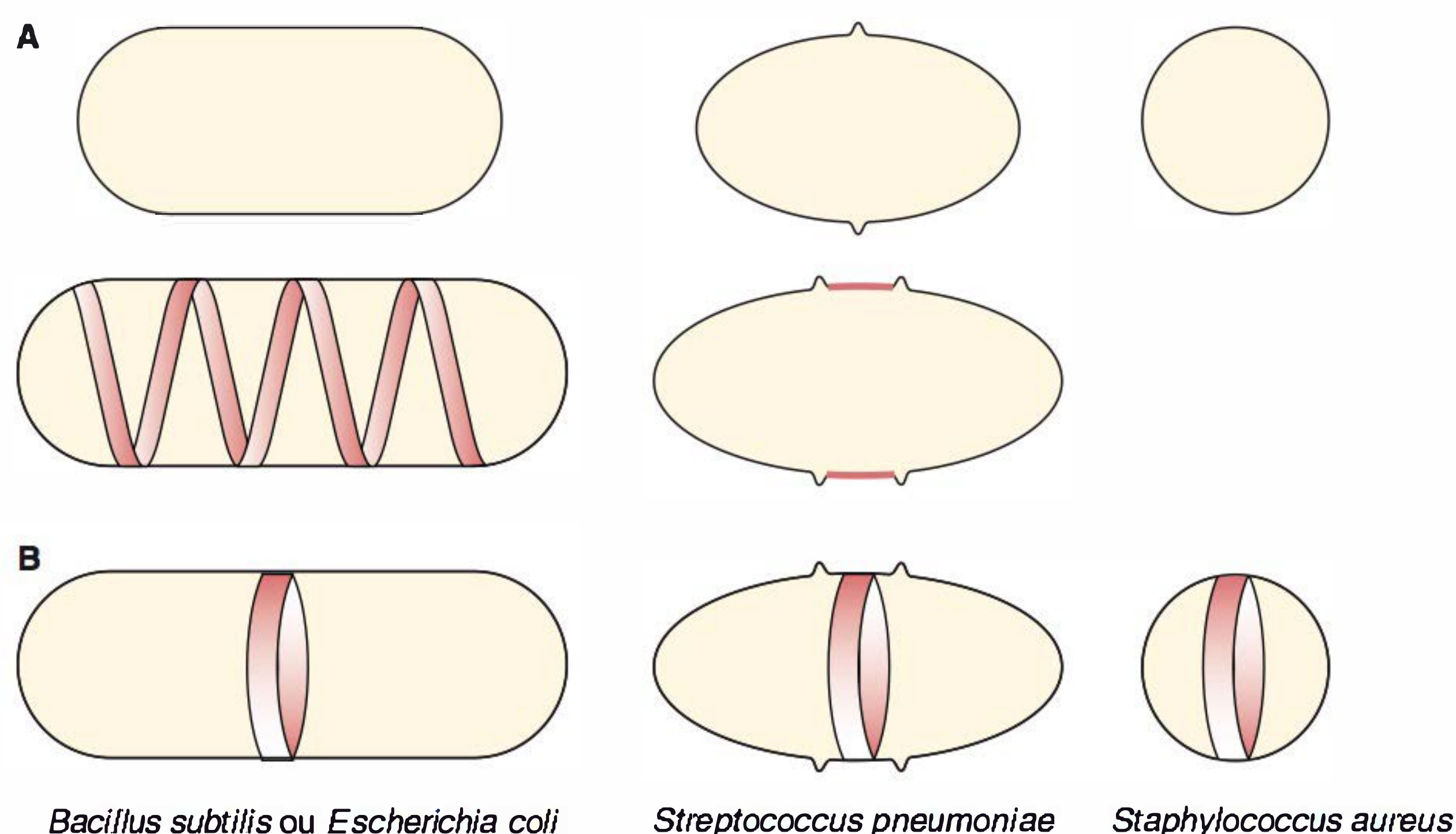


FIGURA 2.21 Incorporação de nova parede celular em bactérias de diferentes formatos. Bastonetes, como o *Bacillus subtilis* ou *Escherichia coli*, têm dois modos de síntese da parede celular: o novo peptidoglicano é inserido ao longo de uma via helicoidal (A), levando a uma elongação lateral da parede, e é inserido em um anel em volta do futuro septo de divisão, o que leva à formação de um septo de divisão (B). As células do *Streptococcus pneumoniae* têm a forma de uma bola de rúgbi e alongam-se pela inserção do novo material na parede celular, nos chamados anéis equatoriais (A), que correspondem a um crescimento extra da parede celular que engloba a célula. Um anel inicial é duplicado, e os dois anéis resultantes são progressivamente separados, delimitando os futuros septos da divisão das células-filhas. Em seguida, o septo de divisão é sintetizado no meio da célula (B). As células arredondadas, como o *Staphylococcus aureus*, parecem não possuir um modo de alongamento durante a síntese da parede celular. Em lugar disso, o novo peptidoglicano é inserido somente no septo de divisão (B). (Reproduzida, com autorização, de Scheffers DJ and Pinho MG: Bacterial cell wall synthesis: new insights from localization studies. *Microbiol Mol Biol Rev* 2005;69:585.)

I. Protoplastos, esferoplastos e formas L

A remoção da parede bacteriana pode ser efetuada por hidrólise com a lisozima ou por bloqueio da biossíntese do peptidoglicano com um antibiótico, como a penicilina. Em meios osmoticamente protegidos, esses tipos de tratamento liberam os **protoplastos** das células gram-positivas e **esferoplastos** (que retêm a membrana externa e o peptidoglicano aprisionado) das células gram-negativas.

Se tais células forem capazes de crescer e sofrer divisão, denominam-se **formas L**. É difícil obter a cultura das formas L, que em geral exigem um meio solidificado com ágar bem como uma força osmótica adequada. As formas L são produzidas mais facilmente com penicilina do que com lisozima, sugerindo a necessidade de peptidoglicano residual.

Algumas formas L podem reverter à sua forma bacilar normal após a remoção do estímulo indutor. Por conseguinte, são capazes de reiniciar a síntese normal da parede celular. Outras são estáveis e nunca sofrem reversão. Nesse caso, o fator que determina sua capacidade de reversão pode também consistir na presença de peptidoglicano residual, que normalmente atua como modelo para a sua própria biossíntese.

Algumas espécies bacterianas produzem formas L espontaneamente. A formação de formas L, espontânea ou induzida por antibióticos no hospedeiro, pode provocar infecções crônicas, favorecendo a persistência desses microrganismos em regiões mais protegidas do corpo. Como as infecções pelas formas L são relativamente resistentes à antibioticoterapia, representam problemas especiais em quimioterapia. Sua reversão para a forma bacilar pode resultar em recidivas da infecção manifesta.

J. Micoplasmas

Os **micoplasmas** são bactérias que não possuem parede celular nem peptidoglicano (Fig. 2.22). Existem também arqueobactérias sem parede, mas estas não têm sido tão bem estudadas. Análises genômicas colocam os micoplasmas próximo das bactérias gram-positivas, das quais podem ter derivado.

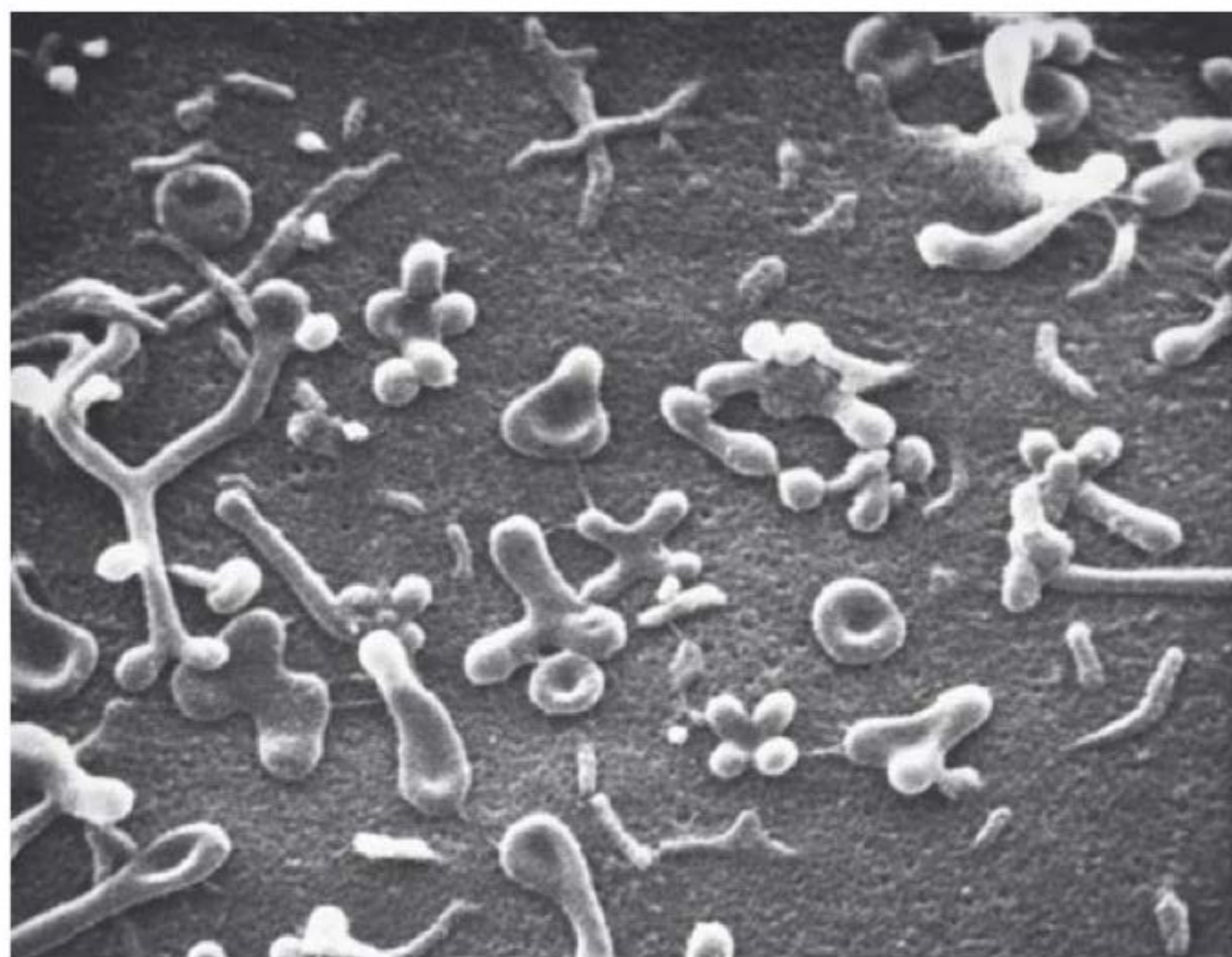


FIGURA 2.22 *Mycoplasma pneumoniae*. As células variam em sua forma em virtude da falta de parede celular. (Cortesia do Dr. Edwin S. Boatman.)

Os micoplasmas perdem o alvo para os agentes antimicrobianos que atuam na parede celular (p. ex., penicilinas e cefalosporinas) e, por conseguinte, são resistentes a eles. Algumas — como o *Mycoplasma pneumoniae*, um agente da pneumonia — contêm esteróis em suas membranas. A diferença entre as formas L e os micoplasmas é que, quando é possível a mureína (peptidoglicano) ser refeita, somente as formas L reverterem à sua forma bacteriana original, enquanto os micoplasmas nunca o fazem.

Cápsula e glicocálice

Muitas bactérias sintetizam grandes quantidades de polímeros extracelulares quando crescem em seus ambientes naturais. Com uma exceção conhecida (as cápsulas de ácido poli-D-glutâmico do *Bacillus anthracis* e do *Bacillus licheniformis*), o material extracelular consiste em polissacarídeo (Quadro 2.1). As denominações **cápsula** e **camada de muco** são usadas frequentemente para descrever as camadas de polissacarídeo; um termo mais inclusivo, **glicocálice**, também é utilizado. O glicocálice é definido como um material polissacarídico ligado ao lado exterior da célula. Uma camada condensada e bem definida, circundando estreitamente a célula, que exclui partículas, como a tinta da Índia,* é denominada cápsula (Fig. 2.23). Se o glicocálice estiver associado, de maneira frouxa, à célula e não excluir partículas é referido como camada de muco. O polímero extracelular é sintetizado por enzimas localizadas na superfície da célula bacteriana. Por exemplo, o *Streptococcus mutans* utiliza duas enzimas — a glicosiltransferase e a frutossiltransferase — para sintetizar os dextranos de cadeia longa (poli-D-glicose) e levanos (poli-D-frutose) a partir da sacarose. Estes polímeros são denominados **homopolímeros**. Os polímeros que contêm mais de um tipo de monossacarídeo denominam-se **heteropolímeros**.

A cápsula contribui para a capacidade de invasão das bactérias patogênicas — as células encapsuladas ficam protegidas da fagocitose, a não ser que sejam recobertas por anticorpo anticapsular. O glicocálice desempenha algum papel na aderência das bactérias às superfícies em seu meio ambiente, inclusive as células dos hospedeiros vegetais e animais. O *S. mutans*, por exemplo, deve a seu glicocálice a capacidade de aderir firmemente ao esmalte dos dentes. As células bacterianas da mesma espécie ou de espécies diferentes ficam aprisionadas no glicocálice, que forma a camada conhecida como placa na superfície dentária; os produtos ácidos excretados por essas bactérias provocam cáries dentárias (Cap. 11). O papel essencial do glicocálice em tal processo — e sua formação a partir da sacarose — explica a correlação da cárie dentária com o consumo de sacarose pela população humana. Devido à ligação entre as camadas de polissacarídeos externas e quantidades significativas de água, a camada do glicocálice também pode desempenhar um papel na resistência à dessecação.

Flagelos

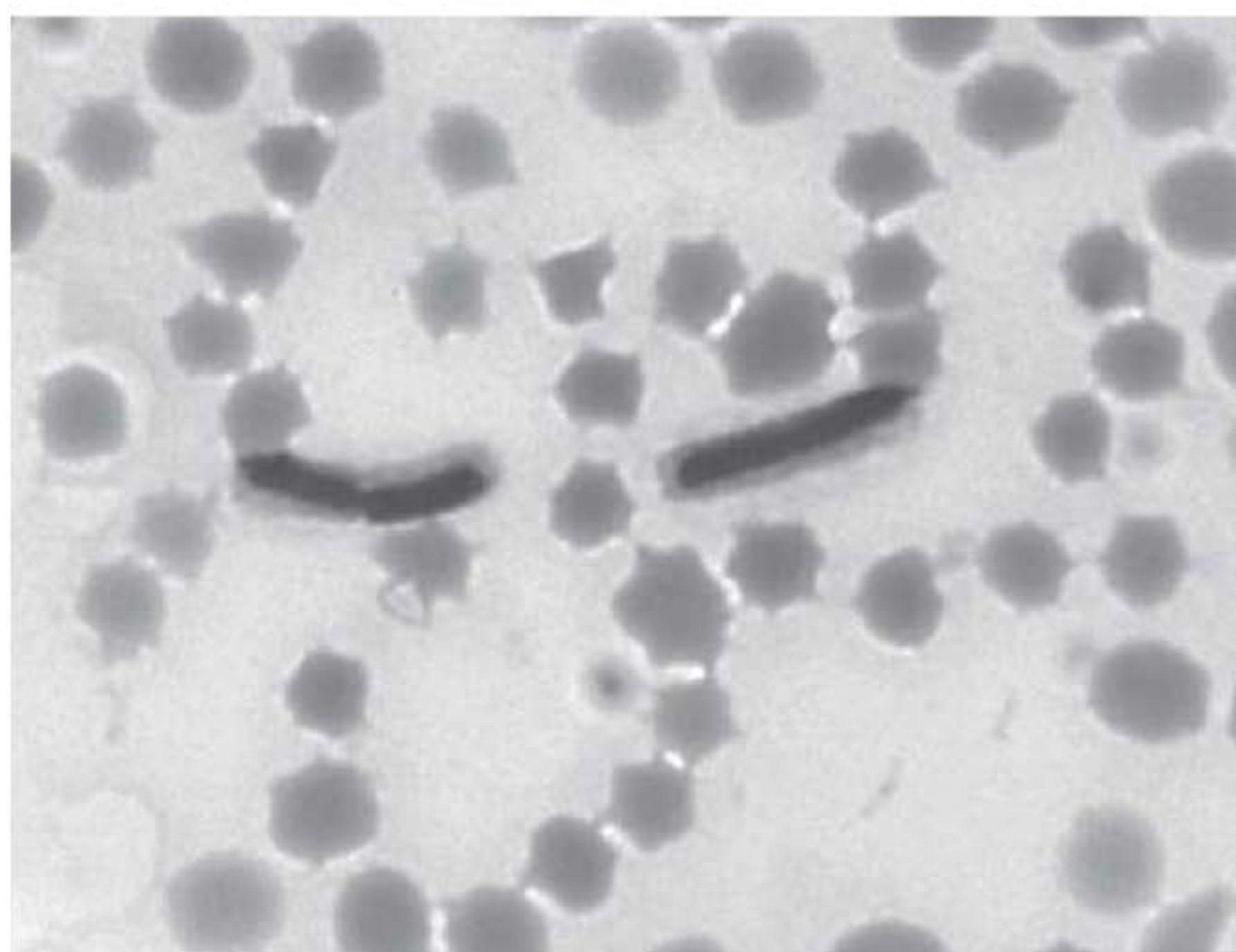
A. Estrutura

Os flagelos das bactérias são apêndices piliformes compostos totalmente de proteína (com 12 a 30 nm de diâmetro). Trata-se

* N. de R.T. Também conhecida como tinta da China ou nanquim.

QUADRO 2.1 Composição química do polímero extracelular em algumas bactérias

Organismo	Polímero	Subunidades químicas
<i>Bacillus anthracis</i>	Polipeptídeo	Ácido D-glutâmico
<i>Enterobacter aerogenes</i>	Polissacarídeo complexo	Glicose, fucose, ácido glicurônico
<i>Haemophilus influenzae</i>	Sorogrupo B	Ribose, ribitol, fosfato
<i>Neisseria meningitidis</i>	Homopolímeros e heteropolímeros, como, p. ex.	
	Sorogrupo A	N-acetilmanosamina fosfato parcialmente O-acetilado
	Sorogrupo B	Ácido N-acetilneuramínico (ácido siálico)
	Sorogrupo C	Ácido siálico acetilado
	Sorogrupo 135	Galactose, ácido siálico
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Alginato	Ácido D-manurônico, ácido L-glicurônico
<i>Streptococcus pneumoniae</i> (pneumococo)	Polissacarídeo complexo (muitos tipos), como, p. ex.	
	Tipo II	Ramnose, glicose, ácido glicurônico
	Tipo III	Glicose, ácido glicurônico
	Tipo VI	Galactose, glicose, ramnose
	Tipo XIV	Galactose, glicose, N-acetilglicosamina
	Tipo XVIII	Ramnose, glicose
<i>Streptococcus pyogenes</i> (grupo A)	Ácido hialurônico	Ácido glicurônico, N-acetilglicosamina
<i>Streptococcus salivarius</i>	Levano	Frutose



A



B

FIGURA 2.23 Cápsulas bacterianas. (A) *Bacillus anthracis*, coloração de cápsula M'Faydean, crescimento a 35°C em sangue de cavalo desfibrinado. (B) Demonstração da presença de cápsula no *Bacillus anthracis* por coloração negativa com tinta da Índia. Este método é útil para melhorar a visualização das bactérias encapsuladas em amostras clínicas, tais como sangue, garrafas de cultura de sangue (hemoculturas) ou líquido cefalorraquidiano. (CDC, cortesia de Larry Stauffer, Oregon State Public Health Laboratory.)

dos órgãos de locomoção das formas que os possuem. São conhecidos três tipos de disposição: **monotríquico** (flagelo polar único), **lofotríquico** (inúmeros flagelos polares) e **peritríquico** (flagelos distribuídos por toda a superfície da célula). Os três tipos estão ilustrados na Figura 2.24.

O flagelo bacteriano é constituído de vários milhares de moléculas de uma subunidade proteica, denominada **flagelina**. Em alguns microrganismos (p. ex., *Caulobacter*), os flagelos são

constituídos de dois tipos de flagelina; entretanto, na maioria dos casos observa-se apenas um tipo. O flagelo é formado pela agregação de subunidades, formando uma estrutura helicoidal. Se os flagelos são removidos pela agitação mecânica de uma suspensão de bactérias, verifica-se a rápida formação de novos flagelos mediante a síntese, agregação e extrusão de subunidades de flagelina; a motilidade é restaurada em 3 a 6 min. As flagelinas de diferentes espécies bacterianas presumivelmente

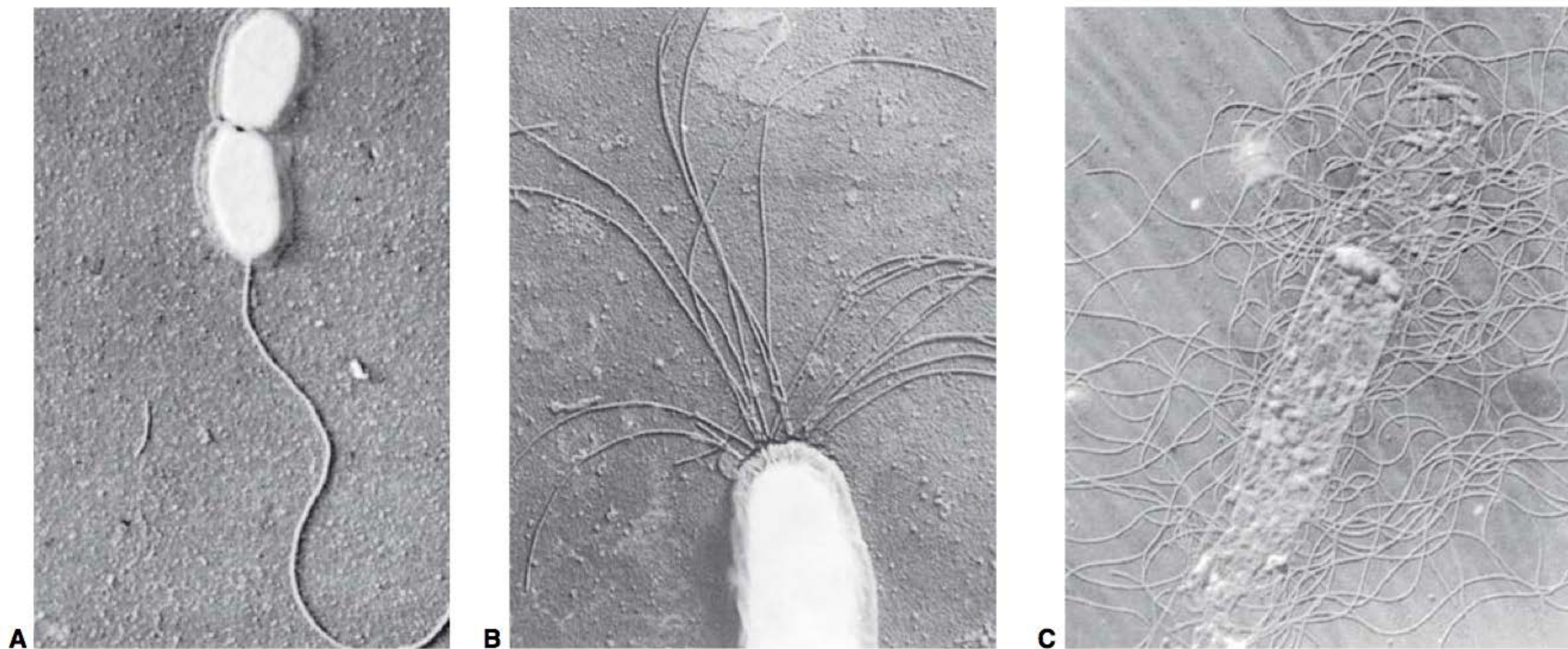


FIGURA 2.24 Tipos de flagelo bacteriano. (A) *Vibrio metchnikovii*, uma bactéria monotríquia (ampliada 7.500 vezes). (Reproduzida, com autorização, de van Iterson W: *Biochim Biophys Acta* 1947;1:527.) (B) Micrografia eletrônica de *Spirillum serpens*, mostrando a flagelação lofotríquia (ampliada 9.000 vezes). (Reproduzida, com autorização, de van Iterson W: *Biochim Biophys Acta* 1947;1:527.) (C) Micrografia eletrônica de *Proteus vulgaris*, mostrando a flagelação peritríquia (ampliada 9.000 vezes). Observe os grânulos basais. (Reproduzida, com autorização, de Houwink A, van Iterson W: *Electron microscopical observations on bacterial cytology; a study on flagellation Biochim Biophys Acta* 1950;5:10.)

diferem umas das outras na sua estrutura primária; são altamente antigênicas (**antígenos H**), e algumas das respostas imunológicas à infecção são dirigidas contra essas proteínas.

O flagelo está fixado ao corpo celular da bactéria por uma estrutura complexa constituída de um gancho e um corpúsculo basal. O gancho consiste em uma estrutura curta e recurvada,

que parece atuar como articulação universal entre o motor na estrutura basal e o flagelo. O corpúsculo basal sustenta um conjunto de anéis, um par nas bactérias gram-positivas e dois pares nas gram-negativas. A Figura 2.25 mostra um diagrama representativo da estrutura gram-negativa; os anéis designados por L e P estão ausentes nas células gram-positivas.

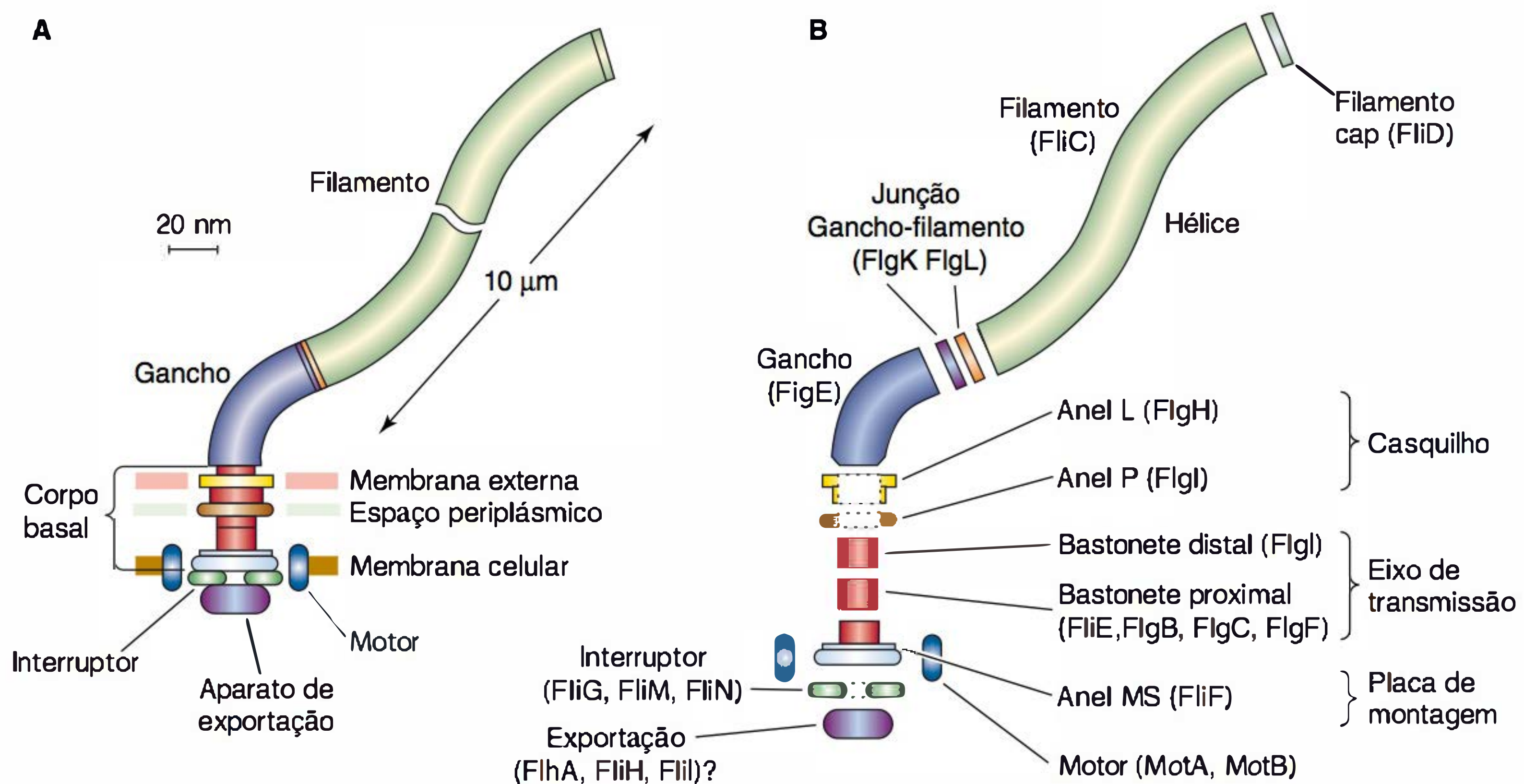


FIGURA 2.25 (A) Estrutura geral do flagelo de uma bactéria gram-negativa, como *Escherichia coli* ou *Salmonella Typhimurium*. O complexo filamento-gancho-corpúsculo basal foi isolado e extensamente caracterizado. A localização do aparelho de exportação não foi ainda demonstrada. (B) Diagrama fragmentado do flagelo, mostrando as subestruturas e proteínas que o compõem. A proteína FliF é responsável pela característica dos anéis M e S, bem como do colar da subestrutura mostrada, denominada em conjunto anel MS. A localização de FliE com relação ao anel MS e a do bastonete, bem como a ordem das proteínas FlgB, FlgC e FlgF dentro do bastonete proximal, não são conhecidas. (Extraída de Macnab RM: *Genetics and biogenesis of bacterial flagella. Annu Rev Genet* 1992;26:131. Reproduzida, com autorização, de *Annual Review of Genetics*, Volume. 26. © 1992 by Annual Reviews.)

A complexidade do flagelo bacteriano é revelada por estudos genéticos, mostrando que mais de 40 produtos gênicos estão envolvidos em sua organização e sua função.

Os flagelos são produzidos em etapas (Fig. 2.25). Primeiramente, o corpo basal é montado e inserido no envelope celular. Em seguida, o gancho é adicionado e, por fim, o filamento é progressivamente produzido pela adição de subunidades de flagelina na extremidade nascente. As subunidades de flagelina são expelidas através de um canal central no flagelo; quando alcança a extremidade, ele se condensa com os predecessores, e dessa forma o filamento se alonga.

B. Motilidade

Os flagelos bacterianos são rotores helicoidais semirrígidos que conferem à célula um movimento de rotação, impulsionada pelo fluxo de prótons no interior da célula ao longo do gradiente produzido pela bomba de prótons primária (ver anteriormente); na ausência de uma fonte de energia metabólica, a rotação pode ser impulsionada por uma força motriz de prótons gerada por ionóforos. As bactérias que vivem em ambientes alcalinos (alcalófilas) utilizam a energia do gradiente de íons sódio — em lugar do gradiente de prótons — para impulsionar o motor flagelar (Fig. 2.26).

Todos os componentes do motor flagelar localizam-se no envelope celular. Os flagelos fixados a envelopes celulares

isolados e fechados sofrem rotação normal quando o meio contém um substrato apropriado à respiração, ou quando se estabelece artificialmente um gradiente de prótons.

Quando uma bactéria peritríquia se locomove, seus flagelos associam-se para formar um feixe posterior que impulsiona a célula para a frente, em linha reta, por rotação anti-horária. A determinados intervalos, os flagelos invertem seu sentido de rotação e sofrem dissociação momentânea, fazendo com que a célula pare até que o movimento seja retomado e uma nova direção seja determinada aleatoriamente. Esse comportamento propicia a propriedade da **quimiotaxia**: uma célula que está se afastando da fonte de um agente químico atraente para e se reorienta mais frequentemente que uma célula que está se deslocando em direção ao agente de atração, resultando no movimento final da célula em direção à fonte. A presença de uma substância química atraente (p. ex., açúcar ou um aminoácido) é percebida por receptores específicos localizados na membrana celular (em muitos casos, o mesmo receptor também participa no transporte de membrana dessa molécula). A célula bacteriana é muito pequena para ser capaz de detectar a existência de um gradiente químico espacial (*i. e.*, um gradiente entre seus dois polos); em vez disso, experimentos mostram que a célula detecta gradientes temporais, isto é, concentrações que diminuem com o decorrer do tempo, quando a célula está se afastando da fonte de atração, e que aumentam com o decorrer do tempo, quando a célula está se movendo em sua direção.

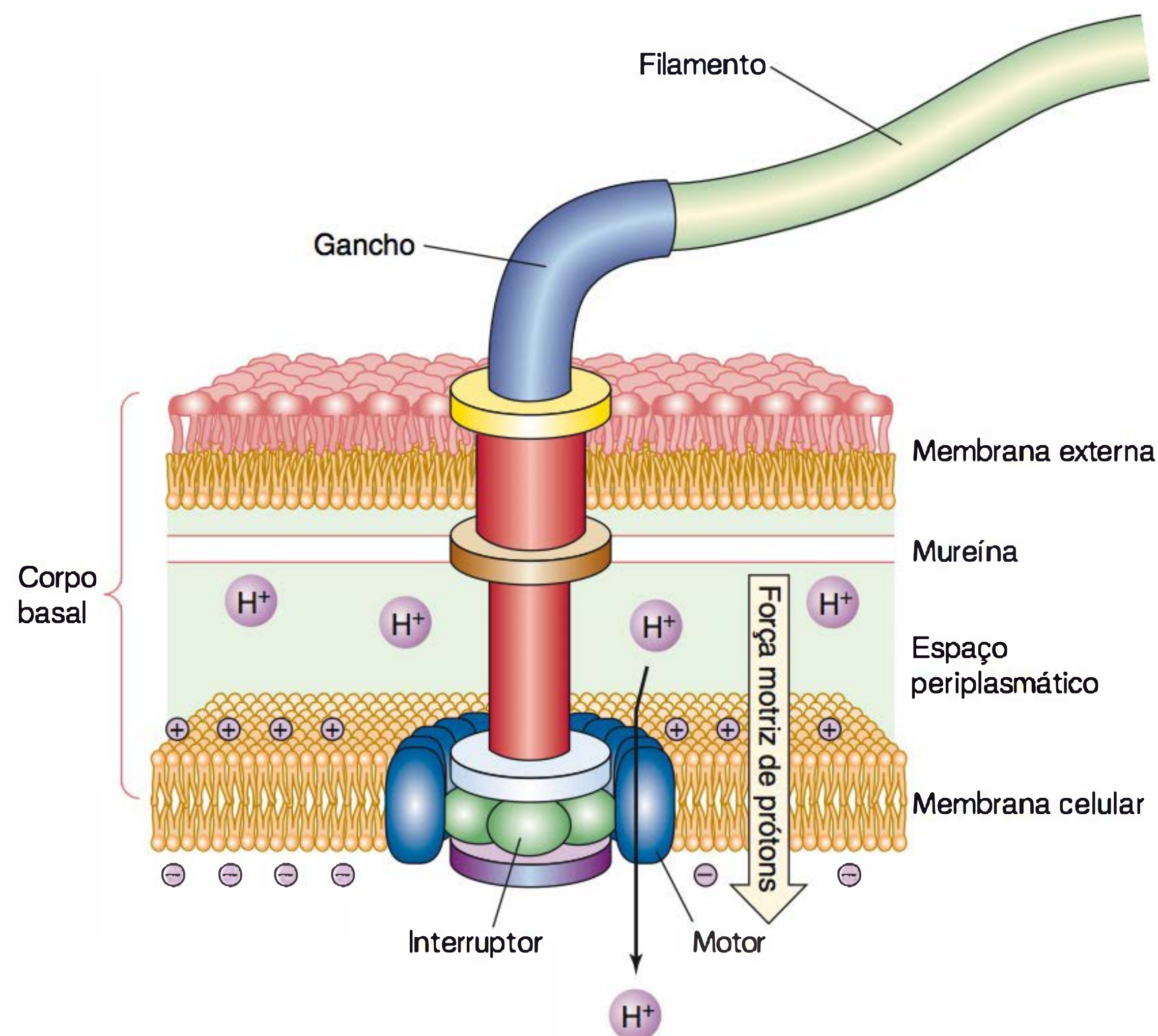


FIGURA 2.26 Componentes estruturais no interior do corpúsculo basal do flagelo que permitem a rotação da porção interna dessa estrutura, dos bastonetes do corpúsculo basal e do complexo gancho-filamento fixado. Os anéis externos permanecem estáticos em contato com as membranas celulares interna e externa, e com a parede celular (mureína), ancorando o complexo do flagelo ao envelope da célula bacteriana. A rotação é impulsionada pelo fluxo de prótons, através do motor, a partir do espaço periplasmático, fora da membrana celular, para o citoplasma em resposta ao campo elétrico e ao gradiente de prótons através da membrana, que juntos constituem a força motriz de prótons. Uma “chave” determina a direção da rotação, a qual estabelece se a bactéria irá se movimentar para a frente (devido à rotação anti-horário do flagelo) ou de modo inverso (devido à rotação do flagelo no sentido horário.) (Reproduzida, com autorização, de Saier MH Jr: Peter Mitchell and his chemiosmotic theories. *ASM News* 1997;63:13.)

Alguns compostos atuam mais como repelentes do que como atraentes. Um mecanismo pelo qual as células respondem a substâncias atraentes e repelentes envolve metilação e desmetilação mediadas por cGMP de proteínas específicas na membrana. Enquanto as substâncias atraentes provocam a inibição transitória da desmetilação dessas proteínas, as repelentes estimulam sua desmetilação.

O mecanismo pelo qual uma alteração do comportamento da célula é desencadeada em resposta a alguma mudança no meio ambiente denomina-se **transdução sensorial**. A transdução sensorial é responsável não apenas pela quimiotaxia, mas também pela **aerotaxia** (movimento em direção à concentração ideal de oxigênio), pela **fototaxia** (movimento das bactérias fotossintéticas em direção ao lúmen) e pela **taxia dos aceptores de elétrons** (movimento das bactérias respiratórias em direção aos aceptores de elétrons alternativos, como o nitrato e o fumarato). Nessas três respostas, bem como na quimiotaxia, o movimento final é determinado pela regulação da resposta de inversão do movimento.

Pili (fímbrias)

Muitas bactérias gram-negativas são dotadas de apêndices superficiais rígidos, denominados **pili** (latim; significa “pelos”) ou **fímbrias** (do latim, “franjas”), mais curtos e mais finos que os flagelos; similar aos flagelos, são compostos de subunidades proteicas estruturais denominadas **pilinas**. Alguns **pili** contêm um tipo de pilina, enquanto os outros apresentam mais de um tipo. As proteínas menores, chamadas **adesinas**, estão localizadas nas pontas dos **pili** e são responsáveis pelas propriedades de fixação. É possível distinguir duas classes: os **pili** comuns, que desempenham um papel na aderência das bactérias simbióticas e patogênicas às células hospedeiras, e os **pili** sexuais, responsáveis pela fixação das células doadoras e receptoras no processo de conjugação bacteriana (Cap. 7). Os **pili** estão ilustrados na Figura 2.27, em que os **pili** sexuais foram recobertos por partículas de fagos para os quais atuam como receptores específicos.

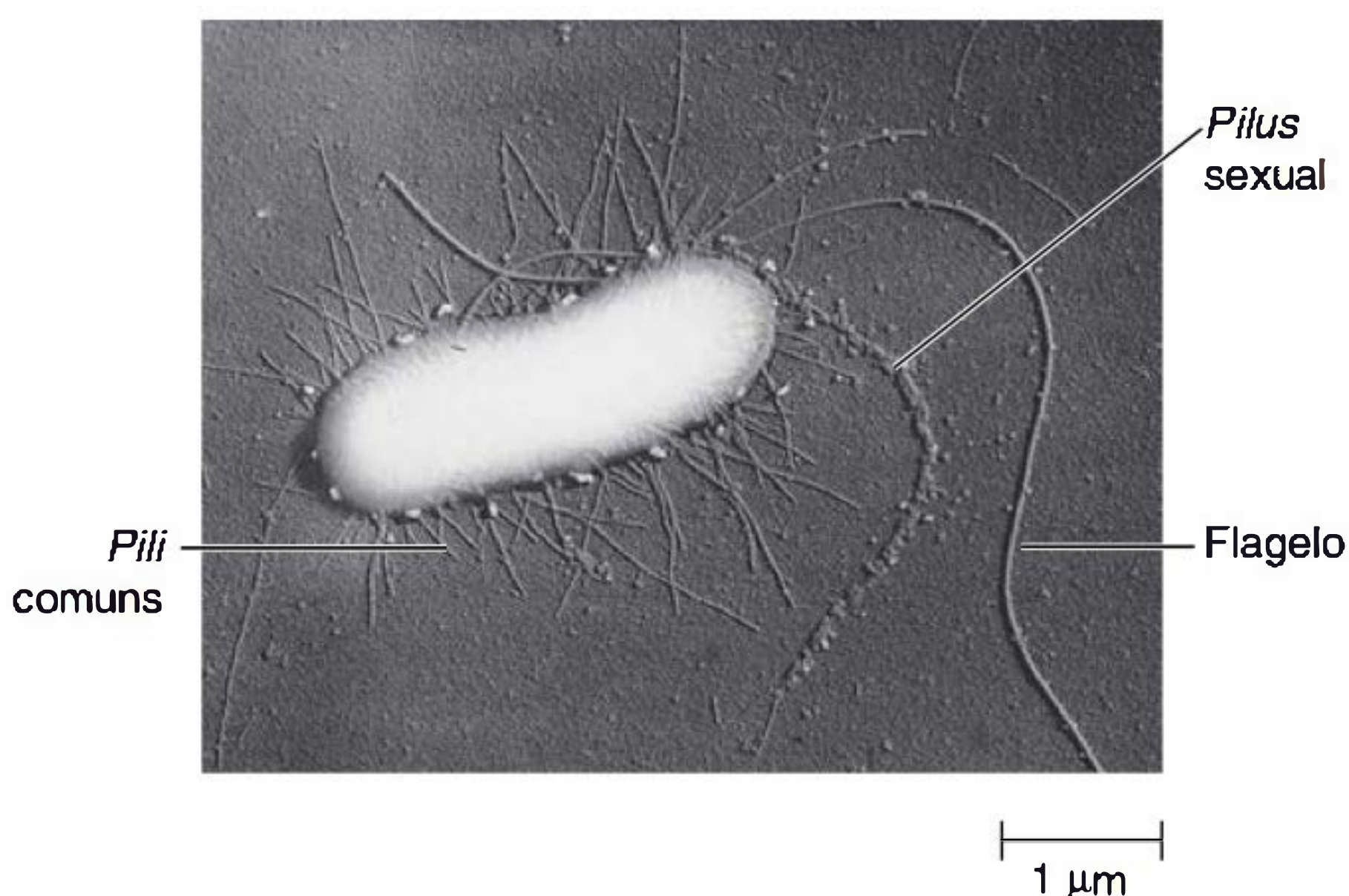


FIGURA 2.27 Pili. Uma *Escherichia coli* expressando **pili** em sua superfície. Os **pili** curtos (fímbrias) medeiam a aderência; e o **pilus** sexual está envolvido na transferência do DNA. (Cortesia do Dr. Charles Brinton Jr.)

A motilidade via **pili** é completamente diferente da motilidade por flagelos. As moléculas de pilina exibem disposição helicoidal, formando um cilindro que não sofre rotação nem possui corpúsculo basal completo. Suas extremidades aderem fortemente às superfícies distantes das células. Em seguida, os **pili** se despolimerizam de sua extremidade terminal, retraindo-se para dentro da célula. O resultado de tal manobra é que a bactéria move-se na direção da ponta aderente. Esse tipo de motilidade de superfície é chamado de **contração**, sendo amplamente empregado pelas bactérias que possuem **pili**. Diferentemente dos flagelos, os **pili** crescem do interior para o exterior da célula.

A virulência de certas bactérias patogênicas depende da produção não apenas de toxinas como também de “antígenos de colonização”, reconhecidos como **pili** comuns, que conferem às células suas propriedades de aderência. Nas cepas enteropatógenicas de *E. coli*, tanto as enterotoxinas quanto os antígenos de colonização (**pili**) são geneticamente determinados por plasmídeos transmissíveis, conforme discutido no Capítulo 7.

Em um grupo de cocos gram-positivos, os estreptococos, as fímbrias constituem o local do principal antígeno de superfície, a proteína M. O ácido lipoteicoico, associado a essas fímbrias, é responsável pela aderência dos estreptococos do grupo A às células epiteliais de seus hospedeiros.

Os **pili** de diferentes bactérias são antigenicamente distintos e desencadeiam a formação de anticorpos pelo hospedeiro. Os anticorpos contra os **pili** de uma espécie bacteriana não impedem a fixação de outra espécie. Algumas bactérias (Cap. 21), como a *N. gonorrhoeae*, são capazes de formar **pili** de diferentes tipos antigênicos (**variação antigênica**), e, por conseguinte, são ainda capazes de aderir células na presença de anticorpos contra o seu tipo original de **pili**. Assim como as cápsulas, os **pili** inibem a habilidade fagocítica dos leucócitos.

Endósporos

Os membros de vários gêneros de bactérias são capazes de formar **endósporos** (Fig. 2.28). Os dois mais comuns são bastonetes gram-positivos: o gênero *Bacillus*, aeróbio obrigatório, e o gênero *Clostridium*, anaeróbio obrigatório. As outras bactérias conhecidas por formar endósporos são a *Thermoactinomyces*, *Sporolactobacillus*, *Sporosarcina*, *Sporotomaculum*, *Sporomusa* e *Sporohalobacter* spp. Esses microrganismos sofrem um ciclo de diferenciação em resposta a condições ambientais. O processo, **esporulação**, é desencadeado próximo da depleção de algum dos diversos nutrientes (carbono, nitrogênio ou fósforo). Cada célula forma um único esporo interno, liberado quando a célula-mãe sofre autólise. O esporo é uma célula em repouso, altamente resistente à dessecação, ao calor e a agentes químicos; quando reencontra condições nutricionais favoráveis e é ativado (ver adiante), o esporo **germina**, produzindo uma única célula vegetativa.

A. Esporulação

O processo de esporulação começa quando as condições nutricionais se tornam desfavoráveis, sendo a proximidade da depleção da fonte de nitrogênio ou de carbono (ou de ambos) o fator mais significativo. A esporulação ocorre maciçamente em culturas no final de crescimento exponencial, em consequência dessa proximidade da depleção.

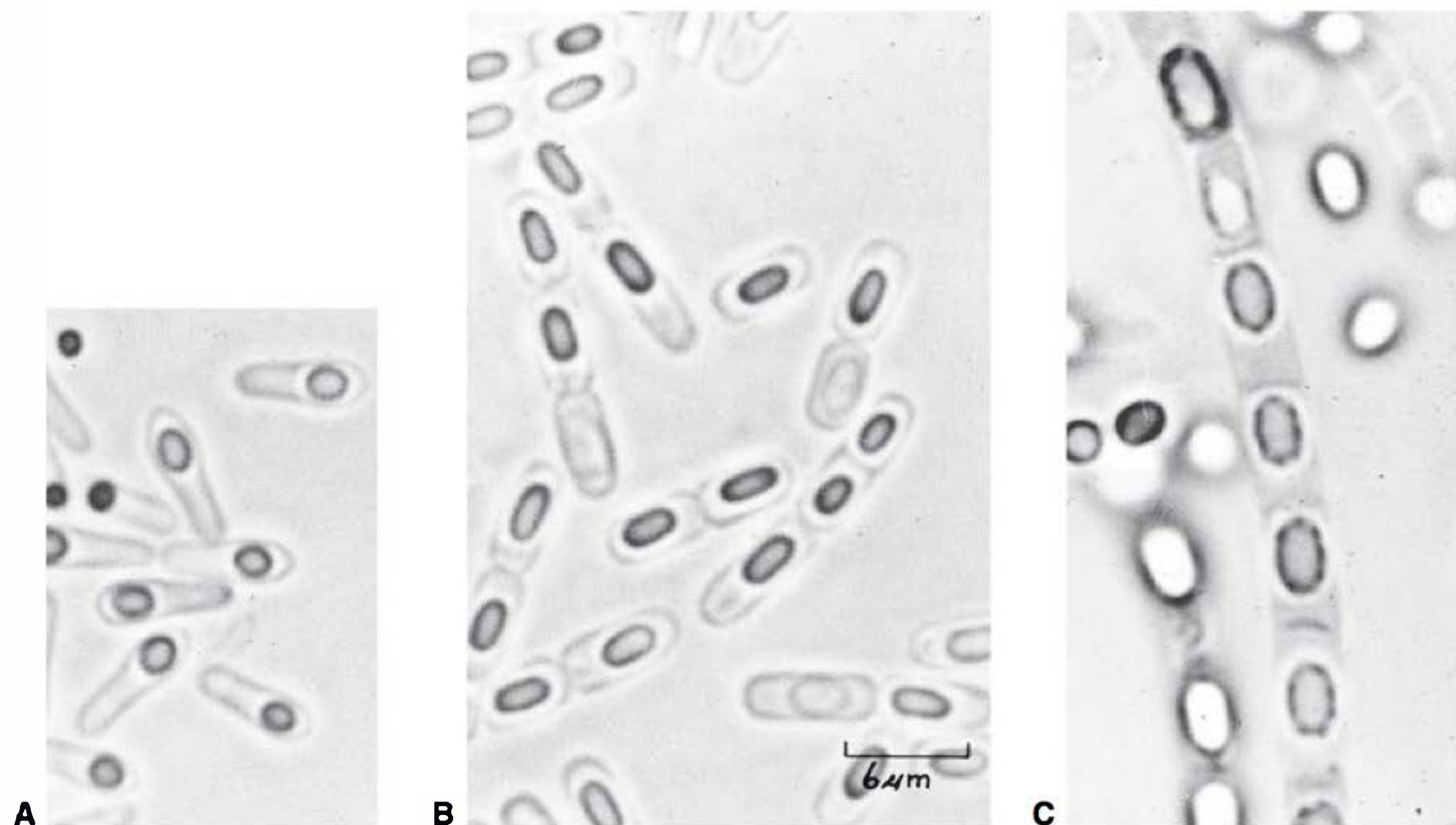


FIGURA 2.28 Células de *Bacillus* em esporulação. (A) *Bacillus* não identificado do solo. (B) *Bacillus cereus*. (C) *Bacillus megaterium*. (Reproduzida, com autorização, de Robinow CF: Structure, In Gunsalus IC, Stanier RY [editors]. *The Bacteria: A Treatise on Structure and Function*, Vol 1. Academic Press, 1960.)

A esporulação envolve a produção de muitas estruturas, enzimas e metabólitos novos, juntamente com o desaparecimento de vários componentes celulares vegetativos. Essas alterações representam um verdadeiro processo de **diferenciação**: uma série de genes, cujos produtos determinam a formação e a composição final do esporo, é ativada. Tais alterações envolvem modificações na especificidade de transcrição da RNA polimerase, determinada pela associação da proteína central da polimerase com uma ou outra proteína específica promotora, denominada **fator sigma**. São produzidos diferentes fatores sigma durante o crescimento vegetativo e a esporulação. Durante o crescimento vegetativo, um fator sigma, denominado σ^A , predomina. Em seguida, no decorrer da esporulação, cinco outros fatores sigma são formados, o que causa a expressão de vários genes de esporos em tempos diversos, em localizações específicas.

A sequência de eventos na esporulação é altamente complexa: a diferenciação de uma célula vegetativa de *B. subtilis* em endósporo requer cerca de 7 h em condições laboratoriais. São observados diferentes eventos morfológicos e químicos nos estágios sequenciais do processo. Sete estágios diferentes foram identificados.

Em termos morfológicos, a esporulação começa com a formação de um filamento axial (Fig. 2.29). O processo prossegue com a invaginação da membrana, de modo a produzir uma estrutura de membrana dupla cujas superfícies correspondem à superfície de síntese da parede celular do envelope. Os locais de crescimento movem-se progressivamente em direção ao polo da célula, de modo a envolver o esporo em desenvolvimento.

As duas membranas do esporo passam a atuar na síntese ativa de camadas especiais que irão formar o envelope celular: a **parede do esporo** e o **córtex**, situados fora das membranas. No citoplasma recém-isolado ou cerne, ocorre a degradação de muitas enzimas da célula vegetativa, substituídas por um conjunto de componentes próprios do esporo.

B. Propriedades dos endósporos

1. Cerne — o cerne é o protoplasto do esporo; contém um núcleo completo (cromossomo), todos os componentes do aparelho de síntese das proteínas e um sistema gerador de energia baseado na glicólise. Os citocromos estão ausentes até mesmo nas espécies aeróbias, cujos esporos dependem de uma via curta de transporte de elétrons que envolve as flavoproteínas. Diversas enzimas da célula vegetativa são encontradas em maiores concentrações (p. ex., alanina racemase), e verifica-se a formação de várias enzimas peculiares (p. ex., ácido dipicolínico sintetase). Os esporos contêm nucleotídeos piridina não reduzidos ou ATP. A energia para germinação é armazenada mais em forma de 3-fosfoglicerato do que em forma de ATP.

A resistência dos esporos ao calor deve-se, em parte, a seu estado desidratado e, em parte, à presença, no cerne, de grandes quantidades (5 a 15% do peso seco do esporo) de **dipicolinato de cálcio**, formado a partir de um intermediário da via de biossíntese da lisina (Fig. 6.19). De alguma maneira ainda não totalmente elucidada, essas propriedades resultam em estabilização das enzimas do esporo, cuja maioria exibe termolabilidade normal quando isolada na forma solúvel.

2. Parede do esporo — a camada mais interna que circunda a membrana interna do esporo é denominada parede do esporo; contém peptidoglicano normal e transforma-se na parede celular da célula vegetativa em germinação.

3. Córtex — o córtex é a camada mais espessa do envelope do esporo; contém um tipo incomum de peptidoglicano, com um número muito menor de ligações cruzadas em comparação com as encontradas no peptidoglicano da parede celular. O peptidoglicano do córtex é extremamente sensível à lisozima, e sua autólise desempenha um papel na germinação do esporo.

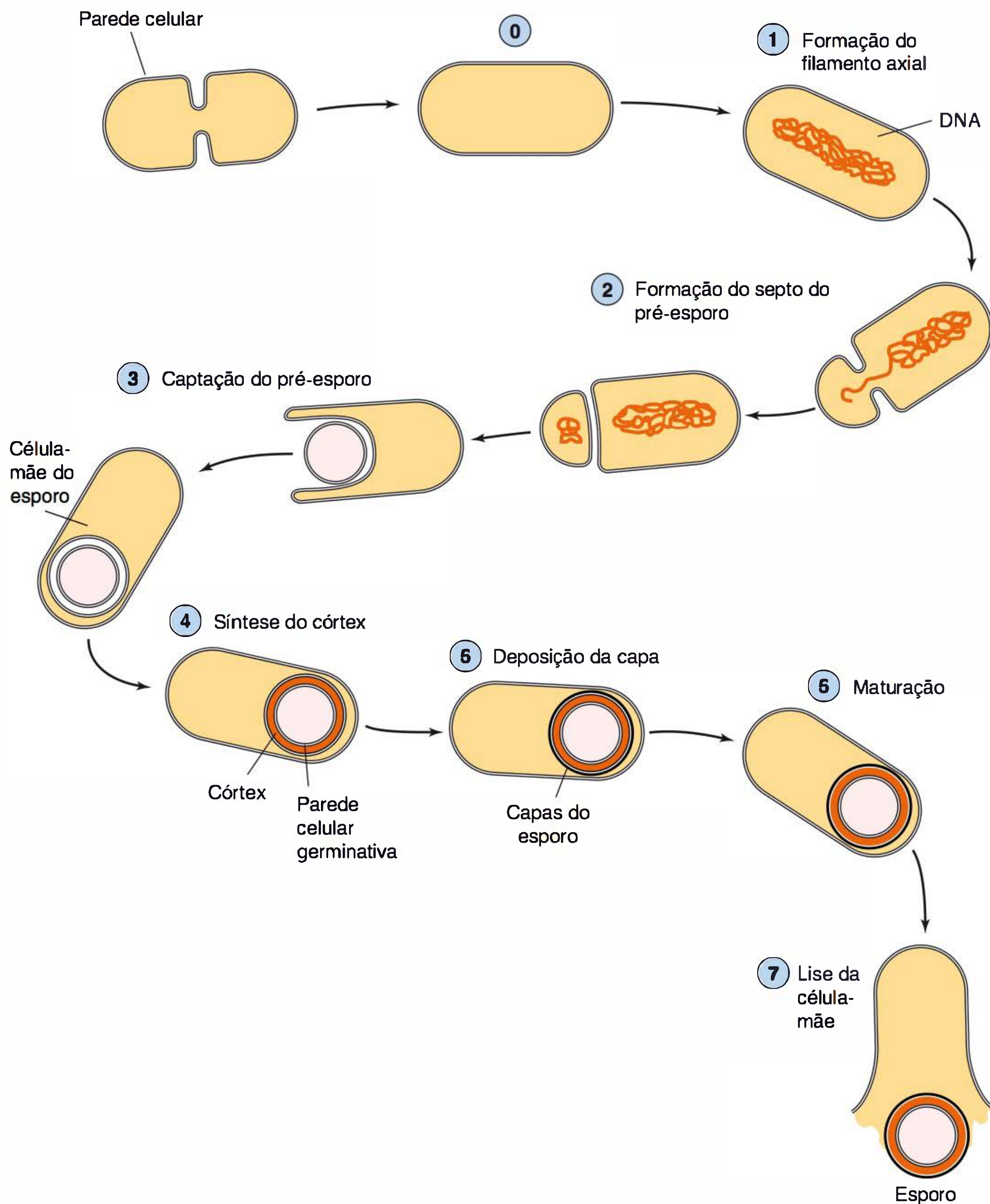


FIGURA 2.29 Estágios de formação do endósporo. (Reproduzida, com autorização, de Merrick MJ: Streptomyces. In: Parish JH [editor]. *Developmental Biology of Prokaryotes*. Univ California Press, 1979.)

4. Capa — a capa é constituída de uma proteína semelhante à ceratina, contendo muitas ligações de dissulfeto intramoleculares. A impermeabilidade dessa camada confere aos esporos sua relativa resistência aos agentes químicos antibacterianos.

5. Exósporo — o exósporo é composto por proteínas, lipídeos e carboidratos. Consiste em uma camada basal paracristalina e uma região externa semelhante ao cabelo. Não se sabe qual é a função do exósporo. Os esporos de algumas espécies de *Bacillus* (p. ex., *B. anthracis* e *B. cereus*) possuem exósporo, porém outras espécies (p. ex., *B. atrophaeus*) possuem esporos sem essa estrutura.

C. Germinação

O processo de germinação ocorre em três estágios: ativação, iniciação e crescimento.

1. Ativação — a maioria dos endósporos é incapaz de germinar imediatamente após a sua formação. Entretanto, podem germinar depois de permanecer em repouso por vários dias ou ser inicialmente ativados, em meio nutricionalmente rico, por um ou outro agente capaz de lesionar a capa do esporo. Entre os agentes que podem vencer o estado de dormência do esporo, destacam-se o calor, a abrasão, a acidez e os compostos que contêm grupos sulfidríla livres.

2. Iniciação — Após ativação, o esporo irá iniciar o processo de germinação se as condições ambientais forem favoráveis. Diferentes espécies desenvolveram receptores que reconhecem efetores distintos como sinalização de um meio propício. Assim, a iniciação é deflagrada pela L-alanina em uma espécie e pela adenosina em outra. A ligação do efector ativa uma autolisina que degrada rapidamente o peptidoglicano do córtex. Ocorre a captação de água, o dipicolinato de cálcio é liberado, e verifica-se a degradação de uma variedade de componentes do esporo por enzimas hidrolíticas.

3. Crescimento — a degradação do córtex e das camadas externas resulta no aparecimento de uma nova célula vegetativa, constituída pelo protoplasto do esporo com sua parede circundante. Segue-se um período de biossíntese ativa; esse período, que termina na divisão celular, é denominado brotamento. O brotamento exige o suprimento de todos os nutrientes essenciais para o crescimento da célula.

COLORAÇÃO

Os corantes combinam-se quimicamente com o protoplasma bacteriano; se a célula ainda não estiver morta, o próprio processo de coloração irá destruí-la. Por conseguinte, trata-se de um processo drástico, passível de produzir artefatos.

Os corantes comumente utilizados são os sais. Os **corantes básicos** consistem em um cátion dotado de cor com um ânion incolor (p. ex., azul de metileno⁺ cloreto⁻); os **corantes ácidos** comportam-se de modo inverso (p. ex., sódio⁺ eosinato⁻). As células bacterianas são ricas em ácido nucleico, apresentando cargas negativas em forma de grupos fosfato que se combinam com os corantes básicos de carga positiva. Os corantes ácidos não coram as células bacterianas e, por conseguinte, podem ser utilizados para corar o material de fundo com uma cor contrastante (ver Coloração negativa).

Os corantes básicos coram uniformemente as células bacterianas, a não ser que o RNA citoplasmático seja inicialmente destruído. Entretanto, podem-se utilizar técnicas especiais de coloração para diferenciar os flagelos, cápsulas, paredes celulares, membranas celulares, grânulos, nucleoides e esporos.

A coloração de Gram

Uma importante característica taxonômica das bactérias consiste na sua resposta à coloração de Gram. A propriedade de coloração de Gram parece fundamental, visto que a reação está correlacionada com muitas outras propriedades morfológicas em formas filogeneticamente correlatas (Cap. 3). Um microrganismo potencialmente gram-positivo pode aparecer dessa maneira apenas em determinado conjunto de condições ambientais e em uma cultura jovem.

A coloração de Gram (Cap. 47) começa com a aplicação de um corante básico, o cristal violeta. Em seguida, aplica-se uma solução de iodo; todas as bactérias coram-se em azul nessa etapa do processo. Depois, as células são tratadas com álcool. As células gram-positivas retêm o complexo cristal violeta-iodo, permanecendo azuis; as células gram-negativas são totalmente descoradas pelo álcool. Como etapa final, aplica-se um contracorante (como o corante vermelho safranina*), de modo que as

células gram-negativas descoradas adquirem uma cor contrastante; nessa etapa, as células gram-positivas exibem uma cor púrpura.

A base da reação diferencial de Gram é a estrutura da parede celular, conforme discutimos anteriormente neste capítulo.

Coloração álcool-acidorresistente

As bactérias álcool-acidorresistentes são as que retêm carbolfucsina (fucsina básica dissolvida em uma mistura de fenol-álcool-água) mesmo quando descoradas com ácido clorídrico em álcool. Um esfregaço de células em lâmina é banhado com carbolfucsina e aquecido ao vapor. Após esta etapa, procede-se à descoloração com ácido-álcool e por fim aplica-se um contracorante contrastante (azul ou verde) (Cap. 47). As bactérias álcool-acidorresistentes (micobactérias e alguns dos actinomicetos relacionados) adquirem cor vermelha, enquanto as outras apresentam a cor do contracorante.

Coloração negativa

É um procedimento que envolve a coloração do material de fundo com um corante ácido, deixando as células incolores. O corante negro nigrosina é comumente utilizado. Esse método é empregado para as células ou estruturas que são difíceis de serem coradas diretamente (Fig. 2.23B).

Coloração dos flagelos

Os flagelos são demasiado finos (12 a 30 nm de diâmetro) para serem visíveis ao microscópio óptico. Entretanto, sua presença e sua distribuição podem ser demonstradas ao se tratarem as células com uma suspensão coloidal instável de sais de ácido tânico, provocando a formação de um precipitado maciço sobre

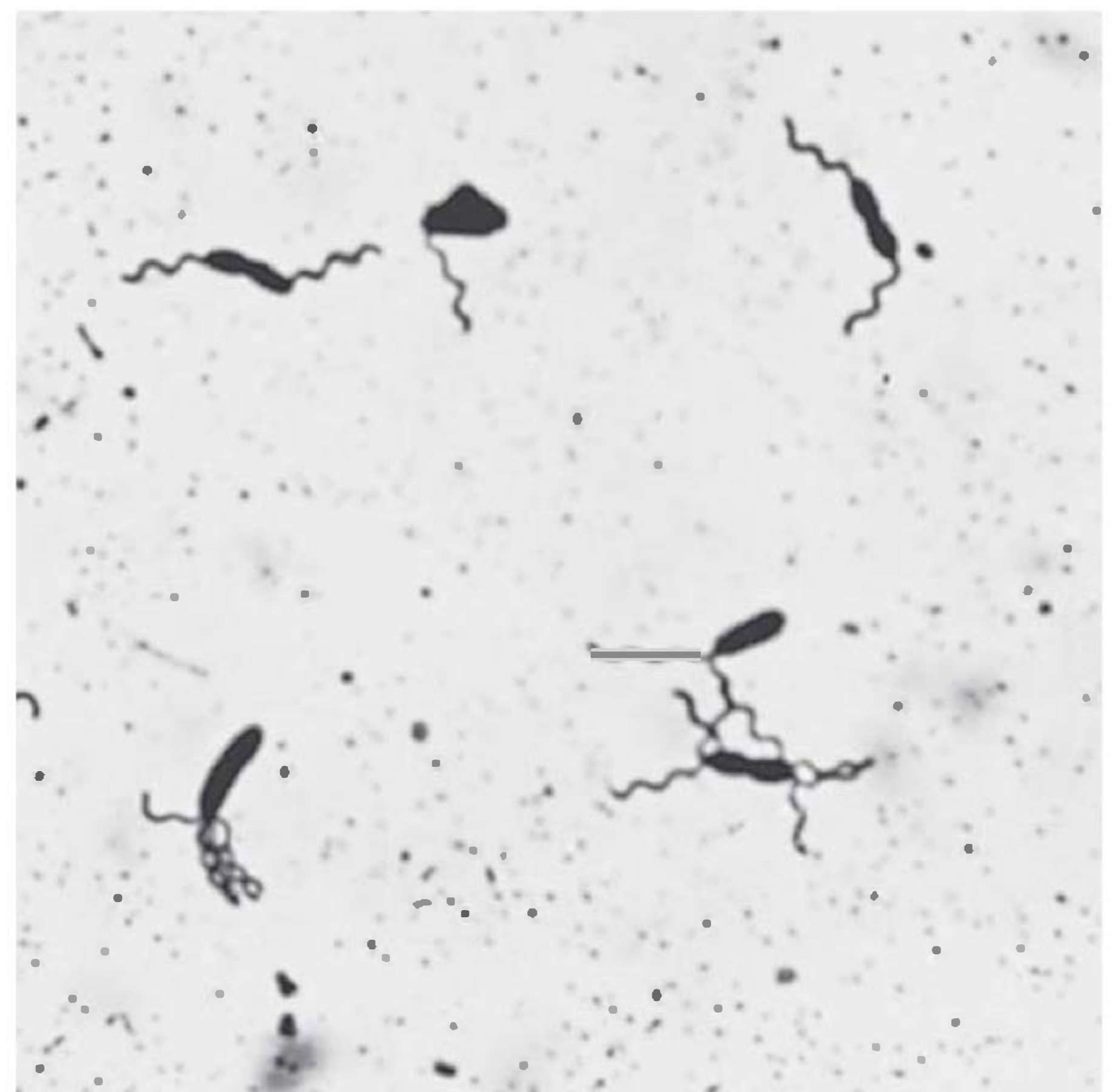


FIGURA 2.30 Coloração para flagelos de espécies *Pseudomonas*. (Reproduzida, com autorização, de Leifson E: *J Bacteriol* 1951;62:377.)

* N. de R.T. A fucsina também pode ser utilizada como contracorante no lugar da safranina.

as paredes celulares e os flagelos. Dessa maneira, o diâmetro aparente dos flagelos aumenta, de modo que a coloração subsequente com fucsina básica irá torná-los visíveis ao microscópio óptico. A Figura 2.30 mostra células coradas por esse método.

Nas bactérias peritríquias, os flagelos formam feixes durante o movimento, podendo ser espessos o suficiente para serem observados em células vivas à microscopia de campo escuro ou de contraste de fase.

Coloração da cápsula

Em geral, as cápsulas são evidenciadas pelo processo de coloração negativa ou por uma modificação desta (Fig. 2.23). Um desses “corantes de cápsula” (método de Welch) envolve o tratamento com solução quente de cristal violeta, seguido de lavagem com solução de sulfato de cobre, utilizada para remover o excesso do corante, pois a lavagem convencional com água dissolveria a cápsula. O sal de cobre também cora o fundo, resultando em uma célula e fundo de cor azul-escura, enquanto a cápsula aparece em azul bem mais claro.

Coloração dos nucleoides

Os nucleoides podem ser corados pelo corante de Feulgen, específico do DNA (Fig. 2.5).

Coloração dos esporos

Os esporos são observados mais simplesmente em forma de corpúsculos intracelulares refráteis (Fig. 2.28) em suspensões de células não coradas ou como áreas incolores em células coradas por métodos convencionais. A parede do esporo é relativamente impermeável, porém os corantes podem atravessá-la mediante o aquecimento da preparação. Em seguida, a mesma impermeabilidade serve para evitar a descoloração do esporo pelo tratamento com álcool, suficiente para descorar as células vegetativas, que podem ser finalmente contracoradas. Comumente, os esporos são corados com verde de malaquita ou carbolfucsina (Fig. 2.31).

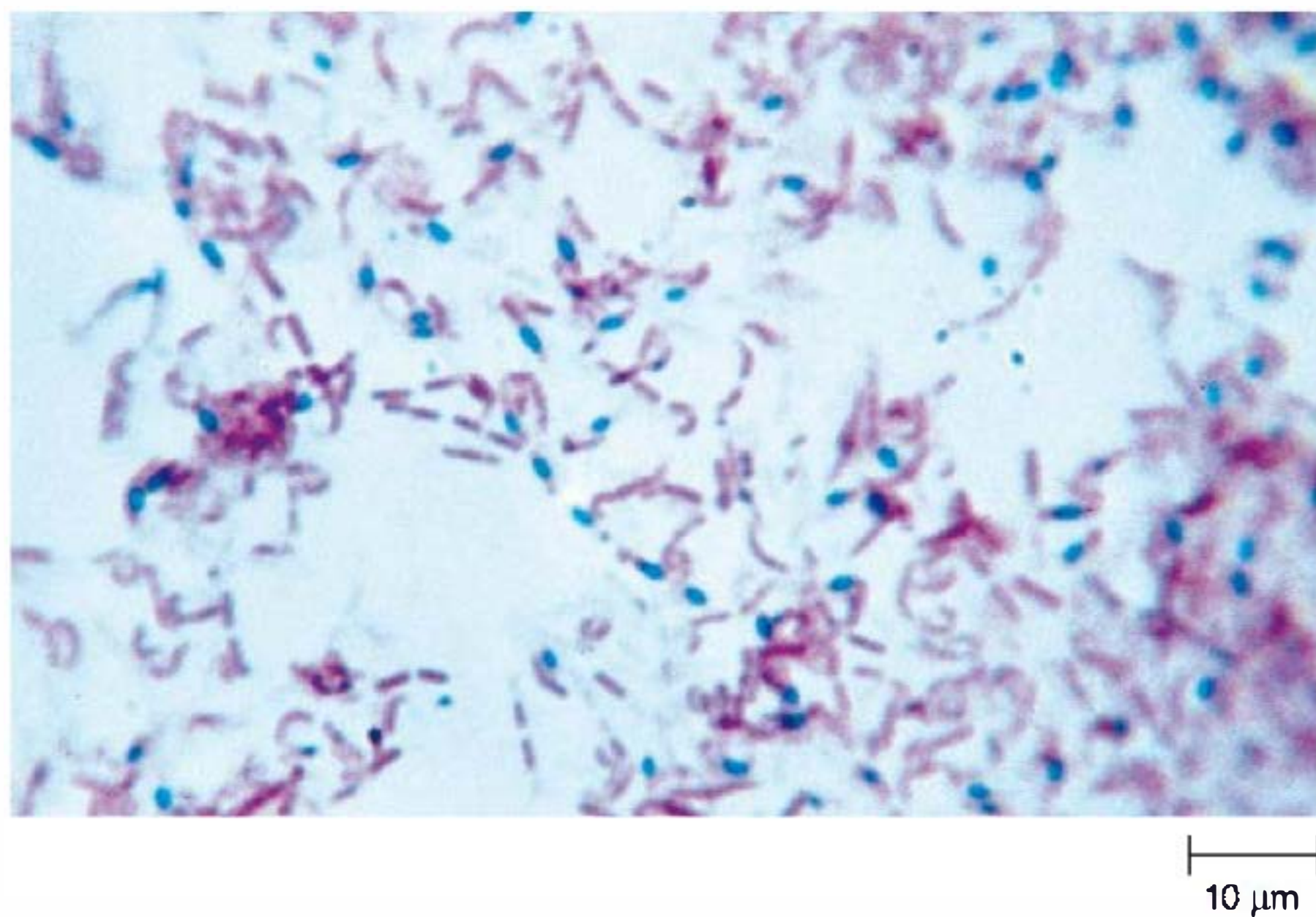


FIGURA 2.31 Coloração para endósporo. Os endósporos retêm o corante primário, verde de malaquita. Contracoloração com safranina confere uma coloração avermelhada a outras células. (© Jack M. Bostrack/Visuals Unlimited.)

ALTERAÇÕES MORFOLÓGICAS DURANTE O CRESCIMENTO

Divisão celular

A maior parte das bactérias se divide, por **fissão binária**, em duas novas células-filhas idênticas. Em uma cultura em crescimento de um bacilo, como *E. coli*, as células alongam-se, formando uma partição que por fim separa a célula em duas células-filhas. A partição é referida como um **septo**, e é o resultado do crescimento interno da membrana citoplasmática e da parede celular em direções opostas até que as duas células-filhas sejam separadas. Os cromossomos, cujo número duplicou antes da divisão, distribuem-se igualmente para as duas células-filhas.

Embora as bactérias não tenham fuso mitótico, o septo é formado de modo a separar os dois cromossomos-filhos formados por replicação dos cromossomos, processo efetuado pela fixação do cromossomo à membrana celular. De acordo com o modelo, o término de um ciclo de replicação do DNA deflagra a síntese ativa da membrana entre os locais de fixação dos dois cromossomos-filhos. Os cromossomos são então separados pelo crescimento interno do septo, indo uma cópia para cada célula-filha.

Agrupamentos celulares

Se as células permanecerem temporariamente ligadas após a divisão, verificar-se-á o aparecimento de certos agrupamentos característicos. Dependendo do plano de divisão e do número de divisões durante as quais as células permanecem ligadas, pode ocorrer a seguinte disposição em forma de cocos: cadeias (estreptococos), pares (diplococos), feixes cúbicos (sarcinas) ou placas achatadas. Os bastonetes podem formar pares ou cadeias.

Após a divisão de algumas bactérias, são observados movimentos pós-fissão característicos. Assim, por exemplo, um movimento “em chicote” pode colocar as células em posições paralelas; a divisão repetida e o movimento em chicote resultam no arranjo em “paliçada” típico dos bacilos diftéricos.

RESUMO DO CAPÍTULO

- A microscopia tem desempenhado um papel importante na nossa compreensão sobre as estruturas celulares.
- As células eucarióticas são caracterizadas pela presença de membrana nuclear, retículo endoplasmático, ribossomos 80S e plastídeos (mitocôndrias e cloroplastos). A membrana plasmática é caracterizada pela presença de esteroides (colesterol). Enquanto as células procarióticas não apresentam membrana nuclear e são haploides. Seu citoplasma contém ribossomos 70S e não possuem mitocôndria e cloroplastos.
- As principais funções da membrana citoplasmática das células procarióticas são (1) permeabilidade seletiva e transporte de solutos (2) em espécies aeróbias, atua no transporte de elétrons e na fosforilação oxidativa (3) excreção de enzimas hidrolíticas e de outras proteínas (4) atua como local das enzimas e moléculas carregadoras que participam na biossíntese do DNA, de polímeros da parede celular e de lipídeos de membrana; e (5) local dos receptores e de

proteínas quimiotáticos além de outros sistemas de transdução sensorial.

- A maioria das bactérias é classificada em gram-positiva ou gram-negativa baseado na resposta à coloração de Gram. A classificação dos dois grupos reflete diferenças fundamentais na composição de suas paredes celulares.
- A parede das bactérias gram-positivas consiste em uma membrana plasmática e uma espessa camada de peptidoglicano; a parede celular das bactérias gram-negativas é composta de membrana plasmática, de uma delgada camada de peptidoglicano e uma membrana externa contendo lipopolissacarídeo (entotoxina). O espaço entre a membrana plasmática e a membrana externa é denominado espaço periplásmico.
- Muitas bactérias sintetizam uma grande quantidade de polímeros extracelulares. Quando este polímero forma uma camada condensada e bem definida ao redor da célula bacteriana, que exclui partículas como a tinta da Índia, é denominado cápsula. As cápsulas são importantes fatores de virulência protegendo a célula bacteriana da fagocitose.
- As estruturas de superfície celular como *pili* e flagelos são importantes para a aderência e motilidade, respectivamente.
- A formação de endósporo é uma característica dos gêneros *Bacillus* e *Clostridium*, sendo desencadeada pela falta de nutrientes no ambiente. O endósporo (esporos) são células quiescentes, extremamente resistentes à dessecação, ao calor e a agentes químicos. Quando as condições nutricionais favoráveis retornam, os esporos germinam e produzem a célula vegetativa.

QUESTÕES DE REVISÃO

- Um homem de 22 anos apresenta-se com úlcera indolor de 1 cm no corpo do pênis. Observa-se a presença de linfadenopatia inguinal. O paciente admite negociar drogas por sexo e que teve diversas parceiras sexuais. O teste RPR deu positivo e suspeita-se de sífilis; entretanto, a coloração de Gram de uma amostra retirada da úlcera não mostrou a presença de bactérias. O *Treponema pallidum*, o agente causador da sífilis, não pode ser visualizado por microscopia óptica, pois
 - É transparente
 - Não pode ser corado por corantes comuns
 - Possui um diâmetro menor que 0,2 μm
 - O comprimento de onda da luz branca é muito longo
 - O rápido movimento do organismo impede a visualização
- O cloranfenicol, um antibiótico que inibe a síntese proteica bacteriana, também afeta qual das seguintes organelas eucarióticas?
 - Mitocôndria
 - Complexo de Golgi
 - Microtúbulos
 - Retículo endoplasmático
 - Membrana nuclear
- Qual das seguintes estruturas não é parte do envelope celular bacteriano?
 - Peptidoglicano
 - Lipopolissacarídeo
 - Cápsula
 - Vacúolo gasoso
 - Camada S
- Qual dos seguintes mecanismos de transporte funciona sem necessidade de energia?
 - Ligação dependente de proteína
 - Translocação de grupo
 - Simporte
 - Uniporte
 - Difusão facilitada
- Qual dos seguintes componentes está presente nas bactérias gram-negativas mas não nas gram-positivas?
 - Peptidoglicano
 - Lipídeo A
 - Cápsula
 - Flagelos
 - Pili*
- Qual dos seguintes componentes está presente em bactérias gram-positivas mas não nas gram-negativas?
 - Peptidoglicano
 - Cápsula
 - Flagelos
 - Ácido teicoico
 - Ácido diaminopimélico
- No outono de 2001, uma série de cartas que continham esporos do *Bacillus anthracis* foram postadas para membros da mídia e do Senado dos EUA. O resultado foram 22 casos de antraz, com cinco mortes. A resistência ao aquecimento dos esporos bacterianos, tais como os do *B. anthracis*, deve-se, em parte, ao seu estado de desidratação e, em parte, à presença de grandes quantidades de:
 - Ácido diaminopimélico
 - Ácido d-glutâmico
 - Dipicolinato de cálcio
 - Proteínas que contêm sulfidril
 - Lipídeo A
- Qual dos seguintes termos não descreve o cromossomo bacteriano?
 - Haploide
 - Diploide
 - Circular
 - Nucleoide
 - Feulgen positivo
- A lisozima cliva as ligações $\beta 1 \rightarrow 4$ entre:
 - D-alanina e ponte pentaglicídica
 - Ácido N-acetilmurâmico e D-alanina
 - Lipídeo A e KDO
 - Ácido N-acetilmurâmico e N-acetilglicosamina
 - D-alanina e D-alanina
- As espécies de *Mycoplasma* não apresentam os seguintes componentes:
 - Ribossomos
 - Membrana plasmática
 - DNA e RNA
 - Lipídeos
 - Peptidoglicano

Respostas

- | | | | |
|------|------|------|-------|
| 1. C | 4. E | 7. C | 10. E |
| 2. A | 5. B | 8. B | |
| 3. D | 6. D | 9. D | |

REFERÊNCIAS

- Balows A et al. (editors): *The Prokaryotes, A Handbook on the Biology of Bacteria: Ecophysiology, Isolation, Identification, Applications*, 2nd ed, 4 vols. Springer, 1992.
- Barreteau H, Kovac A, Boniface A, Sova M, Gobec S, Blanot D: Cytoplasmic steps of peptidoglycan biosynthesis. *FEMS Microbiol Rev* 2008;32:168.
- Barton LL: *Structural and Functional Relationships in Prokaryotes*. Springer, 2005.
- Bermudes D, Hinkle G, Margulis L: Do prokaryotes contain microtubules? *Microbiol Rev* 1994;58:387.
- Blair DF: How bacteria sense and swim. *Annu Rev Microbiol* 1995; 49:489.
- Craig L, Pique ME, Tainer JA: Type IV pilus structure and bacterial pathogenicity. *Nat Rev Microbiol* 2004;2:363.
- Dautin N, Bernstein HD: Protein secretion in gram-negative bacteria via the autotransporter pathway. *Annu Rev Microbiol* 2007;61:89.
- Drlica K, Riley M (editors): *The Bacterial Chromosome*. American Society for Microbiology, 1990.
- Economou A, Christie PJ, Fernandez RC, Palmer T, Plano GV, Pugsley AP: Secretion by the numbers: Protein traffic in prokaryotes. *Mol Microbiol* 2006;62:308.
- Henriques AO, Moran CP Jr: Structure, assembly, and function of the spore surface layers. *Annu Rev Microbiol* 2007;61:555.
- Hinnebusch J, Tilly K: Linear plasmids and chromosomes in bacteria. *Mol Microbiol* 1993;10:917.
- Hueck CJ: Type III protein secretion systems in bacterial pathogens of animals and plants. *Microbiol Mol Biol Rev* 1998;62:379.
- Leiman PG et al.: Type VI secretion apparatus and phage tail-associated protein complexes share a common evolutionary origin. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2009;106:4154.
- Liu J, Barry CE III, Besra GS, Nikaido H: Mycolic acid structure determines the fluidity of the mycobacterial cell wall. *J Biol Chem* 1996;271:29545.
- Messner P et al.: III. Biochemistry of S-layers. *FEMS Microbiol Rev* 1997;20:25.
- Moat AG, Foster JW: *Microbial Physiology*, 3rd ed. Wiley-Liss, 1995.
- Naronging N: Morphogenesis of *Escherichia coli*. *Microbiol Mol Biol Rev* 1998;62:110.
- Neuhaus FC, Baddiley J: A continuum of anionic charge: Structures and functions of D-alanyl-teichoic acids in gram-positive bacteria. *Microbiol Mol Biol Rev* 2003;67:686.
- Nikaido H: Molecular basis of bacterial outer membrane permeability revisited. *Microbiol Mol Biol Rev* 2003;67:593.
- Rachel R et al.: Fine structure of S-layers. *FEMS Microbiol Rev* 1997; 20:13.
- Sauvage E, Kerff F, Terrak M, Ayala JA, Charlier P: The penicillin-binding proteins: Structure and role in peptidoglycan biosynthesis. *FEMS Microbiol Rev* 2008;32:234.
- Schaechter M, Ingraham JL, Neidhardt FC: *Microbe*. American Society for Microbiology, 2006.
- Scheffers DJ, Pinho MG: Bacterial cell wall synthesis: New insights from localization studies. *Microbiol Mol Biol Rev* 2005;69:585.
- Schirmer T: General and specific porins from bacterial outer membranes. *J Struct Biol* 1998;121:101. [PMID: 9615433]
- Scott JR, Barnett TC: Surface proteins of gram-positive bacteria and how they get there. *Annu Rev Microbiol* 2006;60:397.
- Sonenshein AL, Hoch JA, Losick R: *Bacillus subtilis and Its Closest Relatives*. American Society for Microbiology, 2002.
- Vaara M: Agents that increase the permeability of the outer membrane. *Microbiol Rev* 1992;56:395.
- Vollmer W, Blanot D, de Pedro MA: Peptidoglycan structure and architecture. *FEMS Microbiol Rev* 2008;32:149.
- Walsby AE: Gas vesicles. *Microbiol Rev* 1994;58:94.
- Whittaker CJ, Klier CM, Kolenbrander PE: Mechanisms of adhesion by oral bacteria. *Annu Rev Microbiol* 1996;50:513.

Classificação das bactérias

TAXONOMIA — O VOCABULÁRIO DA MICROBIOLOGIA MÉDICA

Uma olhada no sumário deste livro é suficiente para apreciarmos a diversidade dos patógenos clínicos que estão associados às doenças infecciosas. Estima-se que atualmente temos capacidade para identificar menos de 10% dos patógenos responsáveis por causarem doenças no homem, devido à nossa incapacidade de cultivar ou identificar esses microrganismos utilizando sondas moleculares. No entanto, a diversidade dos patógenos identificáveis é tão grande que é importante conhecermos as sutis diferenças associadas a esses agentes infecciosos. A explicação para a importância de se compreender essas sutilezas é que cada agente infeccioso é especificamente adaptado a um ou mais modos de transmissão, mecanismos para infectar hospedeiros humanos (colonização) e mecanismos para causar doença (patologia). Como tal, um vocabulário que comunique de modo consistente as características únicas dos agentes infecciosos para estudantes, microbiologistas e agentes de saúde é crucial para evitar o caos que poderia ocorrer sem as restrições organizacionais da **taxonomia** bacteriana (do Grego *taxon* = arrumação, organização; por exemplo, a classificação de microrganismos em um sistema ordenado, indicando uma relação natural).

A **classificação**, a **nomenclatura** e a **identificação** constituem três áreas distintas, porém inter-relacionadas da taxonomia. A **classificação** pode ser definida como a categorização de microrganismos em grupos taxonômicos. A classificação de bactérias exige um conhecimento adquirido por meio de técnicas experimentais e de observação, devido à frequente necessidade de se recorrer a propriedades bioquímicas, fisiológicas, genéticas e morfológicas para efetuar uma descrição adequada de um táxon. **Nomenclatura** refere-se à designação de um organismo segundo regras internacionais (estabelecidas por um grupo de profissionais clínicos reconhecidos), de acordo com suas características. A **identificação** é o uso prático de um esquema de classificação para: (1) isolar e distinguir microrganismos desejáveis de outros indesejáveis; (2) verificar a autenticidade ou as propriedades especiais de determinada cultura, (3) isolar e identificar o agente etiológico de determinada doença. A última função pode levar à seleção de um tratamento farmacológico orientado para a erradicação do agente, de uma vacina que atenuie sua patologia, ou de uma medida de saúde pública (p. ex., lavagem de mãos ou uso de preservativo) que previna sua transmissão.

Os esquemas de identificação não são esquemas de classificação, embora possam ter alguma semelhança superficial. Um esquema de identificação para um grupo de microrganismos só é possível após a classificação inicial desse grupo, isto é, o reconhecimento de que tais microrganismos são diferentes de outros microrganismos. Por exemplo, a literatura popular tem relatado que *Escherichia coli* é a causa da síndrome urêmica-hemolítica (SHU) em crianças. Existem centenas de diferentes cepas que são classificadas como *E. coli*, mas poucas delas estão associadas a SHU. Estas cepas podem ser diferenciadas de muitas outras cepas de *E. coli* pela reatividade com anticorpos de seus antígenos O e H, como foi descrito no Capítulo 2 (p. ex., *E. coli* O157:H7). A taxonomia, e a nomenclatura que a acompanha, é uma ciência imprecisa e em evolução. Assim como nosso vocabulário social evolui, o mesmo ocorre com o vocabulário da microbiologia clínica. Qualquer profissional identificado com doenças infecciosas deve estar ciente da taxonomia evolutiva dos microrganismos infecciosos.

As categorias formam a base da organização das bactérias. A taxonomia de Lineu é o sistema mais conhecido dos biólogos. Ela emprega as categorias taxonômicas formais de reino, filo, classe, ordem, família, gênero e espécie. As menores categorias são aprovadas por um consenso de especialistas na comunidade científica (Quadro 3.1). Dessas categorias, a família, o gênero e a espécie são os mais úteis.

QUADRO 3.1 Categorias taxonômicas

Categoria formal	Exemplo
Reino	Prokaryotae (Eubacteria)
Divisão	Gracilicutes
Classe	Escotobacteria
Ordem	Eubacteriales
Família	Enterobacteriaceae
Gênero	<i>Escherichia</i>
Espécie	<i>coli</i>
Subtipo	<i>Escherichia coli</i> O157:H7

CRITÉRIOS PARA A CLASSIFICAÇÃO DAS BACTÉRIAS

Crescimento em meio de cultura

Os critérios apropriados à classificação das bactérias incluem muitas das propriedades descritas no capítulo anterior. Um desses critérios é o crescimento em meios bacteriológicos. Ao contrário de vírus e de parasitos, muitos patógenos bacterianos podem ser isolados em meios sólidos que contenham ágar. O cultivo geral da maior parte das bactérias requer meio enriquecido em nutrientes metabólicos. Esses meios geralmente incluem ágar, uma fonte de carbono e um ácido hidrolisado ou enzimaticamente degradado de uma fonte de material biológico (p. ex., caseína). Devido à composição indefinida deste último, esses tipos de meio são conhecidos como **meios complexos**.

Amostras clínicas de locais normalmente não estéreis (p. ex., a garganta ou o colo) contêm múltiplas espécies de microrganismos, inclusive potenciais patógenos da microbiota residente. Os meios podem ser **não seletivos** ou **seletivos** e são usados para a distinção entre várias bactérias em uma amostra clínica que contenha muitos microrganismos diferentes.

A. Meios não seletivos

O ágar-sangue e o ágar-chocolate são exemplos de meios complexos, não seletivos, que sustentam o crescimento de diferentes bactérias. Esses meios são destinados ao isolamento de diferentes espécies tantas quanto possíveis, produzindo inúmeras colônias bacterianas.

B. Meios seletivos

Devido à diversidade de microrganismos que residem em alguns locais de obtenção de amostras (p. ex., a pele, e os tratos intestinal, respiratório e vaginal), os meios seletivos são empregados para eliminar (ou reduzir) um grande número de bactérias contaminantes nessas amostras. A base para um meio seletivo é a incorporação de um agente que iniba especificamente o crescimento de bactérias contaminantes. Exemplos desses agentes são:

- Azida sódica — seleciona bactérias gram-positivas sobre gram-negativas
- Sais biliares (desoxicolato de sódio) — seleciona bactérias gram-negativas entéricas e inibe bactérias gram-negativas de mucosas e a maioria das bactérias gram-positivas
- Colistina e ácido nalidíxico — inibem o crescimento de muitas bactérias gram-negativas

Exemplos de meios seletivos são o ágar de MacConkey (contém bile), que seleciona enterobactérias, e o ágar-sangue CNA (contém colistina e ácido nalidíxico), que seleciona estafilococos e estreptococos.

C. Meios diferenciais

Em cultura, algumas bactérias produzem pigmentos característicos e outros que podem ser diferenciados com base na expressão de enzimas extracelulares. A atividade dessas enzimas pode ser detectada como zonas claras circundando colônias crescidas na presença de substratos insolúveis (p. ex., zonas de **hemólise** em ágar que contenha hemácias). Muitas enterobactérias podem ser diferenciadas com base em sua capacidade de

metabolizar a lactose. Por exemplo, enquanto salmonelas e *Shigelas* patogênicas não fermentam lactose, em placas de ágar de MacConkey, formam colônias transparentes, enquanto outras espécies de enterobactérias fermentadoras de lactose (p. ex., *E. coli*) formam colônias rosas ou vermelhas. O número de meios diferenciais empregados atualmente em laboratórios clínicos está fora do escopo deste capítulo. No entanto, deve-se notar que a identificação bioquímica é uma importante maneira de classificar patógenos microbianos.

Microscopia bacteriana

Historicamente, a coloração de Gram, junto com a visualização em microscopia óptica, está entre os métodos mais informativos para a classificação das eubactérias. Essa técnica de coloração amplamente divide as bactérias com base em suas diferenças fundamentais na estrutura de suas paredes celulares (Cap. 2). Em geral, é a primeira etapa na identificação individual de um espécime bacteriano (p. ex., eles são gram-negativos ou gram-positivos?) crescido em um meio de cultura ou até diretamente de um material clínico do paciente (p. ex., urina)

Testes bioquímicos

Provas como o **teste da oxidase**, que usa um aceptor de elétrons artificial, podem ser usadas para distinção de organismos com base na presença ou ausência de uma enzima respiratória, o citocromo C, cuja falta diferencia as enterobactérias de outros bacilos gram-negativos. De modo similar, a atividade da **catalase** pode ser usada, por exemplo, para a diferenciação entre cocos gram-positivos, as espécies de estafilococos são catalase positivas enquanto as espécies de estreptococos são catalase negativas. Se o microrganismo for identificado como catalase positivo (*Staphylococcus* spp.), o teste da coagulase pode identificá-lo como *Staphylococcus aureus* (coagulase positivo) ou *Staphylococcus epidermidis* (coagulase negativo)*, como demonstrado na Figura 3.1. Em última análise, existem muitos exemplos de testes bioquímicos que podem determinar a presença de funções metabólicas características e ser empregados para agrupar bactérias em um **táxon** específico. Uma pequena lista dos testes bioquímicos mais comuns está descrita no Quadro 3.2.

Testes imunológicos — sorotipos, sorogrupos e sorovares

A designação “sero/soro” simplesmente indica o uso de anticorpos (policlonais ou monoclonais) que reagem com uma estrutura específica da superfície bacteriana, como lipopolissacarídeos (LPS), flagelos ou antígenos capsulares. Os termos “sorotipo”, “sorogrupos” e “sorovares” são, para finalidades práticas, idênticos — todos utilizam a especificidade desses anticorpos para subdividir cepas de uma determinada espécie bacteriana. Como descrito anteriormente, na correlação entre *E. coli* O157:H7 e a SHU.

* N. de R.T. Na realidade a prova da coagulase somente diferencia *S. aureus* (coagulase positivo) de um grupo heterogêneo de estafilococos denominados de coagulase negativos — CoNS, que inclui, entre outros: *S. epidermidis*, *S. saprophyticus* e *S. lugdunensis*. Para identificação correta de *S. epidermidis* é necessária uma complexa bateria de testes bioquímicos incluindo, por exemplo, produção de fosfatase, produção de acetoina, produção de urease, entre outros.

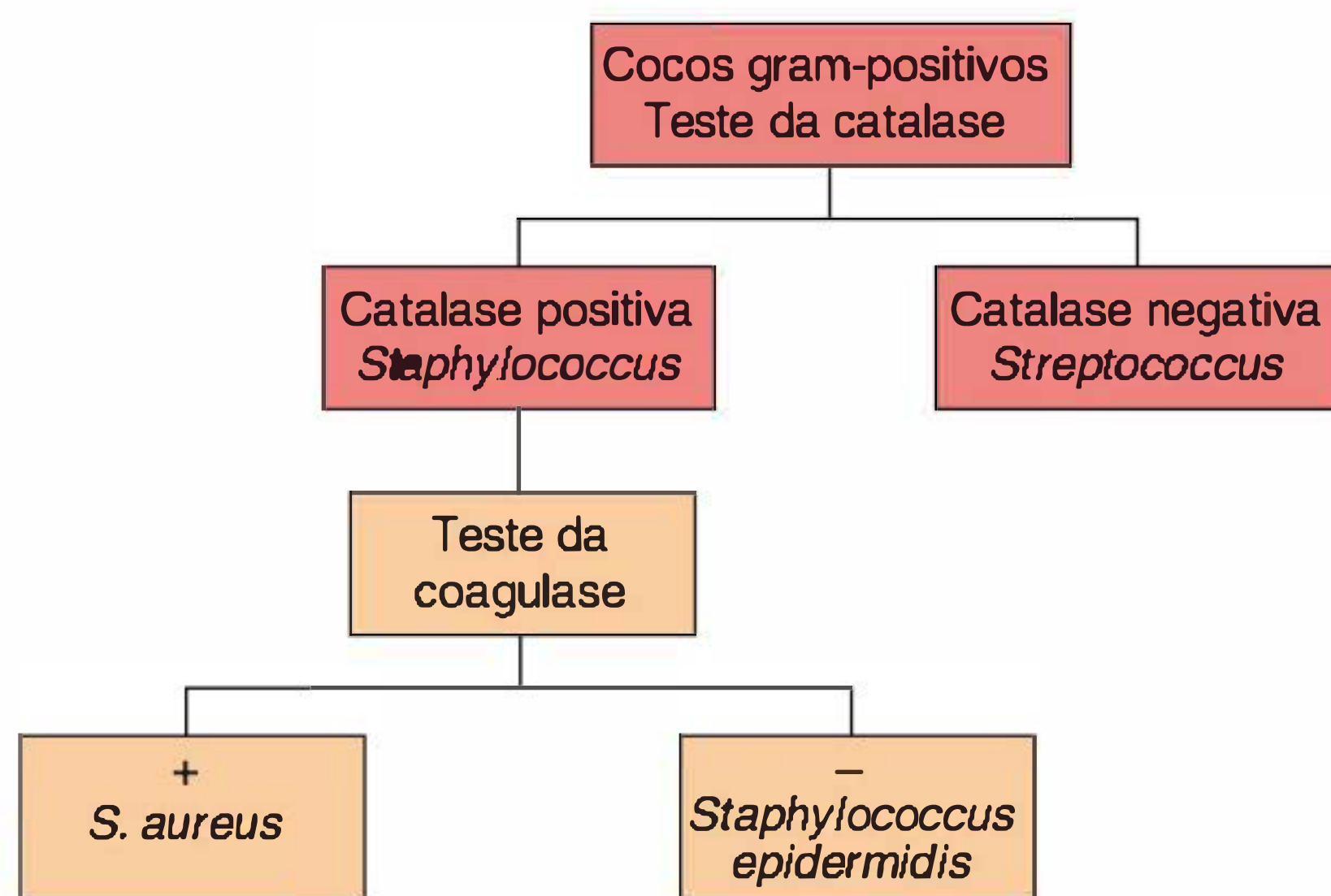


FIGURA 3.1 Diagrama simplificado para diferenciação de cocos gram-positivos.

Instabilidade genética

O valor de um critério taxonômico depende do grupo biológico que está sendo comparado. Traços compartilhados por todos ou por nenhum dos membros de um grupo não podem ser usados para distinguir seus membros, mas podem definir um grupo (p. ex., todos os estafilococos produzem a enzima catalase). Os avanços em biologia molecular hoje possibilitam a investigação do parentesco de genes ou genomas por comparação de sequências entre diferentes bactérias (Cap. 7). Nesses casos, a instabilidade genética pode fazer com que alguns traços sejam altamente variáveis dentro de um grupo biológico ou mesmo dentro de um grupo taxonômico específico. Assim, por exemplo, os genes de resistência a antibióticos ou os genes que codificam enzimas (p. ex., utilização da lactose) podem ser transportados em **plasmídeos** ou **bacteriófagos** (Cap. 7), elementos genéticos extracromossômicos que podem ser transferidos entre bactérias não relacionadas ou que podem ser perdidos de um subgrupo de cepas bacterianas idênticas em todos os outros aspectos. Muitos microrganismos são de difícil cultivo e, nessas instâncias, técnicas que revelam o parentesco pela análise de hibridização de ácidos nucleicos ou pela sequência de DNA podem ser de especial valor.

SISTEMAS DE CLASSIFICAÇÃO

Chaves

As chaves organizam os traços bacterianos de um modo que possibilita a identificação eficiente dos microrganismos. O sistema ideal deve conter o número mínimo de características necessárias para se estabelecer uma categorização correta. Os grupos são divididos em subgrupos menores baseados na presença (+) ou ausência (-) de determinada característica diagnóstica. A continuação desse processo, utilizando-se diferentes características, orienta o pesquisador para o menor subgrupo definido que contém o microrganismo analisado. Nas etapas iniciais desse processo, os microrganismos podem ser divididos em subgrupos com base em características que não refletem qualquer relação genética. Seria perfeitamente razoável, por exemplo, que uma chave para bactérias incluísse um grupo de “bactérias formadoras de pigmentos vermelhos quando

QUADRO 3.2 Testes bioquímicos mais comuns usados na diferenciação de bactérias

- 1. Quebra de carboidratos.** A capacidade de produzir metabólitos ácidos por via fermentativa ou oxidativa, a partir de uma variedade de carboidratos (p. ex., glicose, sacarose e lactose) é usada na identificação da maioria dos grupos bacterianos. Tais testes, embora imperfeitos, têm sido úteis para fins taxonômicos. A identificação por cromatografia gasosa na identificação de ácidos graxos de cadeia curta, produzido na fermentação da glicose também tem sido útil na classificação de diferentes bactérias anaeróbias.
- 2. Produção de catalase.** A enzima catalase catalisa a conversão do peróxido de hidrogênio em água e oxigênio. Quando uma colônia bacteriana é misturada com o peróxido de hidrogênio, a liberação do oxigênio pode ser observada pelo aparecimento de bolhas de gás. O teste é particularmente útil na diferenciação dos estafilococos (positivos) dos estreptococos (negativos), porém também tem aplicação taxonômica para bactérias gram-negativas.
- 3. Utilização do citrato.** Um meio que contenha citrato de sódio como única fonte de carbono, pode ser usado para determinar a capacidade de metabolizar o citrato. As bactérias que crescem nesse meio são classificadas como citrato positivo.
- 4. Coagulase.** A enzima coagulase atua como um fator plasmático, convertendo o fibrinogênio em fibrina. É usado na diferenciação do *Staphylococcus aureus* de outros estafilococos*.
- 5. Descarboxilases e deaminases.** A descarboxilação e a desaminação dos aminoácidos lisina, ornitina e arginina são detectadas pela presença de aminas alcalinas que modificam o pH. Tal modificação pode ser observada pela alteração na cor do meio. Esses testes são utilizados primariamente para identificação de bastonetes gram-negativos.
- 6. Sulfeto de hidrogênio.** A habilidade de algumas bactérias de produzir H_2S a partir de aminoácidos e compostos sulfurosos é útil na classificação taxonômica. A coloração negra formada pela interação dos sais de sulfeto com metais pesados tais como o ferro, é utilizada na detecção do H_2S .
- 7. Indol.** A reação do indol testa a capacidade de um organismo em produzir o indol (benzopirrol) a partir da metabolização do aminoácido triptofano. O indol é detectado pela formação de uma coloração vermelha após a adição do p-dimetilaminobenzaldeído. O teste de spot pode ser realizado em segundos usando colônias isoladas.
- 8. Redução do nitrato.** Bactérias podem reduzir nitratos por diferentes mecanismos. Essa habilidade é demonstrada pela detecção de nitrito e/ou gás nitrogênio formados nesse processo.
- 9. Quebra do O-ortonitrofenil- β -D-galactopiranosídeo (ONPG).** O teste de ONPG está relacionado com a fermentação da lactose. As bactérias que possuem a enzima β -galactosidase necessária para fermentação da lactose, mas que não apresentam a enzima galactosídeo permease importante para o transporte da lactose para o citoplasma bacteriano, são ONPG positivas e geralmente lactose negativas ou lactose tardias.
- 10. Produção de oxidase.** Os testes de oxidase detectam o componente c do complexo citocromo-oxidase. O reagente utilizado muda de transparente para colorido, quando convertido de sua forma reduzida para o estado oxidado. A reação de oxidase é comumente demonstrada em teste de spot utilizando colônias isoladas.
- 11. Produção de proteinase.** A atividade proteolítica é detectada pelo crescimento do microrganismo na presença de substratos, tais como gelatina e gema de ovo.
- 12. Produção de urease.** A urease hidrolisa a urea em duas moléculas de amônia e CO_2 . Essa reação pode ser detectada pelo aumento do pH no meio causado pela produção de amônia. Espécies urease positivas variam a concentração da enzima produzida. Bactérias podem ser assim classificadas como positivas, fraca-positivas e negativas.
- 13. Teste de Voges-Proskauer.** O teste de Voges-Proskauer detecta o acetilmetilcarbinol (acetoína), um produto intermediário da fermentação da glicose pela via butilenoglicol.

* N. de R.T. Amostras de *Staphylococcus schleiferi* subespécie *schleiferi*, têm sido isoladas de diferentes infecções humanas e se mostram positivas tanto para o fator de agregação quanto para a coagulase em tubo. Essas amostras podem ser diferenciadas de *S. aureus* pela ausência de produção de ácido a partir de maltose, manitol e sacarose.

propagadas em um meio definido”, embora tal procedimento fosse incluir formas não relacionadas, como a *Serratia marcescens* (Cap. 15) e bactérias fotossintéticas purpúreas (Cap. 6). Esses dois agrupamentos de bactérias desiguais ocupam nichos distintos e dependem de formas totalmente diferentes de metabolismo energético. Não obstante, o agrupamento preliminar dos referidos conjuntos seria útil, pois poderia possibilitar ao pesquisador a imediata identificação de uma cultura com pigmentação vermelha, limitando a margem de possibilidades a um número relativamente pequeno de grupos.

Taxonomia numérica

A taxonomia numérica (também definida como fenética ou taxometria) passou a ser amplamente utilizada na década de 1970. Esses esquemas de classificação numérica utilizam um número (frequentemente maior que 100) de características não ponderadas e taxonomicamente úteis. O Índice de Perfil Analítico (IPA/API™) é um método geralmente usado para identificar uma ampla variedade de microrganismos. Esses testes (API) consistem em um número de tiras plásticas, cada qual com cerca de 20 compartimentos em miniatura, contendo reagentes bioquímicos. Quase todos os grupos bacterianos cultiváveis e mais de 550 diferentes espécies podem ser identificados com a utilização dos resultados desses testes API. Estes sistemas de identificação possuem um grande banco de dados de reações bioquímicas microbianas. Os agrupamentos numéricos derivados desses testes identificam diferentes cepas de um nível de seleção a partir da similaridade total (geralmente > 80% ao nível de espécie) com base na frequência com que esses traços são compartilhados. Além disso, a classificação numérica fornece percentuais de frequência de caracteres positivos para todas as cepas dentro de cada agrupamento. A limitação desta estratégia é que se trata de um **sistema estático**, que não permite a avaliação da evolução bacteriana e a descoberta regular de novos patógenos bacterianos (Fig. 3.2).

Classificações filogenéticas: em busca de uma compreensão das relações evolutivas entre as bactérias

As classificações filogenéticas constituem medidas entre dois microrganismos e implicam que ambos tenham o mesmo ancestral. O registro de fósseis possibilitou que a formulação dessas deduções se tornasse relativamente fácil para muitos dos representantes dos reinos vegetal e animal. Entretanto, tal tipo de registro não existe para as bactérias e, na ausência de evidências moleculares, pode ser difícil estabelecer uma distinção entre a **evolução convergente** e a **divergente** para traços bacterianos.

As propriedades genéticas das bactérias possibilitam a troca de genes entre microrganismos remotamente relacionados. Além disso, a multiplicação das bactérias é quase totalmente vegetativa, e seus mecanismos de troca genética raras vezes envolvem uma recombinação entre grandes porções de seus genomas (Cap. 7). Por conseguinte, o conceito de **espécie** — a unidade fundamental da filogenia dos eucariotos — tem um significado totalmente diferente quando aplicado às bactérias. Uma espécie eucariótica refere-se a um grupo biológico capaz de se reproduzir, com a intenção de produzir uma prole variável. Como as bactérias replicam-se de maneira clonal por fissão binária, elas não necessitam de um grupo complementar de cromossomos para se reproduzir. Por conseguinte, a definição de uma espécie bacteriana é necessariamente pragmática e operacionalmente definida. Para as finalidades de categorização de bactérias, uma **espécie** é uma categoria que circunscreve um grupo genomicamente coerente de indivíduos isolados ou cepas que compartilhem um alto grau de similaridade em muitas características independentes, quando testadas de modo comparável e em condições altamente padronizadas. A decisão de reunir grupos de microrganismos como determinada espécie bacteriana é do taxonomista, que pode escolher subdividir o grupo em **biotipos** e reunir espécies dentro de gêneros. Também é possível propor agrupamentos mais amplos, como as famílias. No Quadro 3.1 fornecemos as categorias formais usadas na taxonomia de bactérias. Para fins práticos, apenas as divisões de família, gênero e espécie são comumente utilizadas.

Existe considerável diversidade genética entre as bactérias. A caracterização química do DNA genômico bacteriano revela ampla variedade de composições de bases de nucleotídeos entre diferentes cepas bacterianas. O conteúdo de guanina + citosina (G + C) em bactérias próximas é similar, indicando que é possível empregar o parentesco genético do DNA de organismos semelhantes para medir a relação taxonômica. O parâmetro de similaridade DNA-DNA baseado na diferença do ponto de desnaturação térmica tem sido um método impreciso empregado para o delineamento de espécies.

Um método mais preciso é o sequenciamento do DNA. Este método tornou-se um procedimento de rotina e a comparação das sequências do DNA de genes divergentes pode fornecer uma medida de sua relação. Os genes para diversas funções, tais como os que codificam antígenos de superfície para evasão do sistema imunológico, divergem a diferentes taxas em relação a genes constitutivos (*housekeeping*), como os que codificam citocromos. Assim, as diferenças na sequência do DNA entre genes rapidamente divergentes podem ser utilizadas para se estabelecer a distância genética de grupos de bactérias estreitamente relacionados, enquanto as diferenças



FIGURA 3.2 O teste API™ demonstrando como as bactérias podem ser diferenciadas usando uma série de testes bioquímicos. Cada compartimento pequeno contém um pó desidratado de um teste bioquímico, em que uma cultura bacteriana é inoculada. Após incubação, as mudanças colorimétricas podem ser pontuadas numericamente, produzindo um número que corresponde a uma espécie bacteriana específica e ao gênero. (Cortesia da bioMérieux, Inc.)

QUADRO 3.3 Principais categorias e grupos de bactérias que causam doenças em seres humanos segundo o esquema de identificação do *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*, 9ª edição

<i>Bergey's Manual of Systematic Bacteriology</i>	
I. Eubactérias gram-negativas que possuem parede celular	
Grupo 1: Espiroquetas	<i>Treponema</i> <i>Borrelia</i> <i>Leptospira</i>
Grupo 2: Bactérias gram-negativas aeróbias/microaerofílicas, móveis, helicoidais/vibrioides	<i>Campylobacter</i> <i>Helicobacter</i> <i>Spirillum</i>
Grupo 3: Bactérias curvas, imóveis (ou raramente móveis)	Nenhuma
Grupo 4: Cocos e bastonetes gram-negativos aeróbios/microaerofílicos	<i>Alcaligenes</i> <i>Bordetella</i> <i>Brucella</i> <i>Francisella</i> <i>Legionella</i> <i>Moraxella</i> <i>Neisseria</i> <i>Pseudomonas</i> <i>Rochalimaea</i> <i>Bacteroides</i> (algumas espécies)
Grupo 5: Bastonetes gram-negativos anaeróbios facultativos	<i>Escherichia</i> (e bactérias coliformes relacionadas) <i>Klebsiella</i> <i>Proteus</i> <i>Providencia</i> <i>Salmonella</i> <i>Shigella</i> <i>Yersinia</i> <i>Vibrio</i> <i>Haemophilus</i> <i>Pasteurella</i>
Grupo 6: Bastonetes gram-negativos anaeróbios, retos, curvos e helicoidais	<i>Bacteroides</i> <i>Fusobacterium</i> <i>Prevotella</i>
Grupo 7: Bactérias dissimuladoras redutoras de enxofre ou sulfato	Nenhuma
Grupo 8: Cocos gram-negativos anaeróbios	Nenhuma
Grupo 9: Riquetsias e clamídias	<i>Rickettsia</i> <i>Coxiella</i> <i>Chlamydia</i>
Grupo 10: Bactérias fototróficas anoxigênicas	Nenhuma
Grupo 11: Bactérias fototróficas oxigênicas	Nenhuma
Grupo 12: Bactérias aeróbias quimiolitotróficas e organismos variados	Nenhuma
Grupo 13: Bactérias com apêndices ou brotamentos	Nenhuma
Grupo 14: Bactérias com bainha	Nenhuma
Grupo 15: Bactérias não fotossintéticas, não frutificadas, deslizantes	<i>Capnocytophaga</i>
Grupo 16: Bactérias frutificadas deslizantes: mixobactérias	Nenhuma
II. Bactérias gram-positivas que possuem parede celular	
Grupo 17: Cocos gram-positivos	<i>Enterococcus</i> <i>Peptostreptococcus</i> <i>Staphylococcus</i> <i>Streptococcus</i>
Grupo 18: Bastonetes e cocos gram-positivos formadores de endósporos	<i>Bacillus</i> <i>Clostridium</i>
Grupo 19: Bastonetes gram-positivos regulares, não formadores de esporos	<i>Erysipelothrix</i> <i>Listeria</i>
Grupo 20: Bastonetes gram-positivos irregulares, não formadores de esporos	<i>Actinomyces</i> <i>Corynebacterium</i> <i>Mobiluncus</i>
Grupo 21: Micobactérias	<i>Mycobacterium</i>
Grupos 22 a 29: Actinomicetos	<i>Nocardia</i> <i>Streptomyces</i> <i>Rhodococcus</i>
III. Eubactérias desprovidas de parede celular: micoplasmas ou <i>Mollicutes</i>	
Grupo 30: Micoplasmas	<i>Mycoplasma</i> <i>Ureaplasma</i>
IV. Archeobactérias	
Grupo 31: Metanógenos	Nenhuma
Grupo 32: Archeobactérias redutoras de sulfato	Nenhuma
Grupo 33: Archeobactérias halofílicas extremófilas	Nenhuma
Grupo 34: Archeobactérias desprovidas de parede celular	Nenhuma
Grupo 35: Bactérias termofílicas extremas e hipertermofílicas metabolizadoras de enxofre	Nenhuma

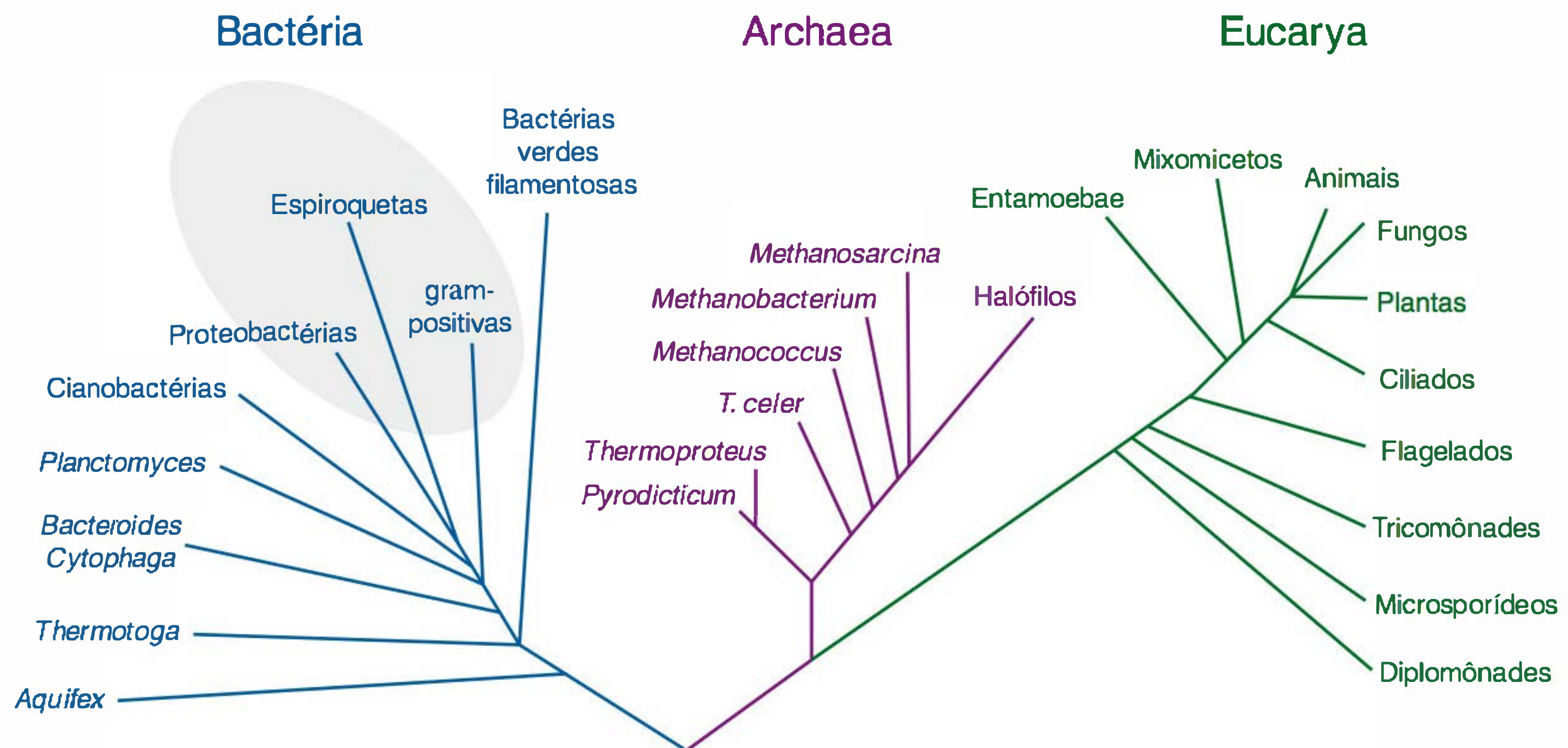


FIGURA 3.3 Árvore filogenética baseada em dados do rRNA, mostrando a separação das famílias das bactérias, das arqueas e dos eucariotos. Os grupos das principais bactérias patogênicas conhecidas são indicados na área em cinza. O único grupo de bactérias patogênicas que não está agrupado nessa área sombreada é o grupo *Bacteroides*.

de sequência entre genes constitutivos (*housekeeping*) podem ser utilizadas para medir a relação de grupos amplamente divergentes de bactérias.

RNA ribossômico

Os ribossomos desempenham papel essencial na síntese proteica para todos os organismos. Sequências genéticas que codificam tanto o RNA ribossômico (rRNA) quanto as proteínas (ambos são necessários para a inclusão de um ribossomo funcional) foram altamente conservadas em toda a evolução e divergiram mais lentamente do que outros genes cromossômicos. A comparação da sequência de nucleotídeos do RNA ribossômico 16S de uma variedade de fontes procarióticas revelou a existência de relações evolutivas entre microrganismos amplamente divergentes e levou à elucidação de um novo reino, o das **Arqueobactérias**. A árvore filogenética baseada nos dados do RNA ribossômico (rRNA), mostrando a separação entre bactéria, arquea e famílias eucariotas, está representada na Figura 3.3, que mostra os três principais domínios da vida biológica tal como os conhecemos atualmente. A partir desse diagrama, dois Reinos — as Eubactérias (bactérias verdadeiras) e as Arqueobactérias — são distintos do ramo dos Eucariotos.

DESCRIÇÃO DAS PRINCIPAIS CATEGORIAS E GRUPOS DE BACTÉRIAS

Manual de bacteriologia sistemática de Bergey

O trabalho definitivo em termos de organização taxonômica de bactérias é a última edição do *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Publicado pela primeira vez em 1923. Esta publicação classifica, usando chaves taxonômicas, bactérias conhecidas, cultiváveis ou não. Um volume suplementar, o *Bergey's Manual*

of Determinative Bacteriology, serve para auxiliar na identificação das bactérias descritas e cultivadas. As principais bactérias que causam doenças infecciosas, tal como são classificadas no *Bergey's Manual*, estão listadas no Quadro 3.3. Devido à probabilidade de surgirem informações sobre relações filogenéticas que irão resultar em modificações adicionais na organização dos grupos bacterianos no *Bergey's Manual*, suas designações devem ser consideradas um trabalho em andamento.

Conforme discutido no Capítulo 2, existem dois grupos diferentes de procariotos, as eubactérias e as arqueobactérias. Ambas são pequenos organismos unicelulares que se replicam sexualmente. Eubactérias referem-se às bactérias clássicas tal como a ciência as conhece historicamente. Não possuem um núcleo verdadeiro, possuem lipídeos característicos que constituem suas membranas, são dotadas de parede celular composta por peptidoglicano e dispõem de um mecanismo para síntese de proteínas e ácidos nucleicos que podem ser inibidos seletivamente por agentes antimicrobianos. Em contraste, as arqueobactérias não possuem uma parede celular clássica, com peptidoglicano, e apresentam muitas características (p. ex., mecanismo de síntese proteica e de replicação de ácido nucleico), que são similares às das células eucarióticas (Quadro 3.4).

Eubactérias

A. Eubactérias gram-negativas

Trata-se de um grupo heterogêneo de bactérias que possuem um complexo envelope celular (do tipo gram-negativo) constituído de membrana externa, espaço periplasmático contendo uma camada interna delgada de peptidoglicano (que contém ácido murâmico) e membrana citoplasmática. A forma da célula (Fig. 3.4) pode ser esférica, oval, em bastonete reto ou curvo, helicoidal ou filamentosa; algumas dessas formas podem apresentar bainha ou ser encapsuladas. A reprodução é feita por divisão binária, porém alguns grupos se reproduzem por

QUADRO 3.4 Principais características partilhadas por arqueobactérias e células eucarióticas que estão ausentes em eubactérias

Característica	Eubactérias	Arqueobactérias, Eucariotos
Fator de alongação 2 (EF-2) contém o aminoácido diftamina e é, portanto, ADP-ribosilável pela toxina diftérica	Não	Sim
O iniciador metionil tRNA não é formilado	Não	Sim
Alguns genes tRNA contêm íntrons	Não	Sim, em eucariotos
A síntese proteica é inibida por anisomicina, mas não por cloranfenicol	Não	Sim
RNA polimerases dependentes de DNA são enzimas multicomponentes insensíveis aos antimicrobianos rifampicina e estreptomicina	Não	Sim
RNA polimerases dependentes de DNA são enzimas multicomponentes e são insensíveis aos antibióticos rifampicina e estreptolidigina	Não	Sim

brotamento. As mixobactérias podem formar corpos frutíferos e mixósporos. A motilidade, quando presente, é realizada por meio de flagelos ou por deslizamento. Os membros dessa categoria podem ser bactérias **fototróficas** ou **não fototróficas** (Cap. 5) e incluir espécies **aeróbias**, **anaeróbias**, **anaeróbias facultativas** e **microaerofílicas**.

B. Eubactérias gram-positivas

Essas bactérias possuem uma parede celular do tipo gram-positiva; em geral, mas nem sempre, as células exibem coloração Gram-positiva. O envelope dos organismos gram-positivos consiste em uma espessa parede celular que determina a forma celular e uma membrana citoplasmática. Essas células podem ser encapsuladas e podem exibir motilidade mediada por flagelos. As células podem ser esféricas, em forma de bastonete ou filamentos. Os bastonetes e filamentos podem não ser ramificados ou exibir uma verdadeira ramificação. Em geral, a reprodução é feita por divisão binária. Algumas bactérias incluídas nessa categoria produzem **esporos** (p. ex., *Bacillus* e espécies *Clostridium*) como formas de latência que são altamente resistentes a desinfecção. Em geral, as eubactérias gram-positivas são **heterótrofas quimiossintéticas** (Cap. 5) e incluem espécies aeróbias, anaeróbias e anaeróbias facultativas. Os grupos que compõem essa categoria incluem bactérias asporogêneas

e esporogêneas simples, bem como actinomicetos estruturalmente complexos e formas correlatas.

C. Eubactérias desprovidas de parede celular

Trata-se de microrganismos que carecem de parede celular (comumente denominados **micoplasmas**, compreendendo a classe *Mollicutes*) e que não sintetizam os precursores do peptidoglicano. Delimitados por uma membrana, a membrana plasmática (Fig. 3.5). Assemelham-se às **formas L**, que podem ser produzidas por muitas espécies de bactérias (notadamente as eubactérias gram-positivas); todavia, diferentemente das formas L, os micoplasmas nunca sofrem reversão para o estado dotado de parede celular, e não existe relação antigênica entre os micoplasmas e as formas L eubacterianas.

Seis gêneros foram classificados como micoplasmas com base no seu *habitat*; entretanto, apenas dois contêm patógenos de animais. Os micoplasmas são microrganismos altamente pleomórficos cujo tamanho varia de formas vesiculares a formas filtráveis muito pequenas (0,2 μm) (são muito pequenos para serem capturados em filtros que rotineiramente retêm a maior parte das bactérias).

A reprodução pode ocorrer por brotamento, fragmentação ou divisão binária, isoladamente ou em combinação. A maioria das espécies necessita de um meio de cultura complexo para

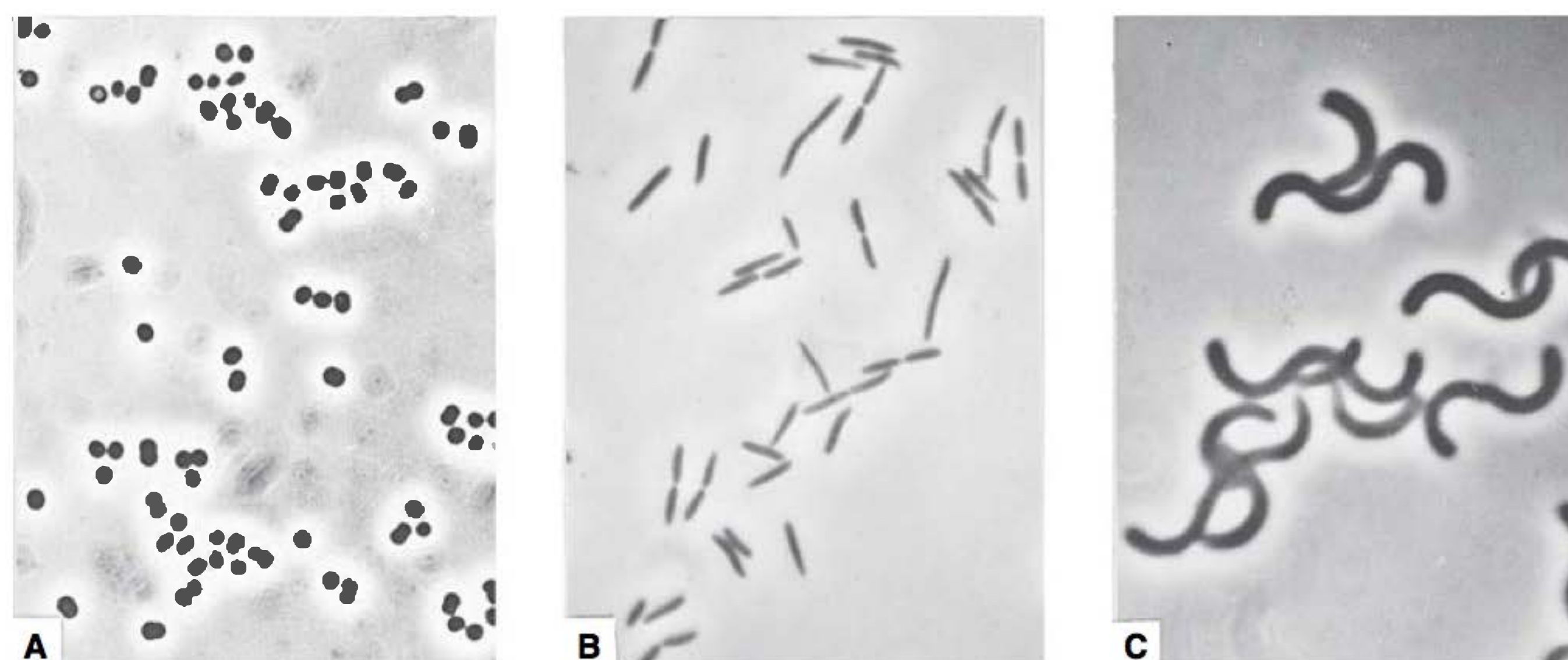


FIGURA 3.4 As formas celulares que ocorrem entre bactérias unicelulares verdadeiras. (A) Cocco. (B) Bastonete. (C) Espiroqueta. (Contraste de fase, ampliada 1.500 vezes.) (Reproduzida, com autorização, de Stanier RY, Doudoroff M, Adelberg EA. *The Microbial World*, 3rd ed. Copyright © 1970. Com autorização, de Prentice-Hall, Inc., Englewood Cliffs, NJ.)

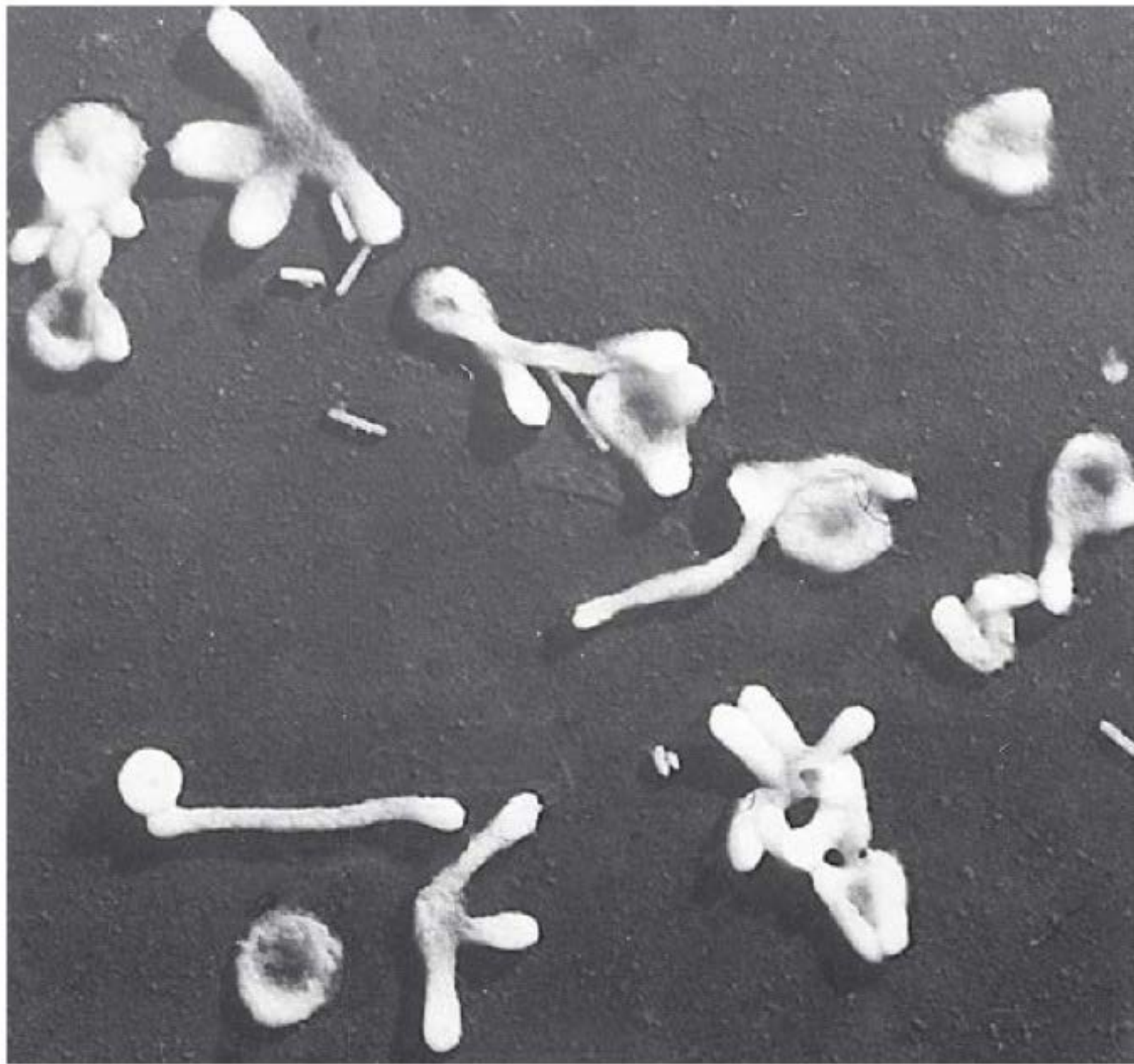


FIGURA 3.5 Micrografia eletrônica de células de um membro do grupo dos micoplasmas, o agente da broncopneumonia no rato (ampliada 1.960 vezes). (Reproduzida, com autorização, de Klieneberger-Nobel E, Cuckow FW: A study of organisms of the pleuropneumonia group by electron microscopy. *J Gen Microbiol* 1955;12:99.)

crescer e tende a formar colônias características em forma de “ovo frito” em meio sólido. Uma característica peculiar dos *Mollicutes* é que alguns gêneros necessitam de colesterol para crescerem; o colesterol não esterificado, quando presente, constitui um componente único das membranas tanto de espécies que necessitam quanto de espécies que não necessitam de esterol.

Arqueobactérias

Esses microrganismos habitam predominantemente em ambientes terrestres e aquáticos de condições extremas (elevado teor de sal, altas temperaturas, anaeróbios) e são frequentemente denominados “extremófilos”; alguns são simbioses no trato digestório humano e de animais. As arqueobactérias consistem em microrganismos aeróbios, anaeróbios e anaeróbios facultativos que são **quimiolitotróficos**, **heterotróficos** ou **heterotróficos facultativos**. Algumas espécies são **mesofílicas**, enquanto outras são capazes de crescer a temperaturas superiores a 100°C. Tais arqueobactérias hipertermofílicas são peculiarmente adaptadas ao crescimento em altas temperaturas. Com poucas exceções, as enzimas isoladas desses microrganismos são intrinsecamente mais termoestáveis do que as enzimas correspondentes encontradas nos microrganismos mesofílicos. Algumas dessas enzimas termoestáveis, como a DNA polimerase do *Thermus aquaticus* (Taq polimerase), são um importante componente dos métodos de amplificação do DNA, tais como a reação em cadeia da polimerase (PCR, na sigla em inglês).

As arqueobactérias podem ser diferenciadas das eubactérias em parte pela ausência de parede celular com peptidoglicano, presença de lipídeos diéter isoprenoide ou tetraéter diglicerol, e sequências características do RNA ribossômico. As arqueobactérias também compartilham algumas características moleculares com as eubactérias (Quadro 3.4). As células podem exibir

uma diversidade de formas, como formas esféricas, espiraladas, em placas ou em bastonetes; além disso, ocorrem formas unicelulares e multicelulares, em filamentos ou agregados. A multiplicação ocorre por divisão binária, brotamento, constrição, fragmentação ou por outros mecanismos desconhecidos.

SUBTIPAGEM E SUA APLICAÇÃO

Em certas circunstâncias (como em caso de epidemia), é importante distinguir entre cepas de determinada espécie ou identificar uma cepa em particular. Este processo é denominado **subtipagem** e consiste no exame de bactérias isoladas à procura de características que permitam uma discriminação abaixo do nível de espécie. Classicamente, a subtipagem é efetuada por biotipagem, sorotipagem, teste de suscetibilidade a antimicrobianos e fagotipagem. Por exemplo, foram identificados mais de 130 sorogrupos de *Vibrio cholerae* com base em diferenças antigênicas no polissacarídeo O de seu LPS; entretanto, apenas os sorogrupos O1 e O139 estão associados à cólera pandêmica e epidêmica, respectivamente. Dentro desses sorogrupos, apenas as cepas que produzem um *pilus* particular em forma de feixe e a toxina da cólera são virulentas e provocam cólera. Contudo, cepas O1 não toxigênicas de *V. cholerae*, não associadas à cólera epidêmica, também foram isoladas de amostras do ambiente, de alimentos e de pacientes com diarreia esporádica.

Tipagem sorológica

A clonalidade em termos de microrganismos isolados de um surto de origem comum (**fonte pontual de disseminação**) constitui um importante conceito na epidemiologia das doenças infecciosas. Agentes etiológicos associados a esses surtos de infecções são geralmente **clonais**; em outras palavras, constituem a progênie de uma única célula e, portanto, para todos os fins práticos, são geneticamente idênticos. Assim, a subtipagem desempenha importante papel na discriminação desses microrganismos. Avanços recentes, obtidos em biotecnologia, melhoraram notavelmente nossa capacidade de subtipar microrganismos. A tecnologia do hibridoma resultou no desenvolvimento de anticorpos monoclonais contra antígenos de superfície celular que têm sido utilizados para criar sistemas de subtipagem altamente padronizados, que descrevem **sorotipos** bacterianos. Esta é uma importante ferramenta para definição da disseminação epidemiológica de uma infecção bacteriana.

Outros microrganismos não podem ser identificados como sorotipos únicos. Por exemplo, alguns patógenos (*Neisseria gonorrhoeae*) são transmitidos como um inóculo composto de **quasiespécies** (que significa que existe uma extensa variação antigênica entre as bactérias presentes no inóculo). Nesses casos, grupos de hibridomas que reconhecem variantes dos microrganismos originais são empregados para categorizar sorovariantes ou **sorovares**.

Genotipagem

A **genotipagem por eletroforese de enzimas multilocal** (MLEE, na sigla em inglês), o método-padrão para a pesquisa genética da população eucariótica, também foi utilizada para estudo da diversidade genética e da estrutura clonal dos microrganismos patogênicos. A MLEE envolve a determinação das mobilidades de um conjunto de enzimas solúveis (em geral, 15 a 25 enzimas) por

eletroforese em gel de amido. Como a velocidade de migração de uma proteína durante a eletroforese e a sua carga eletrostática efetiva são determinadas pela sequência de seus aminoácidos, as variantes de mobilidade (conhecidas como **eletromorfos** ou **alozimas**) de uma enzima refletem as substituições de aminoácidos na sequência proteica, que reflete alterações na sequência do DNA que codifica a proteína. Os genes estruturais que codificam enzimas na *Escherichia coli* exibem extensa diversidade genética; todavia, ao utilizar a MLEE, os pesquisadores dos Centers for Disease Control and Prevention verificaram que as cepas de *E. coli* do sorotipo O157:H7 descendiam de um clone amplamente distribuído na América do Norte.

Fingerprint* químico

A caracterização ou a identificação de isolados tem sido aperfeiçoada pela aplicação de métodos físicos para as células procarióticas, tais como a espectroscopia infravermelha transformada de Fourier (FTIR), a espectroscopia de pirólise de massa e a ionização/dessorção assistida a laser com tempo de fuga (Maldi/Tof) ou a espectroscopia de massa por ionização. O equipamento necessário para aplicação dessas técnicas poderosas é caro e não está disponível na rotina dos laboratórios clínicos**.

TAXONOMIA BASEADA EM ÁCIDOS NUCLEICOS

Desde 1975, os desenvolvimentos no isolamento, na amplificação e na determinação da sequência dos ácidos nucleicos estimularam a evolução de sistemas de subtipagem baseados em ácidos nucleicos. Esses sistemas incluem a análise do perfil de plasmídeos; análise da endonuclease de restrição; ribotipagem, eletroforese em gel de campo pulsado; amplificação com PCR e digestão de genes específicos com a endonuclease de restrição; AP-PCR (PCR com sequências iniciadoras escolhidas de maneira arbitrária); bem como análise da sequência de ácidos nucleicos.

Análise de plasmídeos

A análise do perfil de plasmídeos foi a primeira técnica, e a mais simples, baseada no DNA aplicada a estudos epidemiológicos. Os plasmídeos, elementos genéticos extracromossômicos (Cap. 7), são isolados de cada bactéria e, em seguida, separados por eletroforese em gel de agarose para determinar seu número e tamanho. Entretanto, muitas bactérias podem apresentar plasmídeos de tamanho idêntico, porém com diferentes sequências. Por conseguinte, a digestão dos plasmídeos

com endonucleases de restrição e, em seguida, a comparação do número e do tamanho dos fragmentos de restrição resultantes frequentemente fornecem informações adicionais úteis. A análise dos plasmídeos mostrou-se extremamente útil para o estudo de surtos restritos no tempo e no espaço (p. ex., surto em um hospital), particularmente quando é combinada com outros métodos de identificação.

Análise de endonucleases de restrição

O uso de **enzimas de restrição** para a clivagem do DNA em fragmentos distintos constitui um dos procedimentos mais básicos em biologia molecular. As endonucleases de restrição reconhecem sequências curtas de DNA (sequências de restrição) e clivam o DNA de filamento duplo no interior dessa sequência ou adjacente a ela. As sequências de restrição, cujo comprimento varia de quatro a mais de 12 bases, ocorrem em todo o cromossomo bacteriano. As enzimas de restrição que reconhecem sequências curtas (p. ex., quatro pares de base) ocorrem com maior frequência do que as que reconhecem sequências longas (p. ex., 12 pares de base). Por conseguinte, as enzimas que reconhecem as sequências curtas de DNA produzem mais fragmentos do que as enzimas que reconhecem sequências de restrição longas. Vários métodos de subtipagem empregam o DNA digerido por endonucleases de restrição. O método básico consiste na digestão do DNA com uma enzima capaz de reconhecer um local de restrição de ocorrência frequente, com separação de fragmentos, cujo comprimento em geral varia de 0,5 a 50 kb, por eletroforese em gel de agarose seguida de visualização sob luz ultravioleta após coloração com brometo de etídio. Uma das principais limitações dessa técnica é a dificuldade de interpretação dos perfis complexos constituídos de centenas de bandas que podem apresentar má resolução e sobrepor-se. Este problema foi solucionado com o uso de endonucleases de restrição que efetuam clivagens em locais de restrição de ocorrência rara. Em geral, a digestão do DNA com tais enzimas resulta em cinco a 20 fragmentos, cujo comprimento varia de cerca de 10 a 800 kb. A separação desses grandes fragmentos de DNA é efetuada por uma técnica denominada **eletroforese em gel de campo pulsado** (PFGE, na sigla em inglês), que exige equipamento especializado. Teoricamente, todas as bactérias isoladas podem ser tipadas por esse método. Sua vantagem é que o perfil de restrição consiste em poucas bandas de boa resolução representando todo o cromossomo bacteriano em um único gel.

Análise por Southern blot

Esta análise foi assim denominada em homenagem ao seu inventor, Edwin Mellor Southern, e tem sido utilizada como método de subtipagem para identificação de microrganismos isolados associados a surtos. Para essa análise, as preparações de DNA de isolados bacterianos são submetidas à digestão por endonucleases de restrição. Após eletroforese em gel de agarose, os fragmentos de restrição separados são transferidos para uma membrana de nitrocelulose ou náilon. Esses fragmentos de DNA de fita dupla são primeiramente convertidos em sequências lineares de fita simples. Com a utilização de um fragmento marcado de DNA como sonda, é possível identificar os fragmentos de restrição que contêm sequências (*loci*) homólogas à sonda por complementação com os fragmentos ligados à fita simples (Fig. 3.6). Os **polimorfismos do comprimento dos**

* N. de R.T. O termo *fingerprint* é utilizado para designar métodos analíticos capazes de detectar diferenças sutis entre compostos similares.

** N. de R.T. A rápida identificação de microrganismos, com base na tecnologia MALDI-TOF é alcançada através da obtenção de espectros e os comparando a um banco de dados. Os picos dos espectros obtidos são comparados com o padrão característico de uma espécie, gênero, ou família de microrganismos, resultando assim na identificação do organismo. Após a cultura os isolados são simultaneamente preparados para o MALDI-TOF e para outro aparelho automatizado de identificação e teste de sensibilidade a antimicrobianos. Em cerca de dois minutos, a identificação do organismo é obtida. As informações podem ser imediatamente transmitidas ao médico como auxílio ao diagnóstico. Os resultados dos testes de sensibilidade podem estar disponíveis em menos de cinco horas, dependendo do aparelho auxiliar utilizado. Atualmente alguns laboratórios no Brasil estão testando essa metodologia.

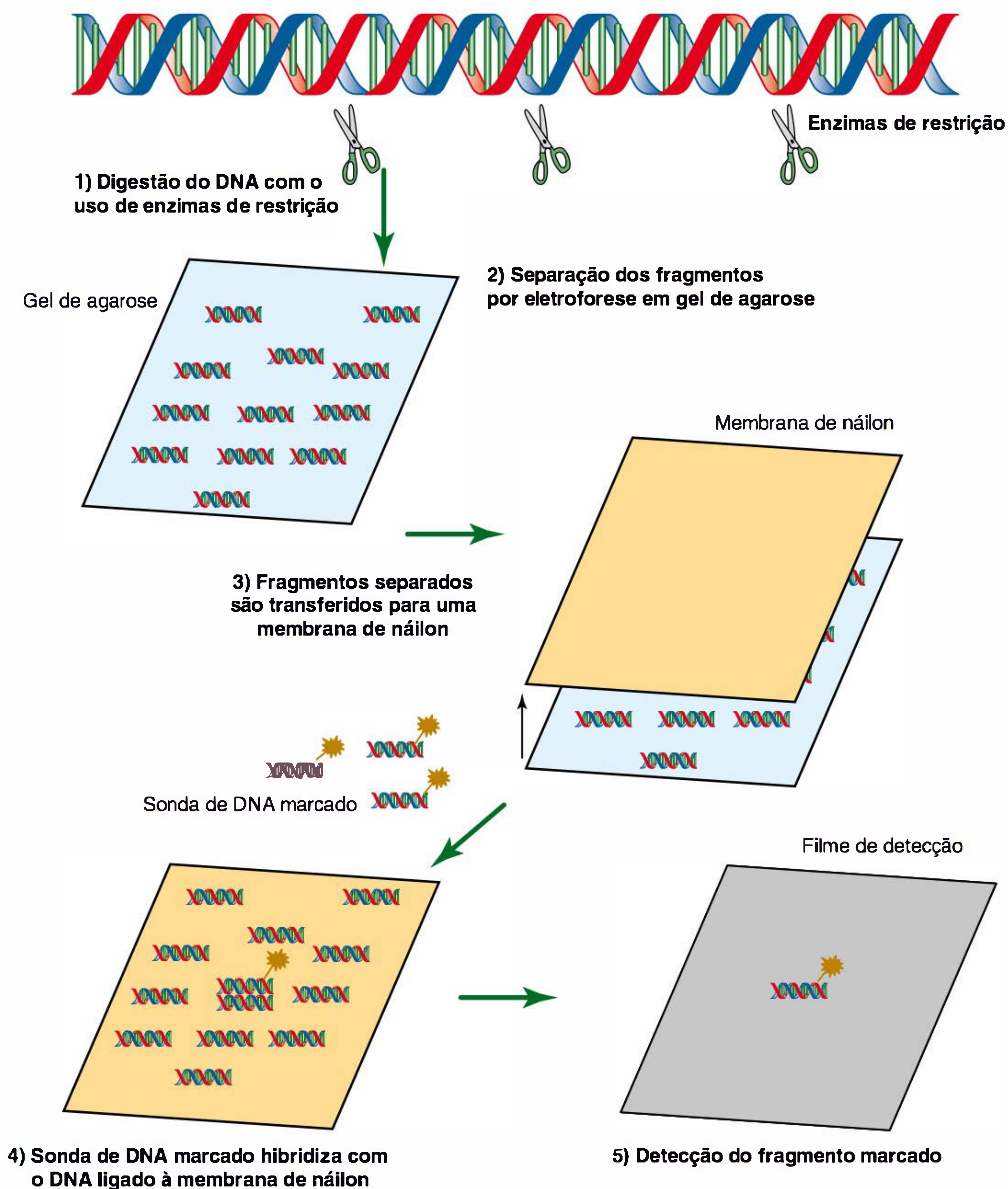


FIGURA 3.6 Análise por *Southern blot* mostrando como *loci* específicos em fragmentos de DNA separados podem ser detectados com uma sonda de DNA marcado. Este procedimento possibilita, em essência, a discriminação do DNA em três níveis: (1) no nível de reconhecimento por enzima de restrição, (2) pelo tamanho do fragmento de DNA, e (3) pela hibridização de uma sonda de DNA a um *locus* específico definido por uma banda específica, em uma posição específica da membrana.

fragmentos de restrição (RFLP, na sigla em inglês) referem-se às variações tanto no número de *loci* homólogos com a sonda quanto nos locais de restrição no interior desses *loci* ou adjacentes a eles.

Ribotipagem

Este método utiliza a análise por *Southern blot* para detectar polimorfismos de genes de rRNA encontrados em todas as bactérias. Como as sequências ribossômicas são altamente conservadas, podem ser detectadas com uma sonda comum preparada a partir do rRNA 16S e 23S de uma eubactéria, *E. coli*. Muitos

microrganismos possuem várias cópias (5 a 7) desses genes, resultando em padrões com um número suficiente de bandas para proporcionar um poder de discriminação satisfatório; entretanto, a ribotipagem é de valor limitado para alguns microrganismos, tais como as micobactérias, que só possuem uma cópia de tais genes.

Sequências repetitivas

Na era atual da genômica na medicina molecular, centenas de genomas microbianos têm sido sequenciados. Com esta era, surgiram as ferramentas de bioinformática, para explorar essa

riqueza de informações sobre as sequências de DNA na identificação de novos alvos para subtipar patógenos, tais como as **sequências repetitivas** encontradas em diferentes espécies (Cap. 7). Essas sequências repetitivas foram chamadas de **DNA satélite** e possuem unidades repetitivas que variam de 10 pb (pares de base) a 100 pb. Em geral são chamadas de **sequências repetidas de número variável** (VNTR de *variable number tandem repeats*). As VNTR foram encontradas em regiões que controlam a expressão gênica de dentro de fases abertas de leitura. A unidade repetida e o número de cópias repetidas lado a lado definem cada *locus* VNTR. Uma estratégia de genotipagem que emprega PCR, citada como análise VNTR de múltiplos *locus* (MLVA, de *multiple-locus VNTR analysis*), tem como vantagem os níveis de diversidade gerados pelo tamanho das unidades repetidas e pela variação do número de cópias em um número conhecido de *loci*. Essa técnica mostra-se especialmente útil na subtipagem de espécies monomórficas, como *Bacillus anthracis*, *Yersinia pestis* e *Francisella tularensis*.

Microbiologia forense

Os métodos de genotipagem estão progredindo em direção à identificação de **polimorfismos de um único gene** em fases abertas de leitura e regiões intergênicas para responder a uma grande variedade de questões de epidemiologia e evolução. O campo da microbiologia forense desenvolveu-se na onda dos ataques bioterroristas com esporos de *Bacillus anthracis* (**antraz** ou carbúnculo) no outono de 2001 nos EUA. A microbiologia forense foi parte da investigação criminal usada para identificação exata de cepas e subcepas do microrganismo usado nesse crime de bioterrorismo.

MÉTODOS PARA A IDENTIFICAÇÃO DE MICRORGANISMOS PATOGENICOS SEM O USO DE CULTURAS

As tentativas de estimar o número total de bactérias, arqueobactérias e vírus são problemáticas devido a dificuldades como detecção e recuperação do meio ambiente, ou conhecimento incompleto de associações microbianas obrigatórias, e o problema do conceito de espécie nesses grupos. Contudo, estimativas indicam que o número de micróbios não cultiváveis excede

QUADRO 3.5 Números estimados e conhecidos das espécies biológicas^a

Grupo	Espécies conhecidas	Total de espécies estimadas	Porcentagem de espécies conhecidas
Vírus	5.000	130.000	4
Bactérias	4.760	40.000	12
Fungos	69.000	1.500.000	5
Algas	40.000	60.000	67
Protozoários	30.800	100.000	31

^a Reproduzido, com autorização, de Annual Reviews, Inc., from Bull AT et al.: Biodiversity as a source of innovation in biotechnology. *Ann Rev Microbiol* 1992;46:219. Permission conveyed through Copyright Clearance Center, Inc.

em muito o número de organismos cultiváveis (Quadro 3.5). Entretanto, estimativas mais recentes sugerem que o total de espécies bacterianas no mundo situa-se entre 10^7 e 10^9 . Até recentemente, a identificação microbiana exigia o isolamento de culturas puras seguido de testes para inúmeros traços fisiológicos e bioquímicos. Os médicos já estão familiarizados com as doenças humanas associadas a microrganismos visíveis, porém não cultiváveis. Na atualidade os cientistas estão utilizando uma abordagem auxiliada pela PCR, utilizando o rRNA para a identificação de microrganismos patogênicos *in situ*. A primeira fase dessa abordagem envolve a extração do DNA de uma amostra apropriada, o uso de técnicas moleculares padronizadas para se obter uma “biblioteca” de clones, a recuperação da informação de sequências do rDNA e a análise comparativa das sequências recuperadas. Todos esses dados fornecem informações sobre a identidade ou relação das sequências em comparação com a base de dados disponíveis. Na segunda fase, a prova de que as sequências provêm de células da amostra original é obtida por hibridização *in situ*, utilizando-se sondas específicas para sequências. Essa abordagem vem sendo utilizada na identificação de microrganismos patogênicos. Por exemplo, um patógeno previamente não caracterizado foi identificado como a bactéria, em forma de bastonete, associada à doença de Whipple, atualmente designado *Tropheryma whipplei*. A abordagem com o rRNA também foi utilizada para identificar o agente etiológico da angiomatose bacilar como *Bartonella henselae* e mostrar que o patógeno oportunista *Pneumocystis jiroveci* é um fungo. Indubitavelmente esta e outras técnicas irão identificar outros agentes etiológicos no futuro.

OBJETIVOS

1. Compreender como o vocabulário taxonômico é crítico na comunicação científica no campo das doenças infecciosas.
2. Como a taxonomia classifica.
3. Compreender as características de crescimento, bioquímicos e genéticos, que são usadas na identificação bacteriana.
4. Entender as diferenças entre eubactéria, arqueobactéria e eucariontes.
5. Entender como as diferentes técnicas moleculares podem auxiliar na taxonomia.

QUESTÕES DE REVISÃO

1. As eubactérias desprovidas de parede celular e que não sintetizam precursores do peptidoglicano são chamadas:
 - (A) Bactérias gram-negativas
 - (B) Vírus
 - (C) Micoplasmas
 - (D) Sorovares variantes
 - (E) Bacilos
2. As arqueobactérias podem ser distinguidas das eubactérias pela ausência de:
 - (A) DNA
 - (B) RNA
 - (C) Ribossomos
 - (D) Peptidoglicano
 - (E) Núcleo

3. Um paciente de 16 anos é admitido no hospital com fibrose cística. Uma cultura de escarro indica *Burkholderia cepacia*. Posteriormente, surgem dois outros pacientes com bacteriemia por *B. cepacia*, e o organismo é cultivado a partir do escarro de outros quatro pacientes. Durante esse surto hospitalar por *B. cepacia*, 50 isolados do ambiente e de sete pacientes estão sendo subtipados para identificação da origem do surto. Qual das seguintes técnicas pode ser a melhor nessa tentativa?
- (A) Cultura
(B) Ribotipagem
(C) Sequenciamento do rRNA 16S
(D) Teste de sensibilidade aos antimicrobianos
(E) Sequenciamento dos ácidos nucleicos
4. Um microrganismo gram-positivo não cultivável foi identificado em amostras de tecidos obtidas de pacientes com doença prévia não descrita. Qual das seguintes técnicas pode ser a mais útil na identificação desse microrganismo?
- (A) Sorologia
(B) Amplificação por PCR e sequenciamento dos genes do rRNA
(C) Eletroforese enzimática de múltiplos *locus*
(D) Eletroforese em gel de poliacrilamida-SDS
(E) Eletroforese em campo pulsado
5. O DNA polimerase do *Thermus aquaticus* é um importante componente dos métodos de amplificação do DNA, como a reação em cadeia da polimerase. Esse microrganismo é capaz de crescer em temperaturas superiores a 100°C. Os microrganismos capazes de crescer a tais temperaturas são chamados:
- (A) Mesófilos
(B) Psicrófilos
(C) Halófilos
(D) Termófilos
(E) Quimiolitótrofos

Respostas

1. C 3. E 5. D
2. D 4. B

REFERÊNCIAS

- Achtman M, Wagner M: Microbial diversity and the genetic nature of microbial species. *Nat Rev Microbiol* 2008;6:431.
- Amann RI, Ludwig W, Schleiffer K-H: Phylogenetic identification and in situ detection of individual microbial cells without culture. *Microbiol Rev* 1995;59:143.
- Boone DR, Castenholz RW (editors): *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology: The Archaea and the Deeply Branching and Phototrophic Bacteria*, vol. 1, 2nd ed. Springer, 2001.
- Breeze RG, Budowle B, Schutzer SE (editors): *Microbial Forensics*. Elsevier, 2005.
- Brenner DJ, Krieg NR, Staley JT (editors): Part A. Introductory essays. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology: The Proteobacteria*, vol 2. Springer, 2005.
- Brenner DJ, Krieg NR, Staley JT (editors): Part B. The gammaproteobacteria. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology: The Proteobacteria*, vol 2. Springer, 2005.
- Brenner DJ, Krieg NR, Staley JT (editors): Part C. The alpha-, beta-, delta-, and epsilonproteobacteria. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology: The Proteobacteria*, vol 3. Springer, 2005.
- Colwell RR, Grimes DJ (editors): *Nonculturable Microorganisms in the Environment*. ASM Press, 2000.
- Curtis TP, Sloan WT, Scannell JW: Estimating prokaryotic diversity and its limits. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2002;99:10494.
- Edman JC et al.: Ribosomal RNA sequence shows *Pneumocystis carinii* to be a member of the fungi. *Nature (London)* 1988;334:519.
- Fernandez LA: Exploring prokaryotic diversity: There are other molecular worlds. *Molec Microbiol* 2005;55:5–15.
- Fredericks DN, Relman DA: Sequence-based identification of microbial pathogens: A reconsideration of Koch's postulates. *Clin Microbiol Rev* 1996;9:18.
- Holt JG et al. (editors): *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*, 9th ed. Williams & Wilkins, 1994.
- Medini D et al.: Microbiology in the post-genomic era. *Nat Rev Microbiol* 2008;6:429.
- Persing DH et al. (editors): *Molecular Microbiology. Diagnostic Principles and Practice*. ASM Press, 2004.
- Riley LW: *Molecular Epidemiology of Infectious Diseases. Principles and Practices*. ASM Press, 2004.
- Rosello-Mora R, Amann R: The species concept for prokaryotes. *FEMS Microbiol Rev* 2001;25:39.
- Schloss PD, Handelsman J: Status of the microbial census. *Microbiol Molec Biol Rev* 2004;68:686.
- Stringer JR et al.: A new name (*Pneumocystis jiroveci*) for *Pneumocystis* from humans. *Emerg Infect Dis* 2002;8:891.
- Whitman WB, Coleman DC, Wiebe WJ: Prokaryotes: The unseen majority. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1998;95:6578.

Crescimento, sobrevivência e morte dos microrganismos

SOBREVIDA DOS MICRORGANISMOS NO AMBIENTE NATURAL

A população de microrganismos na biosfera permanece aproximadamente constante, visto que o crescimento microbiano é contrabalanceado pela sua própria morte. A sobrevivência de qualquer grupo microbiano em um nicho específico é, em última análise, influenciada pela competição bem-sucedida por nutrientes e pela manutenção de um reservatório de células vivas, frequentemente composto por células hospedeiras e por diferentes microrganismos. Consequentemente, o entendimento da competição pelos recursos nutricionais dentro de um dado microambiente é essencial para compreensão sobre o crescimento, sobrevivência e a evolução das espécies bacterianas (também conhecido como fisiologia).

A maior parte do conhecimento adquirido sobre a fisiologia microbiana provém do estudo em laboratórios de culturas crescidas em condições ideais (excesso de nutrientes), constituindo assim a base de discussão desse capítulo. Entretanto, muitos microrganismos competem no ambiente natural em condições de estresse nutricional. Além disso, é preciso reconhecer que um nicho microbiano vazio no meio ambiente será logo preenchido por outras bactérias. De certa forma, é um dilema que os procedimentos de saúde pública ainda enfatizam a simples eliminação de microrganismos mediante a limpeza de seu nicho, uma vez que estes espaços tendem a ser preenchidos com outras espécies bacterianas. Logo, a compreensão das complexas interações que asseguram a sobrevivência de uma bactéria específica, em uma biosfera microbiana diversificada é uma questão de eficácia fisiológica.

O SIGNIFICADO DO CRESCIMENTO

O crescimento consiste no aumento ordenado da soma de todos os componentes de um organismo. O aumento de tamanho que ocorre quando uma célula capta água ou forma depósitos de lipídeos ou polissacarídeos não constitui um crescimento verdadeiro. A multiplicação celular é uma consequência do crescimento; nos organismos unicelulares, o crescimento leva a um aumento no número de indivíduos que compõem uma população ou cultura.

Determinação das concentrações microbianas

As concentrações microbianas podem ser medidas em termos de concentração celular (o número de células viáveis por

unidade de volume de cultura) ou de concentração de biomassa (peso seco de células por unidade de volume de cultura). Esses dois parâmetros nem sempre são equivalentes, visto que o peso seco médio da célula varia em diferentes estágios da vida de uma cultura. Tampouco têm significado idêntico: em estudos de genética microbiana e de inativação microbiana, a concentração celular constitui fator significativo; já em estudos de bioquímica ou nutrição microbiana, o fator significativo passa a ser a concentração de biomassa.

A. Concentração celular

A contagem de células viáveis (Quadro 4.1) em geral, é considerada uma medida da concentração celular. Para muitos propósitos, a turvação de uma cultura, medida por métodos fotométricos, pode estar relacionada com a contagem viável na forma de uma **curva-padrão**. Como alternativa, é possível uma estimativa visual aproximada. Por exemplo, uma suspensão pouco turva de *Escherichia coli* contém cerca de 10^7 células por mililitro, enquanto uma suspensão bastante turva contém cerca de 10^8 células por mililitro. Quando se utilizam medidas turbidimétricas, a correlação entre a turvação e a contagem de células viáveis pode variar durante o crescimento e a morte de uma cultura; as células podem perder a viabilidade sem produzirem perda na turvação da cultura.

B. Densidade da biomassa

Em princípio, a biomassa pode ser medida diretamente ao se determinar o peso seco de uma cultura microbiana após sua lavagem com água destilada. Na prática, esse procedimento é trabalhoso, e o pesquisador geralmente prepara uma curva-padrão que relaciona o peso seco com a turvação. Como alternativa, pode-se estimar indiretamente a concentração da biomassa ao medir-se um importante componente celular, como as proteínas, ou determinar-se o volume ocupado pelas células que se sedimentaram na suspensão.

CRESCIMENTO EXPONENCIAL

A constante da velocidade de crescimento

A velocidade de crescimento das células não limitada por nutrientes é de primeira ordem: a velocidade de crescimento (medida em gramas de biomassa produzida por hora) é o produto

QUADRO 4.1 Exemplo de contagem viável

Diluição	Contagem em placa ^a
Não diluído	Muito numerosa para contar
10 ⁻¹	Muito numerosa para contar
10 ⁻²	510
10 ⁻³	72
10 ⁻⁴	6
10 ⁻⁵	1

^a Cada contagem corresponde à média de três placas (triplicata).

do tempo (t), da constante da velocidade de crescimento (k), e da concentração da biomassa, B :

$$\frac{dB}{dt} = kB \quad (1)$$

O rearranjo da equação (1) demonstra que a constante da velocidade de crescimento é aquela em que as células produzem mais células:

$$k = \frac{Bdt}{dB} \quad (2)$$

Uma constante da velocidade de crescimento de 4,3 h⁻¹, uma das mais altas registradas, significa que cada grama de células produz 4,3 g de células por hora durante esse período de crescimento. Os microrganismos de crescimento lento podem apresentar constantes de velocidade de crescimento muito baixas, de até 0,02 h⁻¹. Com essa constante de crescimento, cada grama de células da cultura produz 0,02 g de células por hora.

A integração da equação (1) fornece

$$\ln \frac{B_1}{B_0} = 2,3 \log_{10} \frac{B_1}{B_0} = k(t_1 - t_0) \quad (3)$$

O logaritmo natural da relação entre B_1 (a biomassa no tempo 1 [t_1]) e B_0 (a biomassa no tempo zero [t_0]) é igual ao produto da constante da velocidade de crescimento (k) e à diferença no tempo ($t_1 - t_0$). O crescimento que obedece à equação (3) é denominado exponencial porque a biomassa aumenta exponencialmente com relação ao tempo. Correlações lineares de crescimento exponencial são produzidas através da representação gráfica do logaritmo da concentração da biomassa (B) como uma função do tempo (t).

Cálculo da constante da velocidade de crescimento e previsão da quantidade de crescimento

As bactérias se reproduzem por divisão binária, e o tempo médio necessário para que a população ou a biomassa duplique é conhecido como **tempo de geração** ou **tempo de duplicação** (t_d). Em geral, o t_d é determinado ao traçar-se um gráfico da quantidade de crescimento em uma escala semilogarítmica em

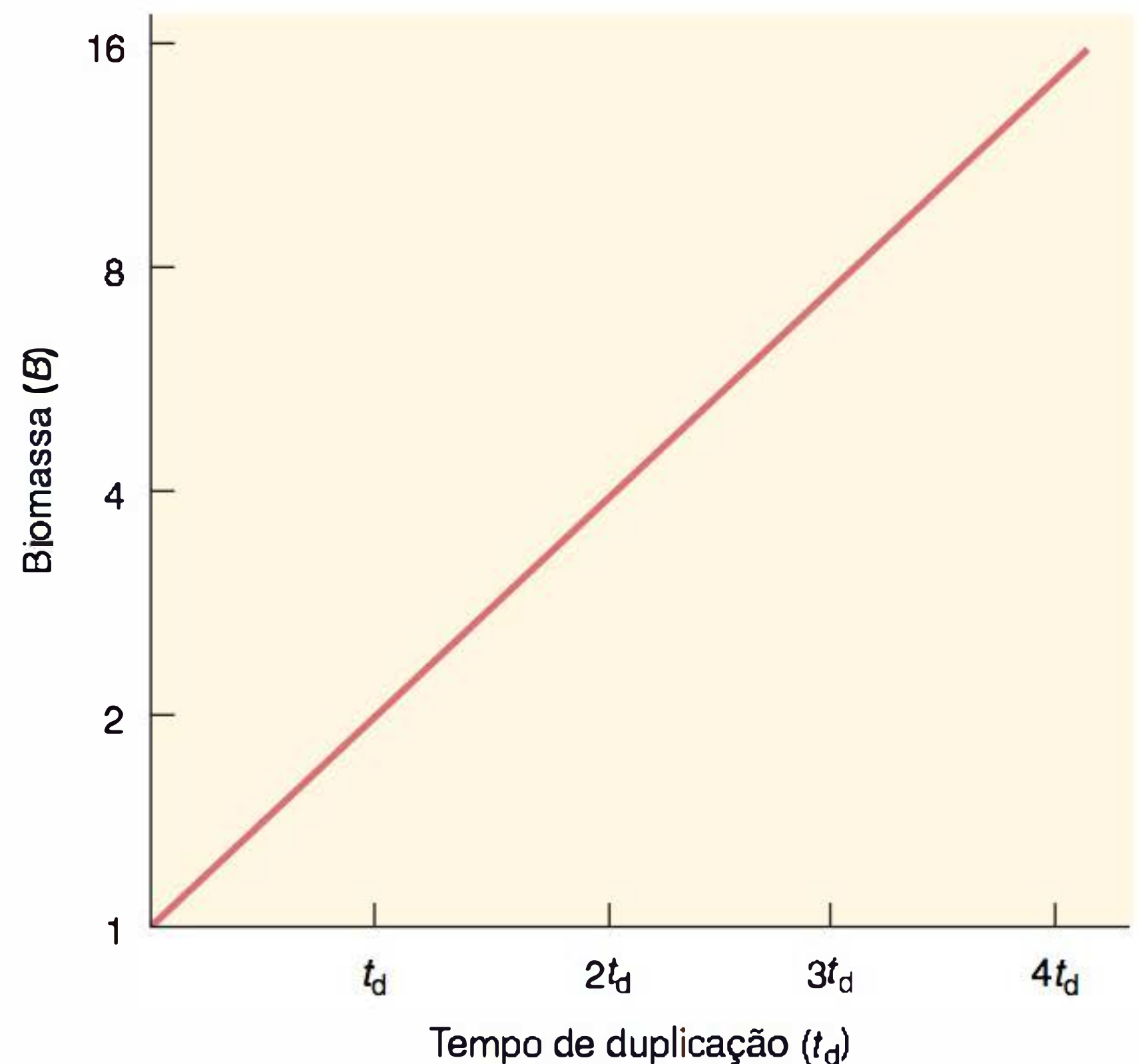


FIGURA 4.1 Crescimento exponencial. A biomassa (B) duplica a cada tempo de duplicação (t_d).

função do tempo; o tempo necessário para duplicar a biomassa é t_d (Fig. 4.1). A constante da velocidade de crescimento pode ser calculada a partir do tempo de duplicação ao substituímos B_1/B_0 pelo valor 2 e $t_1 - t_0$ por t_d na equação (3), o que resulta em

$$\ln 2 = kt_d$$

$$k = \frac{\ln 2}{t_d} \quad (4)$$

Um tempo de duplicação rápido corresponde a uma alta constante da velocidade de crescimento. Por exemplo, um tempo de duplicação de 10 minutos (0,17 h) corresponde a uma constante da velocidade de crescimento de 4,1 h⁻¹. O tempo de duplicação relativamente longo de 35 h indica a uma constante da velocidade de crescimento de 0,02 h⁻¹.

A constante da velocidade de crescimento calculada pode ser utilizada para se determinar a quantidade de crescimento que ocorrerá em um período específico ou calcular o tempo necessário para que ocorra um aumento específico de crescimento.

A quantidade de crescimento em um período específico pode ser prevista com base no seguinte rearranjo da equação (3):

$$\log_{10} \frac{B_1}{B_0} = \frac{k(t_1 - t_0)}{2,3} \quad (5)$$

É possível determinar a quantidade de crescimento que ocorrerá se uma cultura com constante de velocidade de crescimento de 4,1 h⁻¹ crescer exponencialmente durante 5 h:

$$\log_{10} \frac{B_1}{B_0} = \frac{4,1 \text{ h}^{-1} \times 5 \text{ h}}{2,3} \quad (6)$$

Nesse exemplo, o aumento da biomassa é de 10⁹; uma única célula bacteriana com peso seco de 2 × 10⁻¹³ g originaria

0,2 mg de biomassa, quantidade que povoaria densamente uma cultura de células de 5 mL. Obviamente, essa velocidade de crescimento não pode ser mantida por muito tempo. Um período adicional de 5 h de crescimento a essa velocidade produziria 200 kg de peso seco de biomassa, ou aproximadamente uma tonelada de células.

Outro rearranjo da equação (3) permite-nos calcular a quantidade de tempo necessária para que ocorra uma quantidade específica de crescimento. Na equação (7) a concentração de biomassa, B , é substituída pela concentração celular, N , para possibilitar o cálculo do tempo necessário para que haja um aumento específico no número de células.

$$t_1 - t_0 = \frac{2,3 \log_{10}(N_1/N_0)}{k} \quad (7)$$

Utilizando a equação (7), é possível, por exemplo, determinar o tempo necessário para que um organismo de crescimento lento com constante da velocidade de crescimento de $0,02 \text{ h}^{-1}$ cresça de uma única célula até uma suspensão celular pouco turva com concentração de 10^7 células/mililitro.

$$t_1 - t_0 = \frac{2,3 \times 7}{0,02 \text{ h}^{-1}} \quad (8)$$

A solução da equação (8) revela que seriam necessárias cerca de 800 h — pouco mais de 1 mês — para que ocorresse tal quantidade de crescimento. A sobrevivência dos microrganismos de crescimento lento implica que a corrida pela sobrevivência biológica nem sempre se baseia na velocidade — as espécies que crescem competem com êxito por nutrientes e evitam sua destruição por predadores e outros riscos ambientais.

A CURVA DE CRESCIMENTO

Se um volume fixo de meio líquido for inoculado com células microbianas retiradas de uma cultura que previamente cresceu até a saturação e o número de células viáveis por mililitro for determinado periodicamente, bem como representado em forma de gráfico, em geral se obtém uma curva do tipo

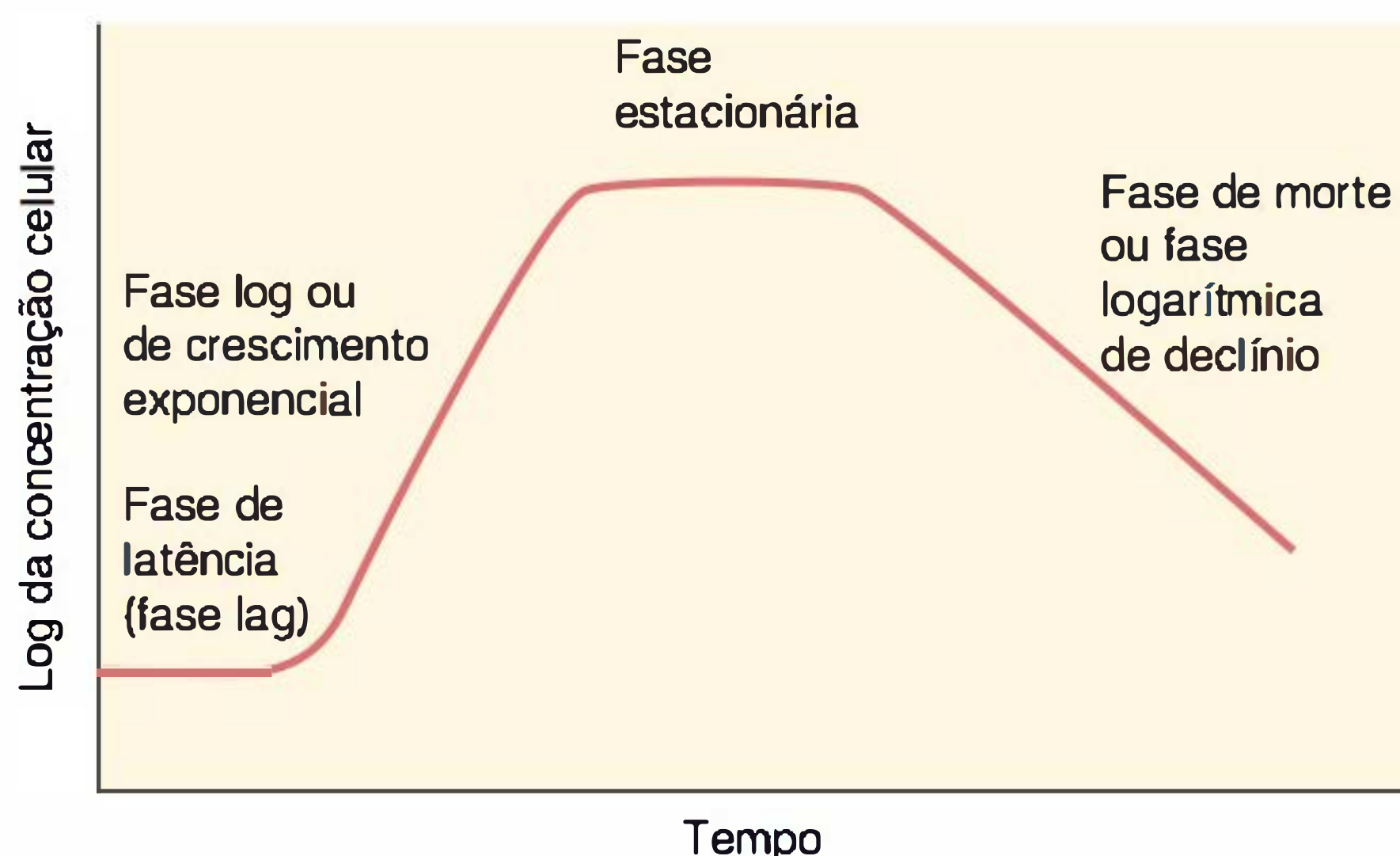


FIGURA 4.2 Curva de crescimento bacteriano.

QUADRO 4.2 Fases da curva de crescimento bacteriano

Fase	Taxa de crescimento
Latência	Zero
Exponencial	Constante
Estacionária máxima	Zero
Declínio	Negativa (morte)

apresentado na Figura 4.2. As fases da curva de crescimento bacteriano mostradas na Figura 4.2 são reflexões dos eventos em uma população de células, e não em células individuais. Esse tipo de cultura é classificado como **cultura em batelada**. Uma típica curva de crescimento pode ser analisada em quatro fases (Quadro 4.2). A cultura em batelada é um sistema fechado com recursos limitados, sendo muito diferente de um hospedeiro humano.

A fase de latência (fase lag)

A fase de latência representa um período durante o qual as células, com depleção de seus metabólitos e enzimas, em consequência das condições desfavoráveis existentes no final de sua cultura anterior, adaptam-se ao seu novo ambiente. Verifica-se a formação de enzimas e intermediários que se acumulam até alcançarem concentrações suficientes para permitir o reinício do crescimento.

Se as células forem obtidas de um meio totalmente diferente, às vezes ocorre de serem geneticamente incapazes de crescer no novo meio. Nesses casos, poderá ocorrer uma fase de latência longa no crescimento, representando o período necessário para que alguns mutantes presentes no inóculo possam multiplicar-se o suficiente para produzirem um aumento efetivo e aparente no número de células.

A fase exponencial

Durante a fase exponencial, as células encontram-se em estado de equilíbrio dinâmico. Novo material celular está sendo sintetizado a uma velocidade constante, porém o novo material é, em si, catalítico, e a massa aumenta de modo exponencial. Tal situação prossegue até que ocorra uma de duas alternativas: esgotamento de um ou mais nutrientes no meio, ou acúmulo de produtos metabólicos tóxicos que inibem o crescimento. No caso dos microrganismos aeróbios, o oxigênio costuma ser o nutriente que se torna limitante. Quando a concentração de células ultrapassa cerca de 1×10^7 /mL (no caso das bactérias), a velocidade de crescimento diminui, a não ser que seja acrescentado oxigênio ao meio por agitação ou por borbulhamento de ar. Quando a concentração bacteriana atinge 4 a 5×10^9 /mL, a velocidade de difusão do oxigênio não consegue suprir as demandas mesmo em um meio de cultura arejado, o que retarda progressivamente o crescimento.

A fase estacionária máxima

Por fim, a exaustão de nutrientes ou o acúmulo de produtos tóxicos resulta em interrupção completa do crescimento.

Entretanto, na maioria dos casos ocorre renovação celular na fase estacionária: verifica-se uma lenta perda de células por morte, compensada pela formação de novas células por crescimento e divisão. Quando isso ocorre, a contagem total de células aumenta lentamente, embora a contagem viável permaneça constante.

A fase de declínio: a fase de morte

Depois de um período na fase estacionária, que varia de acordo com o microrganismo e as condições de cultura, a velocidade de morte aumenta até atingir o nível de equilíbrio dinâmico. A matemática da morte no estado de equilíbrio dinâmico será discutida adiante. Na maioria dos casos, a taxa de morte celular é mais lenta do que o crescimento exponencial. Com frequência, após ocorrer a morte da maioria das células, a velocidade de morte diminui drasticamente, de modo que um pequeno número de sobreviventes pode persistir durante meses ou mesmo anos. Em alguns casos, essa persistência pode refletir renovação celular com o crescimento de algumas células à custa dos nutrientes liberados pelas células que morrem e sofrem lise.

Acredita-se que um fenômeno, no qual as células são chamadas **viáveis, mas não cultiváveis (VMNC)**, seja resultado de uma resposta genética desencadeada pela privação de nutrientes na fase estacionária. Assim como algumas bactérias formam esporos como mecanismo de sobrevivência, outras são capazes de se tornar dormentes, sem alteração em sua morfologia. Quando as condições adequadas estão disponíveis (p. ex., migração direta de um animal) os micróbios VMNC retomam o crescimento.

MANUTENÇÃO DAS CÉLULAS NA FASE EXPONENCIAL

As células podem ser mantidas na fase exponencial mediante sua repetida transferência em meio de cultura fresco de composição idêntica, enquanto ainda estão crescendo de modo exponencial. Esse processo é conhecido como **cultura contínua**; o aparelho de cultura contínua de uso mais comum é um quimiostato. Uma cultura contínua é mais similar às condições encontradas pelos microrganismos no mundo real (p. ex., corpo humano) onde os nutrientes são constantemente substituídos.

O quimiostato

O quimiostato consiste em um recipiente de cultura equipado com um sifão de fluxo e um mecanismo de gotejamento no meio de cultura fresco a partir de um reservatório, a uma velocidade controlada. O meio de cultura no recipiente é agitado por uma corrente de ar estéril; cada gota do meio de cultura fresco que entra determina a saída de uma gota da cultura pelo sifão.

O meio é preparado de modo que um nutriente limite o crescimento. O recipiente é inoculado e as células crescem até a exaustão do nutriente limitante; em seguida, o meio de cultura fresco do reservatório flui a uma velocidade tal que as células utilizam o nutriente limitante à mesma velocidade com que ele é fornecido. Nessas condições, a concentração celular permanece constante, e a velocidade de crescimento é diretamente proporcional à velocidade de fluxo do meio.

Biofilmes

Tem sido cada vez mais reconhecido, que muitas infecções são causadas por bactérias que não crescem individualmente (ou planctonicamente). Em vez disso, as células bacterianas crescem em comunidades complexas em que comunicam-se entre si. É rotina, por exemplo, escovar os dentes todos os dias para remover a película de bactérias que cresce continuamente, até mesmo enquanto se dorme. De forma similar, os biofilmes estão associados a infecções pulmonares causadas por *Pseudomonas aeruginosa* e à colonização de cisternas de hospitais por *Legionella pneumophila*, entre outros. Esse padrão de crescimento começa com uma única célula bacteriana, que se adere a uma determinada superfície. Em seguida, essa célula se autorreplica, sucessivamente, ou ocorre o recrutamento de outras espécies bacterianas na estrutura colonial em formação.

O reconhecimento desse padrão de crescimento tem sido amplamente estudado. A estratégia conceitual da formação do biofilme tem um sentido lógico: (1) através do crescimento bacteriano na forma de camadas sucessivas, as bactérias iniciais (presentes nas camadas mais internas do biofilme) são menos suscetíveis a ação do sistema imune e a (2) penetração de antimicrobianos, que são protegidas pelo crescimento bacteriano das camadas mais externas. O estudo dos biofilmes *in vitro* e *in vivo* é uma ciência em constante evolução.

DEFINIÇÃO E MEDIDA DA MORTE

O significado da morte

Para uma célula microbiana, a morte significa perda irreversível da capacidade de reprodução (crescimento e divisão). O teste empírico de morte consiste em uma cultura de células em meios sólidos: uma célula é considerada morta se não conseguir formar uma colônia em qualquer meio. Naturalmente, a confiabilidade do teste depende da escolha do meio de cultura e das condições: uma cultura em que 99% das células parecem “mortas”, em termos de sua capacidade de formar colônias em determinado meio, poderá mostrar-se 100% viável se for testada em outro meio. Além disso, a detecção de algumas células viáveis em uma amostra clínica grande pode não ser possível por semeadura direta, visto que o seu líquido pode ser inibitório para o crescimento microbiano. Em tais circunstâncias, pode ser necessário diluir inicialmente a amostra em meio líquido, permitindo o crescimento das células viáveis antes de tal semeadura.

As condições de incubação na primeira hora após o tratamento também são decisivas para a determinação da “morte”. Assim, por exemplo, se as células bacterianas forem irradiadas com luz ultravioleta e semeadas imediatamente em qualquer meio de cultura, poderá parecer que 99,99% delas foram destruídas. Entretanto, se essas células irradiadas forem inicialmente incubadas em tampão apropriado durante 20 minutos, a semeadura indicará que apenas 10% delas morreram. Em outras palavras, a irradiação determina que uma célula “morrerá” se for semeada imediatamente, mas pode sobreviver se tiver a oportunidade de proceder ao reparo da lesão por irradiação antes de sua semeadura.

Por conseguinte, uma célula microbiana não fisicamente rompida está “morta” apenas em termos das condições utilizadas para testar sua viabilidade.

A medida da morte

Quando se trata de microrganismos, não se costuma determinar a morte de cada célula, mas de uma população. Esse aspecto constitui um problema estatístico: em qualquer condição passível de levar à morte celular, a probabilidade de determinada célula morrer é constante por unidade de tempo. Por exemplo, se for utilizada uma condição capaz de provocar a morte de 90% das células nos primeiros 10 minutos, a probabilidade de que qualquer célula morra em um intervalo de 10 minutos será de 0,9. Por conseguinte, pode-se esperar que 90% das células sobreviventes irão morrer a cada intervalo sucessivo de 10 minutos, obtendo-se uma curva de morte semelhante as curvas mostradas na Figura 4.3.

Assim, o número de células que morrem a cada intervalo de tempo constitui uma função do número de sobreviventes presentes, de modo que a morte de uma população segue um processo exponencial de acordo com a fórmula geral

$$S = S_0 e^{-kt} \quad (9)$$

em que S_0 é o número de sobreviventes no tempo zero, e S , o número de sobreviventes em qualquer momento posterior t . Como no caso do crescimento exponencial, $-k$ representa a velocidade de morte exponencial quando a fração $\ln(S/S_0)$ é representada graficamente com relação ao tempo.

A curva de impacto único mostrada na Figura 4.3A é típica da cinética de inativação observada em muitos agentes antimicrobianos. O fato de ser uma linha reta a partir do tempo zero (dose zero) — em lugar de exibir um desvio inicial — significa que um único “impacto” pelo agente inativador é suficiente para matar a célula, ou seja, apenas um único alvo precisa ser lesionado para que toda a célula seja inativada. Esse alvo pode ser o cromossomo de uma bactéria haploide ou uma membrana celular, mas não pode ser uma enzima ou outro componente celular presente em várias cópias.

Uma célula que contenha várias cópias do alvo a ser inativado exibe curva de múltiplo impacto do tipo apresentado na Figura 4.3B. A extrapolação da porção reta da curva na ordenada permite uma estimativa do número de alvos (p. ex., 4 na Figura 4.3B).

Esterilização

Na prática, define-se “esterilização” como processo de destruição de todos os microrganismos em uma preparação. Entretanto, com base nas considerações expostas anteriormente, percebe-se que nenhum conjunto de condições assegura a esterilização de uma preparação. Considere a situação exemplificada na Figura 4.3. Aos 60 minutos, existe um microrganismo (10^0) por mililitro. Aos 70 minutos, haveria 10^{-1} , aos 80 minutos, 10^{-2} e assim por diante. Logo, pode-se dizer que em uma solução contendo uma concentração de 10^{-2} microrganismos por mililitro, em um volume total de 100 mL, haveria um microrganismo sobrevivente. Quanto tempo, então, seria necessário para “esterilizar” a cultura? Tudo que pode-se dizer é que, após dado período de tratamento, a probabilidade de haver quaisquer microrganismos sobreviventes em 1 mL é aquela apresentada pela curva na Figura 4.3. Após 2 h, no exemplo citado, a probabilidade é de 1×10^{-6} . Em geral, isso é considerado

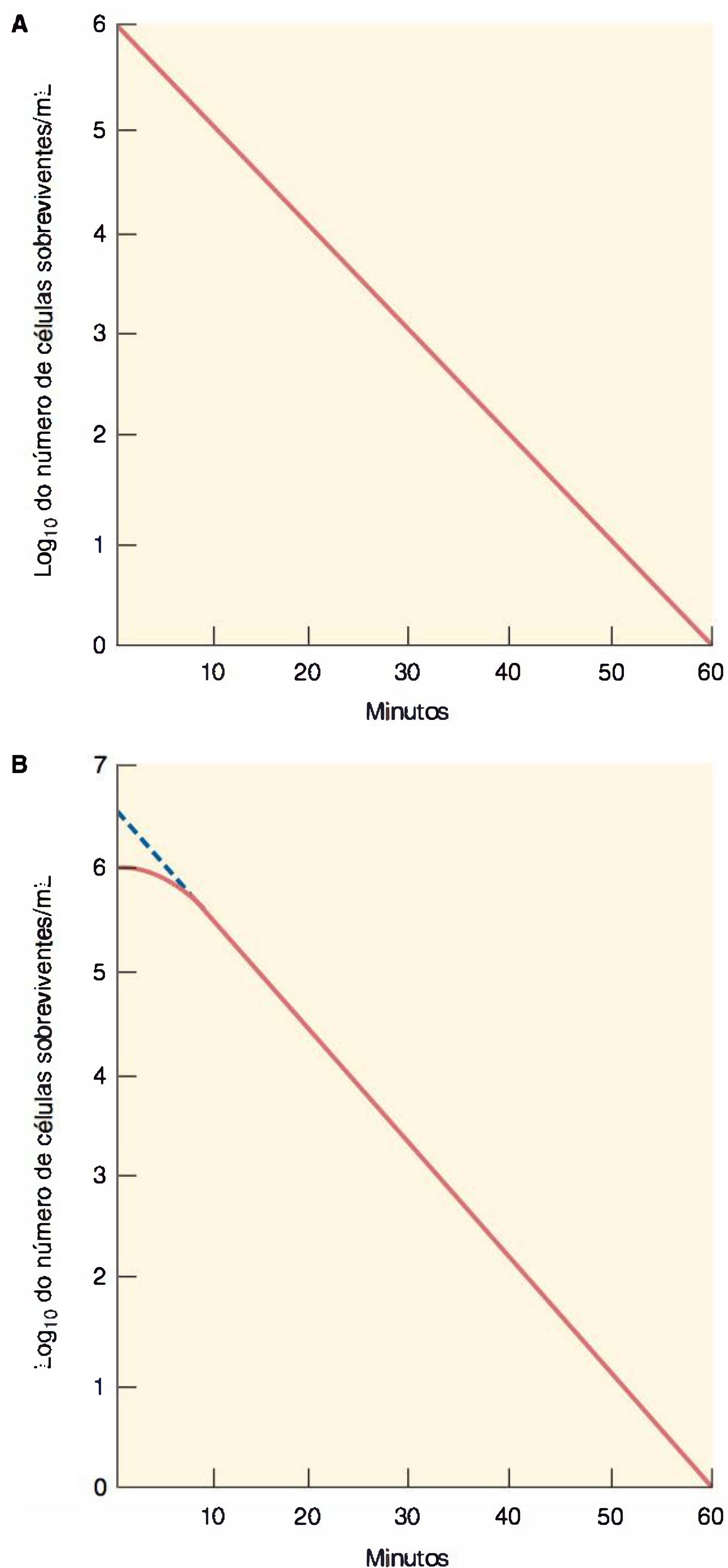


FIGURA 4.3 Curva da morte de uma suspensão de 10^6 organismos viáveis por mililitro. (A) Curva de impacto único. (B) Curva de múltiplo impacto. A porção da linha reta extrapolada para 6,5 corresponde a 4×10^6 células. Portanto, o número de alvos é de 4×10^6 , ou quatro por célula.

um tempo seguro de esterilização. Entretanto, um volume de 1.000 mL pode conter ainda um microrganismo viável.

Observe que esses cálculos dependem de a inclinação da curva permanecer inalterada durante todo o período decorrido. Infelizmente, é muito comum que a curva se incline para cima depois de certo período, em virtude da heterogeneidade da população quanto à sua sensibilidade ao agente inativador. As extrapolações são perigosas e podem levar a erros, como os encontrados nas primeiras preparações da vacina estéril contra a pólio.

O efeito da concentração do fármaco

Quando são utilizadas substâncias antimicrobianas (fármacos) para inativar as células microbianas, é comum verificar-se que a concentração empregada está relacionada com o tempo necessário para destruir determinada fração da população através da seguinte expressão:

$$C^n t = K \quad (10)$$

Nesta equação, C é a concentração do fármaco, t o tempo necessário para destruir determinada fração das células, e n e K são constantes.

Tal expressão mostra que, por exemplo, se $n = 6$ (como no caso do fenol), a duplicação da concentração do fármaco irá reduzir o tempo necessário para se obter o mesmo grau de inativação 64 vezes. O fato de a eficácia de um fármaco variar de acordo com a sexta potência da concentração, sugere serem necessárias seis moléculas dele para inativar uma célula, embora não haja evidências químicas diretas que corroborem essa conclusão.

Para se determinar o valor de n de qualquer fármaco, são obtidas curvas de inativação para cada uma das várias concentrações, determinando-se o tempo necessário, em cada concentração, para inativar uma fração fixa da população. Por exemplo, considere-se C_1 a primeira concentração utilizada e t_1 o tempo necessário para inativar 99% das células, bem como C_2 e t_2 a segunda concentração e o tempo necessário para inativar 99% das células. A partir da equação (10), verifica-se que

$$C_1^n t_1 = C_2^n t_2 \quad (11)$$

Resolvendo a partir de n , tem-se

$$n = \frac{\log t_2 - \log t_1}{\log C_1 - \log C_2} \quad (12)$$

Por conseguinte, é possível determinar n medindo a inclinação da linha que resulta quando o $\log t$ é representado graficamente contra o $\log C$ (Fig. 4.4). Se n for determinado experimentalmente dessa maneira, K poderá ser determinado ao substituir os valores observados para C , t e n na equação (10).

AGENTES ANTIMICROBIANOS

Definições

Os termos a seguir são comumente utilizados com relação aos antimicrobianos e seus usos.

A. Biocida

É um agente químico ou físico, em geral de amplo espectro, que inativa microrganismos (Quadro 4.3). Os químicos incluem o peróxido de hidrogênio, fenóis, alcoóis, hipoclorito de sódio e clorexidina; e os biocidas físicos incluem o calor e a radiação. Os biocidas geralmente são de largo espectro, em contraste com os anti-infecciosos, que têm um espectro de atividade antimicrobiana mais restrito.

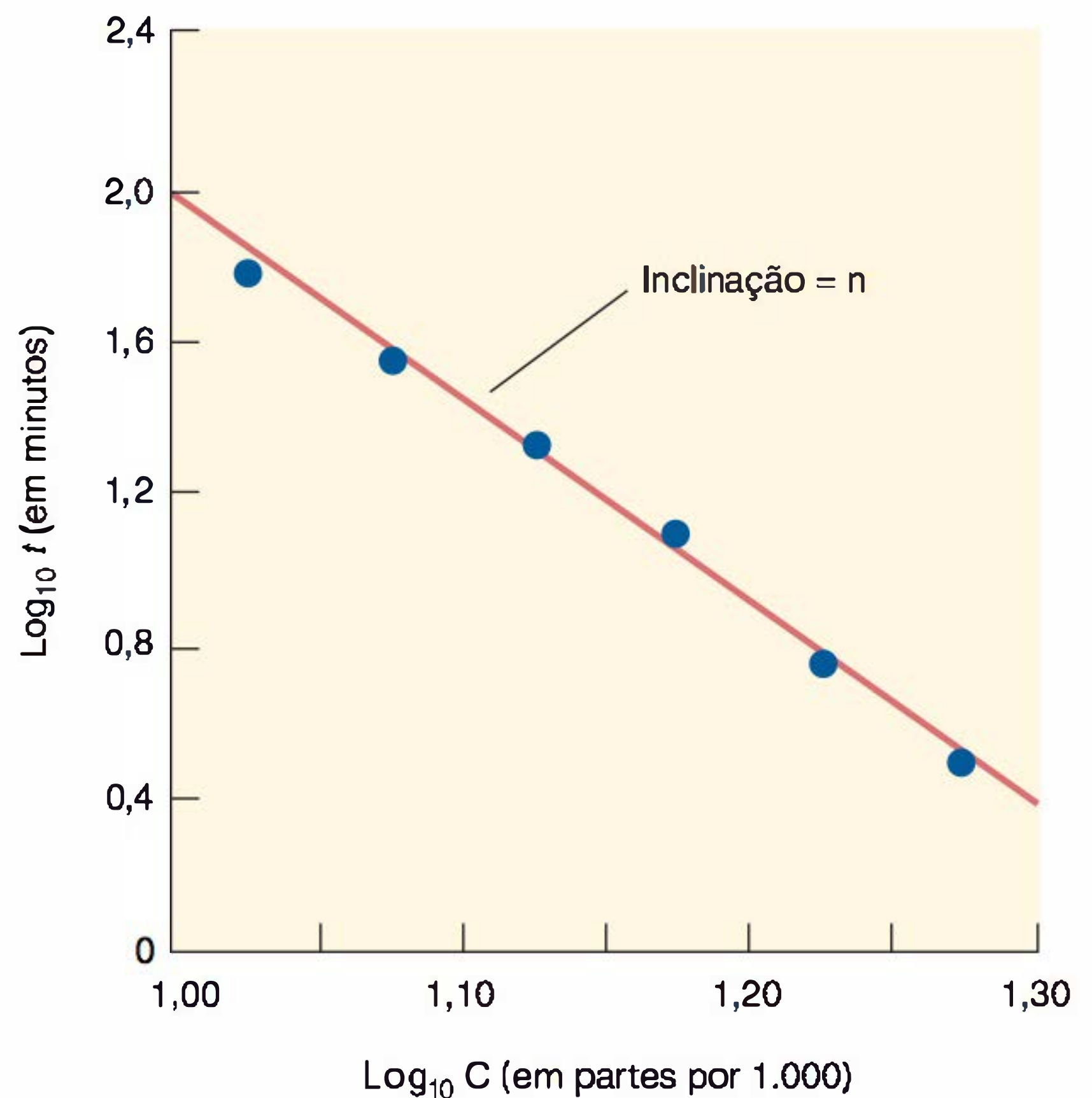


FIGURA 4.4 Relação entre a concentração do fármaco e o tempo necessário para destruir determinada fração de população celular.

B. Bacteriostático

Termo referente à propriedade pela qual um agente biocida tem a capacidade de inibir a multiplicação bacteriana que recomeça com a retirada do agente. (Os termos “fungistático” e “esporostático” referem-se aos biocidas que inibem, respectivamente, o crescimento de fungos e esporos.)

C. Bactericida

Termo que se refere à propriedade pela qual um biocida é capaz de matar bactérias. A ação bactericida difere da bacteriostática apenas por ser irreversível, isto é, o microrganismo “morto” não pode mais se reproduzir mesmo após a remoção do contato com o agente. Em alguns casos, o agente provoca a lise (dissolução) das células; em outros, as células permanecem intactas, podendo mesmo continuar metabolicamente ativas. (Os termos, “fungicida”, “esporicida” e “virucida” referem-se à propriedade pela qual os biocidas são capazes de matar, respectivamente, fungos, esporos e vírus.)

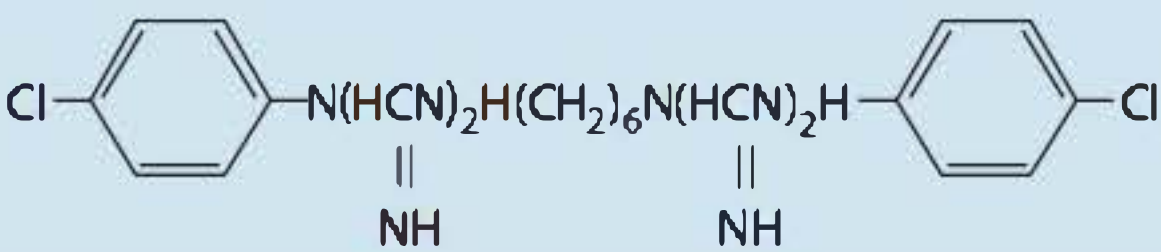
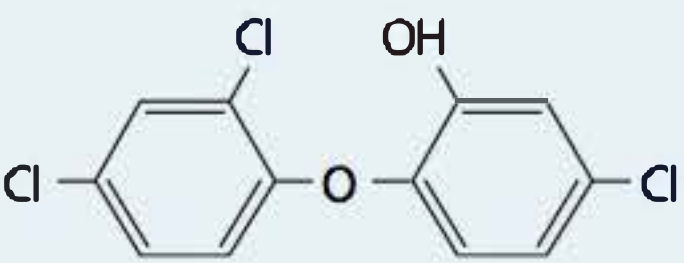
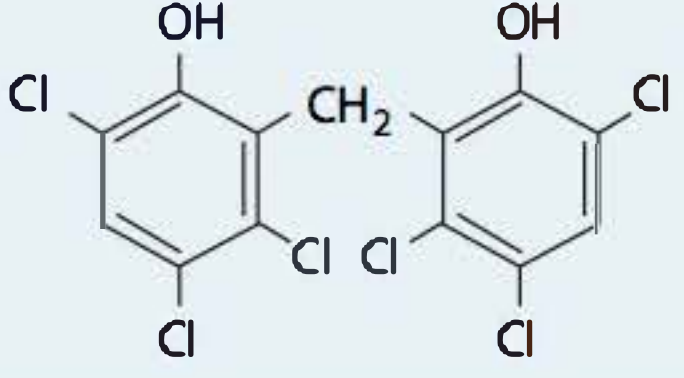
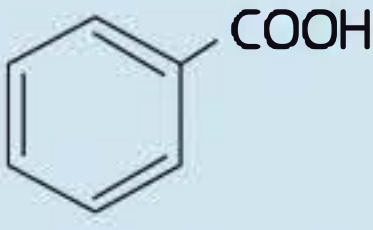
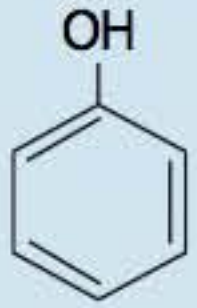
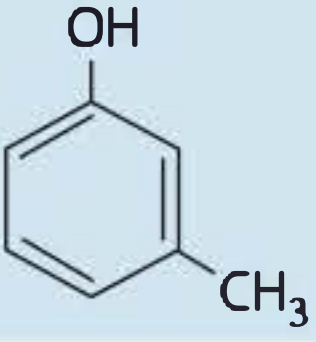
D. Esterilização

Um processo definido, utilizado para deixar uma superfície ou um produto livres de organismos viáveis, inclusive bactérias e esporos.

E. Desinfetantes

Produtos ou biocidas utilizados para reduzir o número de microrganismos viáveis, ou a carga biológica em um produto ou superfície a um nível previamente especificado como apropriado para seu manuseio ou sua posterior utilização. Os desinfetantes não são necessariamente esporicidas, mas mostram-se esporostáticos, inibindo a germinação ou o crescimento.

QUADRO 4.3 Alguns biocidas usados em antissepsia, desinfecção, preservação e outras finalidades

Agente	Fórmula	Usos
Alcoóis Etanol	$\text{CH}_3\text{-CHOH}$	Antissepsia, desinfecção, preservação
Isopropanol	$\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\ \\ \text{CH}_3\text{-CHOH} \end{array}$	
Aldeídos Glutaraldeído	$\begin{array}{c} \text{H} \quad \quad \quad \text{H} \\ \quad \quad \quad \\ \text{O}=\text{CCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{C}=\text{O} \end{array}$	Desinfecção, esterilização, preservação
Formaldeído	$\begin{array}{c} \text{H} \\ \\ \text{H}-\text{C}=\text{O} \end{array}$	
Biguanidas Clorexidina		Antissepsia, atividade biofilme dental, preservação, desinfecção
Bifenóis Triclosana		Antissepsia, atividade antiplaca
Hexaclorofeno		Desodorante, preservação
Agentes liberadores de halogênio Compostos clorados	$\rightarrow \text{OCl}^-, \text{HOCl}, \text{Cl}_2$	Desinfecção, antissepsia
Compostos iodados	$\rightarrow \text{I}_2$	
Derivados de metais pesados Compostos de prata	Ag	Preservação, antissepsia
Compostos de mercúrio	Hg	Desinfecção
Ácidos orgânicos Ácido benzoico		Preservação
Ácido propiônico	$\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-COOH}$	Sais de sódio ou cálcio usados para preservação
Peroxigênios Peróxido de hidrogênio	H_2O_2	Desinfecção, esterilização
Ozônio	O_3	
Ácido peracético	CH_3COOOH	
Fenóis e cresóis Fenol		Desinfecção, preservação
Cresol		
Compostos de amônio quaternário	$\left[\begin{array}{c} \text{R}^1 \quad \quad \text{R}^3 \\ \diagdown \quad \diagup \\ \text{N} \\ \diagup \quad \diagdown \\ \text{R}^2 \quad \quad \text{R}^4 \end{array} \right]^+ \text{X}^-$	Desinfecção, antissepsia, preservação

(continua)

QUADRO 4.3 Alguns biocidas usados em antissepsia, desinfecção, preservação e outras finalidades (continuação)

Agente	Fórmula	Usos
Cetrimida	$\left[\begin{array}{c} \text{H}_3\text{C} \quad \text{CH}_3 \\ \diagdown \quad / \\ \text{N} \\ / \quad \diagdown \\ \text{H}_3\text{C} \quad \text{C}_9\text{H}_{2n+1} \end{array} \right]^+ \text{Br}^-$	Desinfecção, antissepsia, preservação
Cloreto de benzalcônio	$\left[\begin{array}{c} \text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_2 \quad \text{CH}_3 \\ \diagdown \quad / \\ \text{N} \\ / \quad \diagdown \\ \text{H}_3\text{C} \quad \text{C}_9\text{H}_{2n+1} \end{array} \right]^+ \text{Cl}^-$	
Fase de vapor Óxido de etileno	$\begin{array}{c} \text{O} \\ / \quad \backslash \\ \text{H}_2\text{C} - \text{CH}_2 \end{array}$	Esterilização, desinfecção
Formaldeído	$\begin{array}{c} \text{H} \\ \\ \text{H} - \text{C} = \text{O} \end{array}$	
Peróxido de hidrogênio	H_2O_2	

F. Séptico

Caracteriza-se pela presença de micróbios patogênicos em tecido vivo ou fluidos corpóreos.

G. Antisséptico

Um biocida ou produto que destrói ou inibe o crescimento de microrganismos em tecido vivo (p. ex., pele) ou fluidos biológicos (p. ex., secreções de mucosa).

H. Asséptico

Livre de, ou que emprega métodos para ficar livre de microrganismos.

I. Preservação

Prevenção da multiplicação de microrganismos em produtos formulados, como produtos farmacêuticos e alimentos.

J. Antibióticos

Compostos orgânicos de ocorrência natural ou sintética que inibem ou destroem bactérias de maneira seletiva, geralmente a baixas concentrações.

Modos de ação**A. Dano ao DNA**

Vários agentes físicos e químicos atuam danificando o DNA. Tais agentes incluem radiações ionizantes, luz ultravioleta e substâncias químicas que reagem com o DNA. Na última categoria estão incluídos os agentes alquilantes e outros compostos que reagem de modo covalente com as bases purínicas

e pirimidínicas para formar complexos de DNA ou ligações cruzadas entre filamentos. A radiação lesiona o DNA de várias maneiras: a luz ultravioleta, por exemplo, induz a formação de ligações cruzadas entre pirimidinas adjacentes em um dos dois filamentos de polinucleotídeos, formando dímeros de pirimidina; as radiações ionizantes induzem quebras em filamentos simples ou duplos. As lesões do DNA induzidas pela radiação ou por agentes químicos destroem a célula principalmente por interferir na replicação do DNA. Ver no Capítulo 7 uma discussão sobre os sistemas de reparo do DNA.

B. Desnaturação das proteínas

As proteínas ocorrem em um estado tridimensional compactado, determinado primariamente, por ligações covalentes de dissulfeto intramoleculares e por várias interações não covalentes, como ligações iônicas, hidrofóbicas e de hidrogênio ou ligações covalente dissulfeto. Esse estado, denominado estrutura terciária da proteína, é facilmente desorganizado por diversos agentes físicos (p. ex., calor) ou químicos (p. ex., álcool), resultando em uma proteína não funcional. A ruptura da estrutura terciária de uma proteína é denominada desnaturação proteica.

C. Ruptura da membrana ou da parede celular

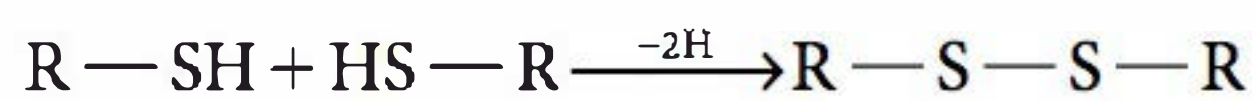
A membrana celular atua como barreira seletiva (melhor caracterizada como uma rede de pesca), permitindo a passagem de alguns solutos e excluindo outros. Muitos compostos são transportados ativamente através da membrana, concentrando-se no interior da célula. A membrana também constitui o local das enzimas envolvidas na biossíntese de componentes do envelope celular. As substâncias que se concentram na superfície celular podem alterar as propriedades físicas e químicas da membrana, impedindo o desempenho de suas funções

normais e, portanto, destruindo ou inibindo a viabilidade da célula.

A parede celular atua como estrutura de sustentação (melhor caracterizada como uma rede de pesca) protegendo a célula contra a lise osmótica. Assim, os agentes que destroem a parede celular (p. ex., lisozima, que cliva ligações glicosídicas) ou impedem sua síntese normal (p. ex., penicilina, que interrompe as ligações cruzadas peptídicas) podem provocar a lise celular.

D. Ruptura dos grupos sulfidril livres

As enzimas que contêm cisteína possuem cadeias laterais que terminam em grupos sulfidril. Além disso, as coenzimas, como a coenzima A e o diidrolipoato, contêm grupos sulfidril livres. Tais enzimas e coenzimas não podem funcionar, a não ser que os grupos sulfidril permaneçam livres e no estado reduzido. Por conseguinte, os agentes oxidantes interferem no metabolismo, formando ligações de dissulfeto entre grupos sulfidril vizinhos:



Muitos metais, como o íon mercúrico, também interferem ao se combinarem com grupos sulfidril. Existem muitas enzimas sulfidrílicas na célula; por conseguinte, os agentes oxidantes e os metais pesados provocam lesão disseminada.

E. Antagonismo químico

A interferência de um agente químico na reação normal entre uma enzima e seu substrato é conhecida como *antagonismo químico*. O antagonista atua ao combinar-se com alguma parte da holoenzima (a apoenzima proteica, o ativador mineral ou a coenzima), impedindo assim a fixação do substrato normal. (O termo *substrato* é usado aqui no sentido amplo para incluir os casos em que o inibidor se combina com a apoenzima, impedindo assim a ligação com a coenzima.)

Um antagonista combina-se com uma enzima em virtude de sua afinidade química por um local essencial existente na enzima. As enzimas desempenham sua função catalítica em virtude de sua afinidade por seus substratos naturais; por conseguinte, qualquer composto estruturalmente semelhante ao substrato em certos aspectos essenciais também pode exibir afinidade pela enzima. Se essa afinidade for intensa o suficiente, o “análogo” irá deslocar o substrato normal e impedir a ocorrência da reação apropriada.

Muitas holoenzimas incluem um íon mineral como ponte entre a enzima e a coenzima ou entre a enzima e o substrato. As substâncias químicas que se combinam facilmente com esses minerais também impedem a ligação da coenzima ou do substrato; por exemplo, o monóxido de carbono e o cianeto combinam-se com o átomo de ferro nas enzimas que contêm heme, impedindo sua função na respiração.

Os antagonistas químicos podem ser convenientemente classificados em duas categorias: (a) antagonistas de processos produtores de energia e (b) antagonistas de processos de biossíntese. Os primeiros incluem venenos que afetam as enzimas respiratórias (monóxido de carbono, cianeto) e a fosforilação oxidativa (dinitrofenol); os últimos incluem análogos das unidades formadoras das proteínas (aminoácidos) e dos

ácidos nucleicos (nucleotídeos). Em alguns casos, o análogo simplesmente impede a incorporação do metabólito normal (p. ex., o 5-metilriptofano impede a incorporação do triptofano à proteína), ao passo que, em outros casos, o análogo substitui o metabólito normal na macromolécula, tornando-a não funcional. A incorporação da *p*-fluorofenilalanina em lugar da fenilalanina em proteínas constitui um exemplo do último tipo de antagonismo.

Reversão da ação antibacteriana

Na seção sobre definições, foi assinalado que a ação bacteriostática é, por definição, reversível. Essa reversão pode ser obtida de diversas maneiras.

A. Remoção do agente

Quando as células inibidas pela presença de um agente bacteriostático são removidas por sucessivas lavagens e centrifugações do meio, contendo a substância bacteriostática, readquirem sua capacidade de multiplicação normal.

B. Reversão pelo substrato

Quando um antagonista químico do tipo análogo se liga reversivelmente à enzima, é possível deslocá-lo ao adicionar-se uma alta concentração do substrato normal. Esses casos são denominados “inibição competitiva”. A relação entre a concentração do inibidor e a concentração do substrato que reverte a inibição é denominada **índice antimicrobiano**; em geral, esse valor apresenta-se muito alto (100 a 10.000), indicando afinidade muito maior da enzima para o análogo do que para seu substrato normal.

C. Inativação do agente

Com frequência, um agente pode ser inativado mediante o acréscimo ao meio de uma substância que se combina com ele, impedindo assim sua combinação com componentes celulares. Por exemplo, o íon mercúrico pode ser inativado pelo acréscimo de compostos sulfidrílicos ao meio, como o ácido tioglicólico.

D. Proteção contra a lise

É possível evitar a ocorrência da lise osmótica ao se tornar o meio isotônico para os protoplastos bacterianos desnudos. São necessárias concentrações de sacarose de 10 a 20%. Nessas condições, os protoplastos induzidos pela penicilina (p. ex., o material vivo de uma célula bacteriana incluindo o protoplasma e membrana após a parede celular ser removida), permanecem viáveis e continuam a crescer como formas L.

Resistência aos agentes antibacterianos

A capacidade das bactérias de adquirir resistência aos antibacterianos constitui um importante fator para seu controle. Os mecanismos pelos quais a resistência é adquirida são discutidos nos Capítulos 7, Genética microbiana; e 28, Quimioterapia antimicrobiana.

Agentes físicos

A. Calor

A aplicação de calor constitui a maneira mais simples de esterilizar materiais, contanto que o próprio material seja resistente ao calor. A temperatura de 100°C irá destruir todas as formas bacterianas, exceto os esporos, em 2 a 3 minutos nas culturas em escala laboratorial. A temperatura de 121°C durante 15 minutos é usada para matar os esporos. Em geral utiliza-se o vapor, visto que as bactérias são mais rapidamente destruídas em condições úmidas e o vapor proporciona um meio de distribuição do calor em todas as partes do recipiente de esterilização. No nível do mar, o vapor deve ser mantido a uma pressão de 15 lb/sq (meia atmosfera) acima da pressão atmosférica a fim de se obter uma temperatura de 121°C; para essa finalidade, utilizam-se autoclaves ou panelas de pressão. Em altitudes maiores, a pressão pode ser superior a 15 psi para se alcançar 121°C. Para esterilizar materiais que devem permanecer secos, dispõe-se de estufas elétricas com ar quente circulante; como o calor se mostra menos eficaz em material seco, é comum a aplicação de uma temperatura de 160 a 170°C durante 1 hora ou mais.

Nessas condições (*i. e.*, temperaturas excessivas aplicadas por longos períodos), o calor atua desnaturando as proteínas e os ácidos nucleicos das células e rompendo as membranas celulares.

B. Radiação

A luz ultravioleta e a radiação ionizante têm várias aplicações como agentes esterilizantes. Seus mecanismos de ação foram discutidos anteriormente.

Agentes químicos

As estruturas químicas e os usos dos biocidas são apresentados no Quadro 4.3.

A. Alcoóis

O álcool etílico, o álcool isopropílico e o *n*-propanol exibem rápida atividade antimicrobiana de amplo espectro contra bactérias vegetativas, vírus e fungos, mas não são esporicidas. A atividade é ótima quando estes são diluídos em uma concentração com 60 a 90% de água.

B. Aldeídos

Utiliza-se o glutaraldeído para desinfecção e esterilização a baixa temperatura de endoscópios e equipamentos cirúrgicos. Normalmente, é utilizado em forma de solução a 2% para se obter atividade esporicida. O formaldeído é bactericida, esporicida e virucida.

C. Biguanidas

A clorexidina é amplamente utilizada na lavagem das mãos e de produtos orais, e como desinfetante e conservante. Em geral, as micobactérias são altamente resistentes a esses compostos, em virtude de sua parede celular rica em ácidos micólicos.

D. Bifenóis

São amplamente utilizados em sabões antissépticos e para lavagem das mãos. Em geral, são de amplo espectro, porém exibem

pouca atividade contra *Pseudomonas aeruginosa* e bolores. A triclosana e o hexaclorofeno são bactericidas e esporostáticos.

E. Agentes que liberam halogênios

Os tipos mais importantes de agentes que liberam cloro são o hipoclorito de sódio, o dióxido de cloro e o dicloroisocianurato de sódio, agentes oxidantes que têm a propriedade de destruir a atividade celular das proteínas. O ácido hipocloroso é o composto ativo responsável pelos efeitos bactericida e virucida de tais compostos. Em concentrações mais altas, esse grupo é esporicida. O iodo é fortemente bactericida, fungicida, tuberculocida, virucida e esporicida. Os iodóforos (p. ex., iodopovidona) são complexos de iodo com um agente solubilizante ou transportador, que atua como reservatório do I₂ ativo.

F. Derivados de metais pesados

A sulfadiazina de prata (Ag⁺), uma combinação de dois antibacterianos, Ag⁺ e sulfadiazina, tem amplo espectro de atividade. A ligação a componentes celulares, como o DNA, pode ser responsável pelas suas propriedades inibitórias.

G. Ácidos orgânicos

Os ácidos orgânicos são usados como preservativos na indústria farmacêutica e de alimentos. O ácido benzoico é fungistático; o ácido propiônico é bacteriostático e fungistático.

H. Peroxigênios

O peróxido de hidrogênio tem atividade de amplo espectro contra vírus, bactérias, leveduras e esporos bacterianos. A atividade esporicida exige concentrações mais altas (10 a 30%) de H₂O₂ e maior tempo de contato.

I. Fenóis

O fenol e muitos compostos fenólicos têm propriedades antissépticas, desinfetantes ou conservantes.

J. Compostos de amônio quaternário

Estes compostos têm duas regiões nas suas estruturas moleculares, ou seja, um grupo que repele a água (hidrofóbico) e outro que a atrai (hidrofílico). Os detergentes catiônicos, exemplificados pelos compostos de amônio quaternário (CAQ), são antissépticos e desinfetantes úteis. Os CAQ têm sido utilizados com várias finalidades clínicas (p. ex., desinfecção pré-operatória da pele íntegra), bem como para a limpeza de superfícies duras. São esporostáticos, e inibem o desenvolvimento dos esporos, mas não o processo de germinação em si. Os CAQ também são micobacteriostáticos e têm efeito sobre vírus com envelope lipídico, mas não sobre vírus sem envelope.

K. Esterilizantes com fase de vapor

Os dispositivos médicos e os suprimentos cirúrgicos sensíveis ao calor podem ser efetivamente esterilizados por sistemas com fase de vapor que usam óxido de etileno, formaldeído, peróxido de hidrogênio ou ácido peracético.

OBJETIVOS

1. Compreender as diferenças entre crescimento em um sistema fechado (cultura líquida), crescimento em cultura contínua e crescimento em biofilme.
2. Entender as diferenças entre conceitos bacteriostáticos e bactericidas.
3. Conhecer as condições para esterilização microbiana.
4. Ter conhecimento dos mecanismos de ação dos principais agentes desinfetantes.

QUESTÕES DE REVISÃO

1. Uma mulher de 23 anos teve dez células de *Escherichia coli* inoculadas em sua bexiga durante uma relação sexual. Essas células de *E. coli* têm um tempo de geração de 20 min. Após 20 min em fase de latência, a bactéria entra em fase exponencial de crescimento. Depois de 3 horas em fase exponencial de crescimento, o número total de células é:
 - (A) 2.560
 - (B) 5.012
 - (C) 90
 - (D) 1.028
 - (E) 1.000.000
2. Uma mulher de 73 anos é admitida em um hospital para tratamento intravenoso de abscesso causado por *Staphylococcus aureus*. Após o tratamento e a alta hospitalar, é necessário fazer a desinfecção do leito hospitalar. Mil células de *S. aureus* ficam expostas ao desinfetante. Após 10 minutos, 90% das células estão mortas. Quantas células permanecem viáveis após 20 minutos?
 - (A) 500
 - (B) 100
 - (C) 10
 - (D) 1
 - (E) 0
3. Qual dos seguintes agentes ou processos tem ação sobre as bactérias em que pode ocorrer uma reversão bacteriana?
 - (A) Um desinfetante
 - (B) Um agente bactericida
 - (C) Um agente bacteriostático
 - (D) Autoclavação a 121°C por 15 minutos
 - (E) Aquecimento a seco a 160 a 170°C por 1 hora
4. A taxa de crescimento bacteriano durante a fase exponencial do crescimento é:
 - (A) Zero
 - (B) Crescente

- (C) Constante
- (D) Decrescente
- (E) Negativa

5. A taxa de crescimento bacteriano durante o pico da fase estacionária de crescimento é:
 - (A) Zero
 - (B) Crescente
 - (C) Constante
 - (D) Decrescente
 - (E) Negativa

Respostas

- | | | |
|------|------|------|
| 1. A | 3. C | 5. A |
| 2. C | 4. C | |

REFERÊNCIAS

- Block SS (editor): *Disinfection, Sterilization, and Preservation*, 5th ed. Lippincott Williams & Wilkins, 2001.
- Colwell RR, Grimes DJ (editors): *Nonculturable Microorganisms in the Environment*. ASM Press, 2000.
- Donohue WD: The cell cycle of *Escherichia coli*. *Annu Rev Microbiol* 1993;47:199.
- Gerhardt P et al. (editors): *Manual of Methods for General Bacteriology*. American Society for Microbiology, 1981.
- Hans-Curt Flemming, Jost Wingender: The biofilm matrix. *Nat Rev Microbiol* 2010;8:623-633.
- Kjelleberg S (editor): *Starvation in Bacteria*. Plenum Press, 1993.
- Kjelleberg S, Hermansson M, Mårdén P, Jones GW: The transient phase between growth and nongrowth of heterotrophic bacteria. *Annu Rev Microbiol* 1987;41:25.
- Kolter R, Siegels DA, Tormo A: The stationary phase of the bacterial life cycle. *J Bacteriol* 1992;174:345.
- McDonnell GE: *Antisepsis, Disinfection, and Sterilization: Types, Action, and Resistance*. ASM Press, 2007.
- McDonnell G, Russell AD: Antiseptics and disinfectants: Activity, action, and resistance. *Clin Microbiol Rev* 1999; 12:147.
- Olmstad RN (editor): *APIC Infection Control and Applied Epidemiology: Principles and Practices*. Mosby Year Book, 1996.
- Russell AD, Hugo WB, Ayliffe GAJ (editors): *Principles and Practice of Disinfection, Preservation and Sterilization*, 3rd ed. Blackwell Scientific Publications, 1999.
- Sancar A, Sancar GB: DNA repair enzymes. *Annu Rev Biochem* 1988;57:29.
- Siegels DA, Kolter R: Life after log. *J Bacteriol* 1992;174:345.

Cultura de microrganismos

Cultura refere-se ao processo de propagação de microrganismos pelo fornecimento de condições ambientais apropriadas. Os microrganismos em crescimento duplicam-se e necessitam dos elementos presentes na sua composição química. Os nutrientes devem proporcionar tais elementos em uma forma metabolicamente acessível. Além disso, os microrganismos necessitam de energia metabólica para sintetizar macromoléculas e manter gradientes químicos essenciais através de suas membranas. Os fatores que precisam ser controlados durante o crescimento consistem em nutrientes, pH, temperatura, aeração, concentração de sal e força iônica do meio.

EXIGÊNCIAS PARA O CRESCIMENTO

A maior parte do peso seco dos microrganismos consiste em matéria orgânica constituída pelos elementos carbono, hidrogênio, nitrogênio, oxigênio, fósforo e enxofre. Além desses, são necessários íons inorgânicos, como potássio, sódio, ferro, magnésio, cálcio e cloreto, para facilitar a catálise enzimática e manter os gradientes químicos através da membrana celular.

Em sua maior parte, a matéria orgânica consiste em macromoléculas formadas por **ligações de anidrido** entre as unidades precursoras. A síntese das ligações anidrido requer energia química, fornecida pelas duas ligações fosfodiéster do ATP (trifosfato de adenosina; Cap. 6). A energia adicional necessária para manter uma composição citoplasmática relativamente constante durante o crescimento, em uma variedade de ambientes químicos extracelulares, provém da **força motriz dos prótons**. Esta força é a energia potencial que pode ser obtida pela passagem de um próton através de uma membrana. Nos eucariotos, essa membrana pode ser parte da mitocôndria ou do cloroplasto. Nos procariotos, essa membrana é a membrana citoplasmática da célula.

A força motriz dos prótons é um gradiente eletroquímico com dois componentes: uma diferença de pH (concentração de íons hidrogênio) e outra na carga iônica. A carga existente do lado externo da membrana bacteriana é mais positiva do que a do lado interno, e a diferença de carga contribui para a energia livre liberada quando um próton penetra no citoplasma a partir do lado externo da membrana. Os processos metabólicos que geram a força motriz dos prótons são discutidos no Capítulo 6. A energia livre pode ser utilizada para mover a célula, manter gradientes iônicos ou moleculares através da membrana, sintetizar ligações de anidrido no ATP ou para

uma combinação desses fatores. Alternativamente, as células supridas com uma fonte de ATP podem utilizar a energia de suas ligações de anidrido para criar uma força motriz dos prótons que pode ser empregada para mover a célula e manter os gradientes químicos.

Para crescer, um organismo necessita de todos os elementos que compõem sua matéria orgânica e de todo o complemento de íons indispensáveis aos processos energéticos e à catálise. Além disso, deve haver uma fonte de energia disponível para estabelecer a força motriz dos prótons e possibilitar a síntese das macromoléculas. Há uma ampla variação nas demandas nutricionais e nas fontes de energia metabólica dos microrganismos.

FONTES DE ENERGIA METABÓLICA

Os três principais mecanismos para a produção de energia metabólica são a fermentação, a respiração e a fotossíntese. Pelo menos um desses mecanismos tem de ser usado para que o organismo possa crescer.

Fermentação

A formação de ATP na fermentação não está acoplada à transferência de elétrons. A fermentação caracteriza-se pela **fosforilação de substratos**, processo enzimático em que uma ligação de pirofosfato é diretamente doada para o ADP (difosfato de adenosina) por um intermediário metabólico fosforilado. Os intermediários fosforilados são formados por rearranjo metabólico de um substrato passível de fermentação, como a glicose, a lactose ou a arginina. Dado que a fermentação não é acompanhada de qualquer alteração no estado de oxirredução global do substrato passível de fermentação, a composição elementar dos produtos de fermentação deve ser idêntica a dos substratos. Por exemplo, a fermentação de uma molécula de glicose ($C_6H_{12}O_6$) pela via de Embden-Meyerhof (Cap. 6) resulta em um ganho líquido de duas ligações de pirofosfato no ATP e forma duas moléculas de ácido láctico ($C_3H_6O_3$).

Respiração

A respiração é análoga ao acoplamento de um processo dependente de energia à descarga de uma bateria. A redução química de um oxidante (aceptor de elétrons) por uma série específica de transportadores de elétrons na membrana estabelece a

força motriz dos prótons através da membrana bacteriana. O redutor (doador de elétrons) pode ser orgânico ou inorgânico: por exemplo, o ácido láctico atua como redutor para alguns organismos, enquanto o gás hidrogênio é um redutor para outros. O oxigênio gasoso (O_2) é frequentemente usado como oxidante, mas existem outros oxidantes usados por alguns organismos, como o dióxido (CO_2), o sulfato (SO_4^{2-}) e o nitrato (NO_3^-) de carbono.

Fotossíntese

A fotossíntese assemelha-se à respiração, uma vez que a redução de um oxidante por uma série específica de transportadores de elétrons estabelece a força motriz dos prótons. A diferença entre os dois processos é que, na fotossíntese, o redutor e o oxidante são criados fotoquimicamente pela energia luminosa absorvida por pigmentos presentes na membrana. Por conseguinte, a fotossíntese só poderá continuar enquanto houver uma fonte de energia luminosa. As plantas e algumas bactérias são capazes de utilizar uma quantidade significativa de energia luminosa ao transformarem a água em redutor para o dióxido de carbono. Há formação de oxigênio nesse processo, com a produção de matéria orgânica. A respiração — a oxidação energeticamente favorável de matéria orgânica por um acceptor de elétrons, como o oxigênio — pode fornecer energia a microrganismos que realizam a fotossíntese na ausência de luz.

NUTRIÇÃO

Os nutrientes nos meios de crescimento devem conter todos os elementos necessários à síntese biológica de novos microrganismos. Na discussão a seguir, os nutrientes são classificados de acordo com os elementos que eles fornecem.

Fonte de carbono

Conforme analisado anteriormente, as plantas e algumas bactérias têm a propriedade de utilizar a energia da fotossíntese para reduzir o dióxido de carbono à custa de água. Esses organismos pertencem ao grupo dos **autótrofos**, isto é, seres que não necessitam de nutrientes orgânicos para seu crescimento. Outros autótrofos são os **quimiolitotrófos**, organismos que utilizam um substrato inorgânico, como o hidrogênio ou o tiosulfato, como redutor, e dióxido de carbono como fonte de carbono.

Os **heterótrofos** necessitam de carbono orgânico para seu crescimento, e esse carbono orgânico deve estar em uma forma passível de ser assimilada. Por exemplo, o naftaleno pode fornecer todo o carbono e a energia necessários para o crescimento heterotrófico respiratório; todavia, um número muito pequeno de microrganismos é dotado da via metabólica necessária à assimilação do naftaleno. Já a glicose pode sustentar o crescimento fermentativo ou respiratório de muitos organismos. É importante que os substratos para o crescimento sejam fornecidos em níveis adequados para a cepa microbiana que está sendo cultivada: os níveis que sustentam o crescimento de determinado microrganismo podem inibir o crescimento de outro.

O dióxido de carbono é necessário para diversas reações de biossíntese. Muitos microrganismos respiratórios produzem dióxido de carbono em quantidades maiores do que as

suficientes para preencher essa necessidade, enquanto outros precisam de uma fonte de dióxido de carbono em seu meio de crescimento.

Fonte de nitrogênio

O nitrogênio é um importante componente das proteínas, dos ácidos nucleicos e de outros compostos, e representa cerca de 5% do peso seco de uma célula bacteriana típica. O nitrogênio inorgânico (N_2) é altamente prevalente, compreendendo 80% da atmosfera terrestre. É também um composto muito estável, devido principalmente à alta energia de ativação necessária para quebrar a tripla ponte nitrogênio-nitrogênio. Entretanto, o nitrogênio pode ser fornecido de várias maneiras diferentes, e os microrganismos variam quanto à sua capacidade de assimilar o nitrogênio (Quadro 5.1). O produto final de todas as vias de assimilação do nitrogênio é a forma do elemento mais reduzida, a amônia (NH_3). Quando está disponível, a NH_3 difunde-se na maioria das bactérias através de canais transmembrana, como NH_3 dissolvida em forma gasosa, em vez do íon amônio (NH_4^+).

A capacidade de assimilar N_2 pela redução por NH_3 , denominada **fixação do nitrogênio**, constitui uma propriedade exclusiva dos procariotos, e relativamente poucas bactérias são capazes de quebrar a ligação tripla nitrogênio-nitrogênio. Esse processo (Cap. 6) exige grande quantidade de energia metabólica e é rapidamente inativado pelo oxigênio. A capacidade de fixação do nitrogênio é observada em bactérias amplamente divergentes que desenvolveram estratégias químicas muito diferentes para proteger do oxigênio suas enzimas fixadoras de nitrogênio.

A maioria dos microrganismos tem a capacidade de utilizar NH_3 como única fonte de nitrogênio, e muitos microrganismos têm a capacidade de produzir NH_3 a partir de aminas ($R-NH_2$) ou aminoácidos ($RCHNH_2COOH$), geralmente no modo intracelular. A produção de amônia a partir da desaminação de aminoácidos é denominada **amonificação**. A amônia é introduzida na matéria orgânica por vias bioquímicas que envolvem o glutamato e a glutamina, discutidas no Capítulo 6.

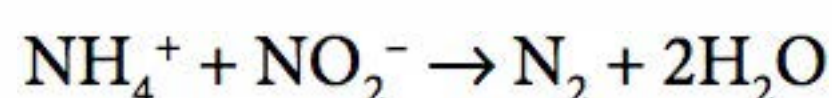
Muitos microrganismos possuem a capacidade de assimilar nitrato (NO_3^-) e nitrito (NO_2^-) reduzindo por conversão estes íons em NH_3 . Esses processos são denominados **redução assimiladora de nitrato** e **redução assimiladora de nitrito**, respectivamente. Essas vias para assimilação diferem daquelas utilizadas para **dissimilação** de nitrato e de nitrito. As vias de dissimilação são usadas por organismos que empregam esses

QUADRO 5.1 Fontes de nitrogênio na nutrição microbiana

Composto	Valência de N
NO_3^-	+5
NO_2^-	+3
N_2	0
NH_4^+	-3
$R-NH_2^a$	-3

^aR, radical orgânico.

íons como aceitantes de elétrons terminais na respiração. Algumas bactérias autotróficas (p. ex., *Nitrosomonas*, *Nitrobacter* spp.) são capazes de converter NH_3 em N_2 gasoso em condições anaeróbias; este processo é conhecido como **denitrificação**. Nossa compreensão do ciclo do nitrogênio continua a expandir-se. Em meados da década de 1990, a reação **anamox** foi descoberta. A reação



na qual a amônia é oxidada pelo nitrito, é um processo microbiano que ocorre em águas anóxicas dos oceanos e é a maior via pela qual o nitrogênio retorna para a atmosfera.

Fonte de enxofre

De modo similar ao nitrogênio, o enxofre é um componente de muitas substâncias orgânicas da célula. Forma parte da estrutura de várias coenzimas e é encontrado nas cadeias laterais cisteinil e metionil das proteínas. O enxofre em sua forma elementar não pode ser utilizado por plantas ou animais, mas algumas bactérias autotróficas são capazes de oxidá-lo em sulfato (SO_4^{2-}). A maioria dos microrganismos tem a capacidade de utilizar sulfato como fonte de enxofre, reduzindo o sulfato ao nível de sulfeto de hidrogênio (H_2S). Alguns microrganismos podem assimilar diretamente o H_2S do meio de crescimento, mas esse composto pode ser tóxico para muitos deles.

Fonte de fósforo

O fosfato (PO_4^{3-}) é necessário como componente do ATP, dos ácidos nucleicos e de coenzimas, como NAD, NADP e flavinas. Além disso, muitos metabólitos, lipídeos (fosfolipídeos, lipídeo A), componentes da parede celular (ácido teicoico), alguns polissacarídeos capsulares e certas proteínas são fosforilados. O fosfato é sempre assimilado em forma de fosfato inorgânico livre (P_i).

Fontes de minerais

Vários minerais são necessários para a função das enzimas. O íon magnésio (Mg^{2+}) e o íon ferroso (Fe^{2+}) também são encontrados em derivados da porfirina: o magnésio na molécula da clorofila e o ferro como parte das coenzimas dos citocromos e das peroxidases. Tanto o Mg^{2+} quanto o K^+ são essenciais para a função e a integridade dos ribossomos. O Ca^{2+} é necessário como componente das paredes celulares dos microrganismos gram-positivos, embora seja dispensável nas bactérias gram-negativas. Muitos organismos marinhos necessitam de Na^+ para o seu crescimento. Ao formular-se um meio para a cultura da maioria dos microrganismos, é necessário fornecer fontes de potássio, magnésio, cálcio e ferro, geralmente em forma de seus íons (K^+ , Mg^{2+} , Ca^{2+} e Fe^{2+}). Muitos outros minerais (p. ex., Mn^{2+} , Mo^{2+} , Co^{2+} , Cu^{2+} e Zn^{2+}) são necessários; com frequência, podem ser fornecidos através da água potável ou como contaminantes de outros ingredientes do meio.

A captação de ferro, que forma hidróxidos insolúveis em pH neutro, é facilitada em muitas bactérias e fungos pela produção de **sideróforos** — compostos que atuam como quelantes do ferro e promovem seu transporte em forma de complexo solúvel, como os hidroxamatos ($-\text{CONH}_2\text{OH}$), denominados

sideraminas, e derivados do catecol (p. ex., 2,3-di-hidroxi-benzoilserina). Os sideróforos determinados por plasmídeos desempenham importante papel na capacidade de invasão de alguns patógenos bacterianos (Cap. 7). Os mecanismos dependentes de sideróforo e não dependentes de sideróforo de captação de ferro pelas bactérias são discutidos no Capítulo 9.

Fatores de crescimento

Um fator de crescimento é um composto orgânico de que a célula necessita para crescer, mas o qual ela é incapaz de sintetizar. Muitos microrganismos, quando supridos com os nutrientes anteriormente citados, são capazes de sintetizar todas as unidades formadoras de macromoléculas (Fig. 5.1), as quais são os aminoácidos; as purinas, pirimidinas e pentoses (os precursores metabólicos dos ácidos nucleicos); os carboidratos adicionais (precursores dos polissacarídeos); os ácidos graxos e os compostos isoprenoides. Além disso, os microrganismos de vida livre devem ser capazes de sintetizar as vitaminas complexas que atuam como precursores de coenzimas.

Cada um desses compostos essenciais é sintetizado por uma sequência distinta de reações enzimáticas; cada enzima é produzida sob o controle de um gene específico. Quando o organismo sofre mutação gênica, resultando em incapacidade funcional de uma dessas enzimas, a cadeia é interrompida, e o produto final não é mais gerado. Em tais circunstâncias, o organismo precisa obter esse composto a partir do meio ambiente: o composto torna-se um **fator de crescimento** para o organismo. Tal tipo de mutação pode ser facilmente induzido em laboratório.

Diferentes espécies microbianas variam amplamente nas suas necessidades de fatores de crescimento. Os compostos envolvidos são encontrados em todos os organismos, sendo essenciais; as diferenças nas exigências refletem diferenças na capacidade de síntese. Algumas espécies não necessitam de fatores de crescimento, enquanto outras — como alguns lactobacilos — perderam, durante a evolução, a capacidade de sintetizar até 30 a 40 compostos essenciais, cuja presença no meio de cultura se faz necessária.

FATORES AMBIENTAIS QUE AFETAM O CRESCIMENTO

Para ser apropriado, um meio de crescimento deve conter todos os nutrientes necessários à cultura do microrganismo, e determinados fatores, como pH, temperatura e aeração, precisam ser cuidadosamente controlados. Utiliza-se um meio líquido, que pode ser gelificado para finalidades especiais mediante o acréscimo de ágar ou gel de sílica. O ágar, um extrato de polissacarídeo alga marinha, é especialmente apropriado para cultura microbiana por ser resistente à ação microbiana e dissolver-se a 100°C , porém não se solidifica até ser resfriado abaixo de 45°C . É possível suspender células em um meio a 45°C , resfriando-o rapidamente até a obtenção de um gel sem lesionar as células.

Nutrientes

Nas páginas anteriores, foi descrita a função de cada tipo de nutriente e apresentada uma lista de substâncias apropriadas.

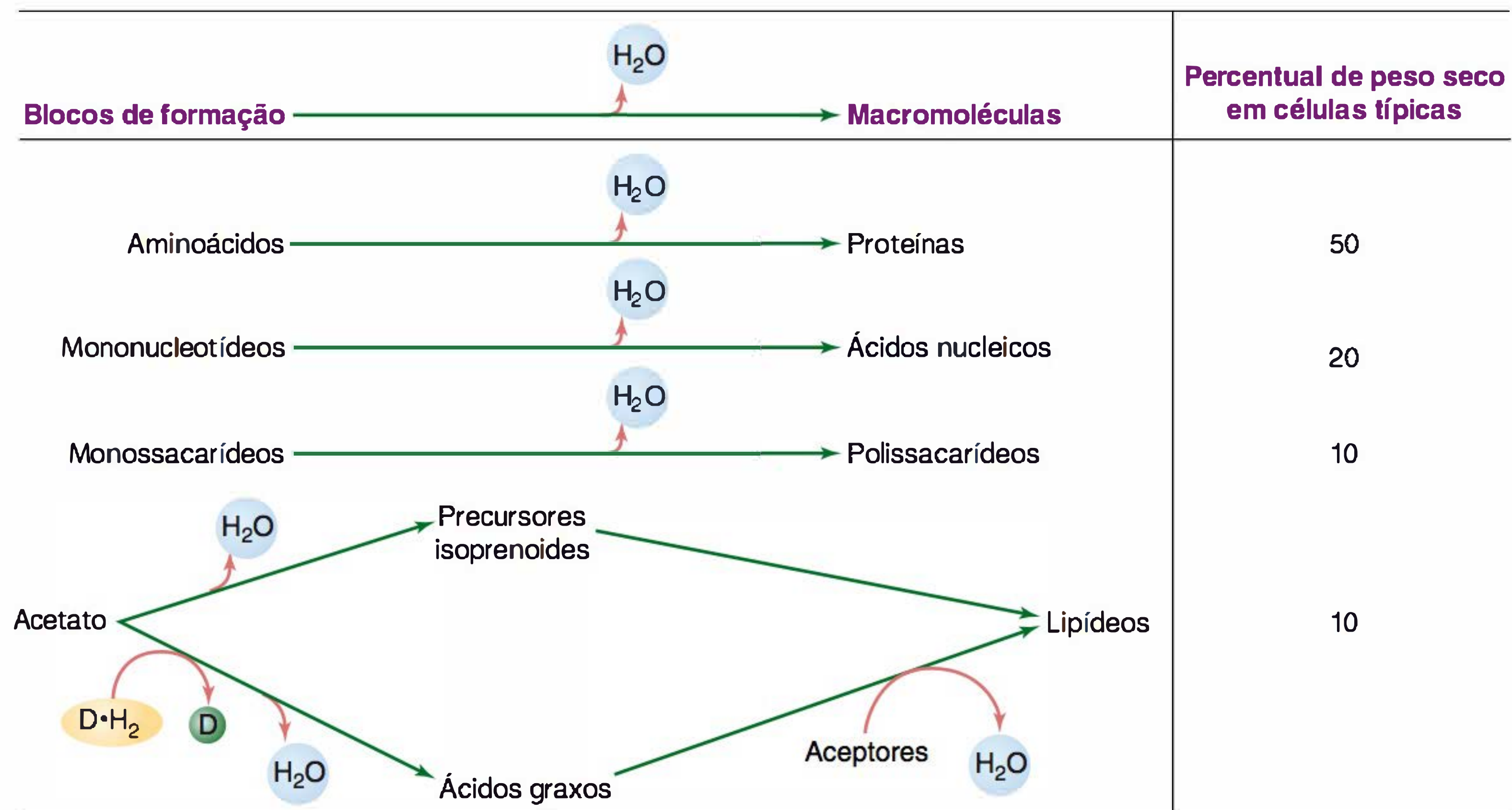


FIGURA 5.1 Síntese macromolecular. A polimerização das unidades formadoras nas macromoléculas é efetuada, em grande parte, pela introdução de ligações de anidrido. A formação de graxos a partir do acetato requer várias etapas de redução bioquímica por meio de doadores orgânicos de hidrogênio ($D \cdot H_2$).

Em geral, devem ser fornecidos os seguintes itens: (1) doadores e aceptores de hidrogênio, cerca de 2 g/L; (2) fonte de carbono: cerca de 1 g/L; (3) fonte de nitrogênio, cerca de 1 g/L; (4) minerais: enxofre e fósforo, cerca de 50 mg/L de cada, e oligoelementos, 0,1 a 1 mg/L de cada; (5) fatores de crescimento: aminoácidos, purinas e pirimidinas, cerca de 50 mg/L de cada; vitaminas, 0,1 a 1 mg/L de cada.

Para estudos do metabolismo microbiano, geralmente é necessário preparar um meio totalmente sintético cujas características e concentrações exatas de cada ingrediente sejam conhecidas, porém é muito mais barato e simples utilizar materiais naturais, como extrato de levedura, digestão de proteínas ou substâncias semelhantes. Os micróbios de vida livre, em sua maioria, crescem adequadamente em extrato de levedura; já as formas parasitárias podem exigir substâncias especiais, encontradas apenas no sangue ou em extratos de tecidos animais. Todavia, alguns parasitos microbianos (p. ex., *Treponema pallidum*) que não podem crescer *in vitro* só se desenvolvem no interior das células eucarióticas (p. ex., *Chlamydia trachomatis*).

Para muitos microrganismos, um único composto (p. ex., um aminoácido) pode servir como fonte de energia, carbono e nitrogênio; outros necessitam de um composto distinto para cada uma dessas fontes. Se os materiais naturais para meios não sintéticos forem deficientes em qualquer nutriente, deverão ser suplementados.

Concentração de íons hidrogênio (pH)

A maioria dos microrganismos apresenta uma faixa bastante estreita de pH ótimo, que deve ser determinado empiricamente para cada espécie. A maioria dos microrganismos (**neutralófilos**) cresce mais adequadamente a um pH de 6,0 a 8,0, embora algumas formas (**acidófilas**) tenham um pH ótimo de 3,0, e outras (**alcalófilas**) de 10,5.

Os microrganismos regulam seu pH interno dentro de uma ampla faixa de valores do pH externo. Os microrganismos acidófilos mantêm um pH interno de cerca de 6,5 com relação a uma faixa externa de 1,0 a 5,0. Os neutralófilos mantêm um pH interno de cerca de 7,5 em uma faixa externa de 5,5 a 8,5 e os alcalófilos mantêm um pH interno de cerca de 9,5 em uma faixa externa de 9,0 a 11,0. O pH interno é regulado por um conjunto de sistemas de transporte de prótons na membrana citoplasmática, inclusive uma bomba primária de prótons impulsionada por ATP e um intercambiador de Na^+/H^+ . Também é sugerida a contribuição de um sistema de troca de K^+/H^+ na regulação do pH interno dos microrganismos neutralófilos.

Temperatura

As faixas de temperatura ótima para o crescimento das diferentes espécies microbianas variam amplamente (Fig. 5.2): as **psicrófilas** crescem melhor a baixas temperaturas (entre -5 e $15^\circ C$) e normalmente são encontradas em ambientes como o Ártico e regiões Árticas; os psicotróficos apresentam uma temperatura ótima de crescimento entre 20 e $30^\circ C$, porém não crescem muito bem em temperaturas menores. Eles são importantes causas de contaminação de alimentos*. As **mesófilas** crescem mais adequadamente entre 30 e $37^\circ C$; enquanto a maioria das **termófilas** vive em temperaturas entre $50^\circ C$ e $60^\circ C$. Alguns microrganismos são **hipertermófilos** e podem crescer melhor em temperatura de ebulição da água, o que ocorre em condição de alta pressão nas profundezas do oceano. Os microrganismos são, em

* N. de R.T. Embora as psicrotolerantes não cresçam muito bem em temperaturas mais baixas, podem suportar e se manter viáveis a temperatura de refrigeração ($-4^\circ C$). Assim, importantes em saúde pública por contaminarem alimentos como carnes e derivados; leite e derivados; vegetais e frutas mantidas em refrigeração (p. ex., *Salmonella*, *Yersinia*, *Listeria* e *Staphylococcus*).

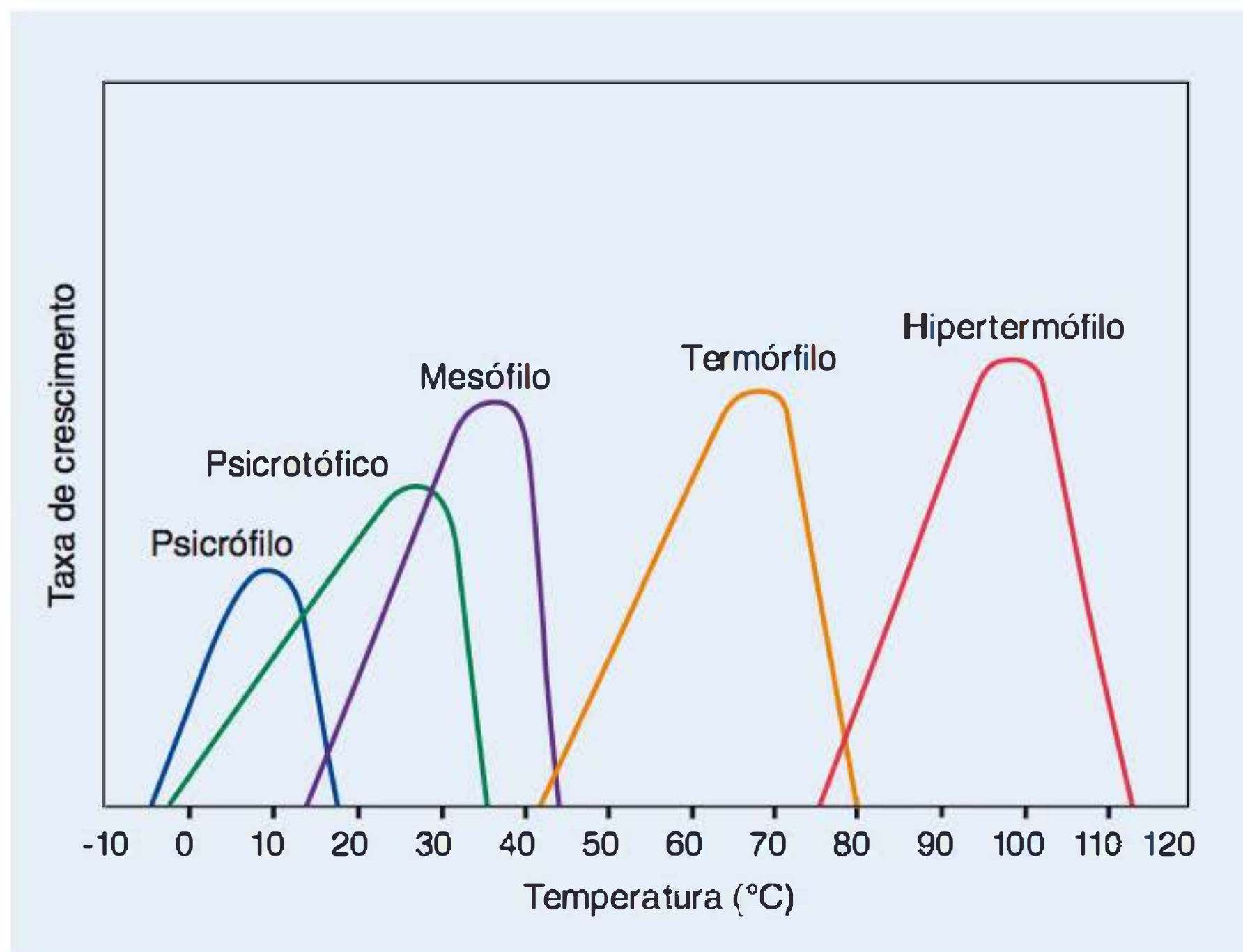


FIGURA 5.2 Temperatura necessária para o crescimento. Os procariontes são comumente classificados em cinco grupos baseados na temperatura ótima de crescimento. Nota-se que a temperatura ótima de crescimento, no ponto em que a taxa de crescimento é maior está próxima do limite superior da faixa de crescimento. (Reproduzida, com autorização, de Nester EW, Anderson DG, Roberts CE, Nester MT [editores]: *Microbiology: A Human Perspective*, 6th ed. MacGraw-Hill, 2009, p. 91. © The McGraw-Hill Companies, Inc.)

sua maioria, formas mesófilas; a temperatura de 30°C é ótima para muitas formas de vida livre, enquanto a temperatura corporal do hospedeiro é ideal para os simbiontes de animais de sangue quente.

A extremidade superior da faixa de temperatura tolerada por qualquer espécie correlaciona-se bem com a termoestabilidade geral das proteínas dessa espécie, conforme determinado em extratos celulares. Os microrganismos compartilham com as plantas e os animais a **resposta de choque térmico**, isto é, a síntese transitória de um conjunto de “proteínas de choque térmico” (*heat-shock proteins*) quando expostos a uma súbita elevação da temperatura acima do ideal para o crescimento. Essas proteínas parecem notavelmente termorresistentes e capazes de estabilizar as proteínas termosensíveis da célula.

A relação entre a velocidade de crescimento e a temperatura em determinado microrganismo pode ser observada em um gráfico típico de Arrhenius (Fig. 5.3). Este físico sueco mostrou que o logaritmo da velocidade de qualquer reação química ($\log k$) é uma função linear da recíproca da temperatura ($1/T$); como o crescimento celular resulta de um conjunto de reações químicas, pode-se esperar esse tipo de relação. A Figura 5.3 demonstra ser esse o caso na faixa normal de temperaturas para determinada espécie: o $\log k$ diminui linearmente com $1/T$. Todavia, acima e abaixo da faixa normal, o $\log k$ cai rapidamente, de modo que os valores máximo e mínimo de temperatura são definidos.

Além de terem efeitos sobre a velocidade do crescimento, os extremos de temperatura matam os microrganismos. O calor extremo é utilizado para esterilizar preparações (Cap. 4); o frio extremo também mata as células microbianas, embora não possa ser utilizado com segurança para esterilização. As bactérias também exibem um fenômeno denominado **choque pelo frio**: a destruição de células por resfriamento rápido em vez de lento. Por exemplo, o resfriamento rápido da *Escherichia coli*, de

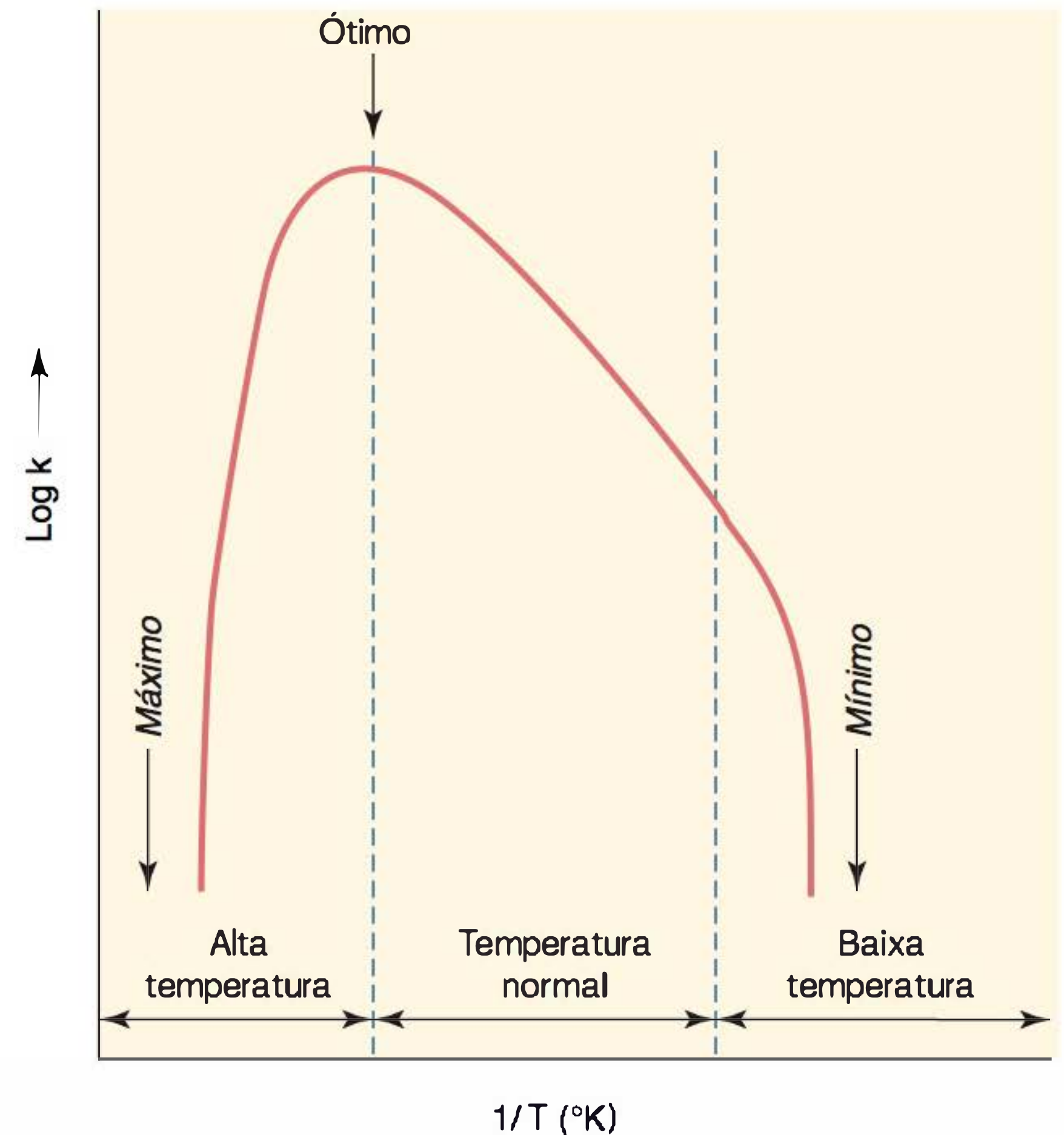


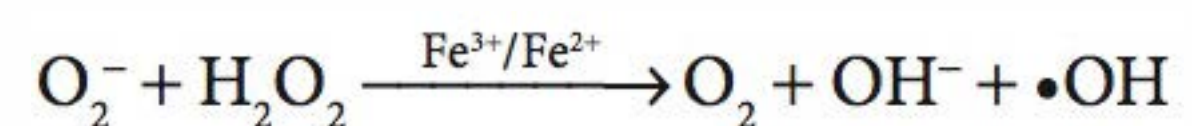
FIGURA 5.3 Forma geral de um gráfico de Arrhenius para o crescimento bacteriano. (Reproduzida, com autorização, de Ingraham JL: Growth of psychrophilic bacteria, *J Bacteriol* July 76(1):75-80, 1958.)

37°C para 5°C, pode matar 90% das células. Diversos compostos protegem as células do congelamento ou do choque pelo frio; o glicerol e o dimetil sulfoxido são os mais comumente utilizados.

Aeração

O papel do oxigênio como acceptor de hidrogênio é discutido no Capítulo 6. Muitos microrganismos são **aeróbios obrigatórios**, e exigem especificamente a presença de oxigênio como acceptor de hidrogênio; alguns são **anaeróbios facultativos**, isto é, têm a capacidade de viver em condições de aerobiose ou anaerobiose; e outros são anaeróbios obrigatórios, exigindo outra substância diferente do oxigênio como acceptor de hidrogênio, e sendo sensíveis à inibição pelo oxigênio. Alguns microrganismos também podem ser **microaerófilos**, necessitando de uma concentração reduzida de oxigênio (2-10%) para seu metabolismo aeróbio (concentrações maiores são inibitórias)*; ou ainda **anaeróbios aerotolerantes**, que suportam a presença do oxigênio, porém não o utiliza como acceptor de hidrogênio (Fig. 5.4).

Os subprodutos naturais do metabolismo aeróbio são os compostos reativos peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e superóxido de hidrogênio (O_2^-). Na presença de ferro, essas duas espécies podem produzir radicais hidroxila ($\bullet OH$), passíveis de lesionar qualquer macromolécula biológica:



* N. de R.T. Em geral, microrganismos microaerófilos também crescem melhor quando incubados a 5% de CO_2 (capnofilia). Essa condição pode ser obtida incubando as placas semeadas em uma jarra com uma vela acesa, que depois é colocada na estufa. Quando a chama consumir o oxigênio necessário para manter a combustão, o CO_2 produzido no interior da jarra manterá a condição de capnofilia.

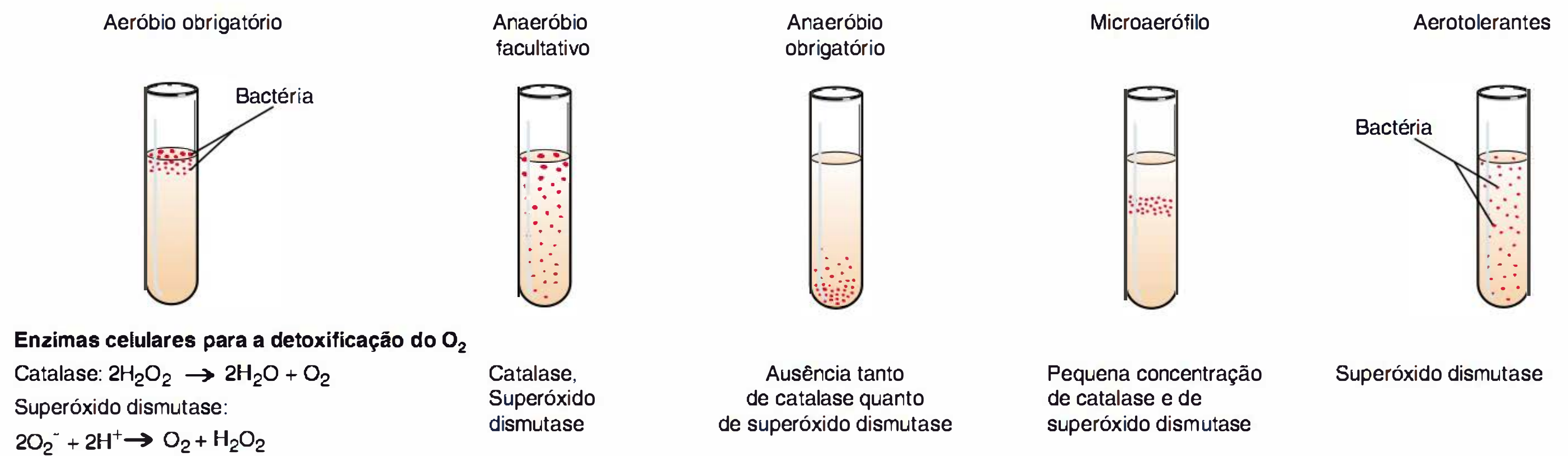
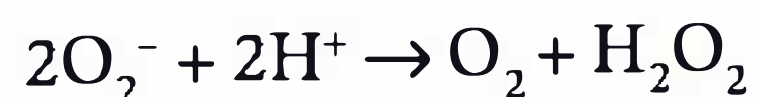
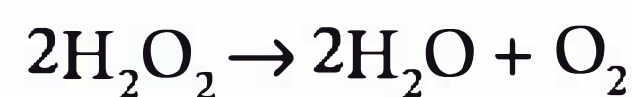


FIGURA 5.4 Necessidade de oxigênio (O₂) pelos procariontes. (Reproduzida, com autorização, de Nester EW, Anderson DG, Roberts CE, Nester MT [editors]: *Microbiology: A Human Perspective*, 6th ed. McGraw-Hill, 2009, p. 92. © The McGraw-Hill Companies, Inc.)

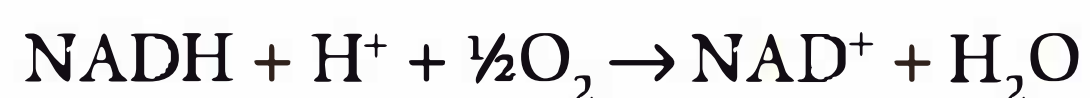
Muitos aeróbios e anaeróbios aerotolerantes são protegidos desses produtos pela presença da superóxido dismutase, enzima que catalisa a reação



e pela presença da catalase, enzima que catalisa a reação



Alguns microrganismos fermentativos (p. ex., *Lactobacillus plantarum*) são aerotolerantes, mas não contêm catalase sem superóxido dismutase. O oxigênio não é reduzido e, por conseguinte, não há produção de H₂O₂ e O₂⁻. Todos os anaeróbios estritos não têm superóxido dismutase nem catalase. Alguns microrganismos anaeróbios (p. ex., *Peptococcus anaerobius*) têm considerável tolerância ao oxigênio em virtude de sua capacidade de produzir altos níveis de uma enzima (NADH oxidase) que reduz o oxigênio a água de acordo com a reação



O peróxido de hidrogênio deve grande parte de sua toxicidade à lesão que provoca no DNA. Os mutantes com deficiência de reparo do DNA são excepcionalmente sensíveis ao peróxido de hidrogênio; constatou-se que o produto do gene *recA*, que atua tanto na recombinação quanto no reparo genéticos, é mais importante que a catalase ou a superóxido dismutase na proteção da *E. coli* contra a toxicidade do peróxido de hidrogênio.

O suprimento de ar a culturas de aeróbios constitui um sério problema técnico. Em geral, os recipientes são agitados mecanicamente para introduzir oxigênio no meio, ou o ar é forçado através do meio de cultura por pressão. Com frequência, a difusão de oxigênio torna-se o fator limitante no crescimento das bactérias aeróbias; quando a concentração celular atinge 4 a 5 × 10⁹/mL, a velocidade de difusão do oxigênio para as células limita acentuadamente a velocidade do crescimento posterior.

Já os anaeróbios obrigatórios apresentam o problema da exclusão do oxigênio. Existem muitos métodos para isso: podem-se acrescentar agentes redutores, como o tioglicato de sódio, as culturas líquidas; os tubos de ágar podem ser selados com uma camada de petrolato e parafina; o recipiente de cultura pode ser colocado em outro recipiente a partir do qual o oxigênio é removido por evacuação ou por meios químicos; ou

o microrganismo pode ser manipulado dentro de uma câmara anaeróbia por mãos enluvadas.

Força iônica e pressão osmótica

Pode ser necessário controlar, em menor grau, certos fatores, como a pressão osmótica e a concentração de sal. Para a maioria dos microrganismos, as propriedades dos meios comuns são satisfatórias; entretanto, para as formas marinhas e os microrganismos adaptados ao crescimento em soluções ricas em açúcar, por exemplo, é preciso considerar esses fatores. Os microrganismos que necessitam de altas concentrações de sal são denominados **halofílicos**, enquanto os que necessitam de altas pressões osmóticas chamam-se **osmofílicos**.

A maioria das bactérias é capaz de tolerar ampla faixa de pressões osmóticas externas e de forças iônicas em virtude de sua capacidade de regular a osmolalidade e a concentração iônica internas. A osmolalidade é regulada pelo transporte ativo de íons K⁺ no interior da célula; a força iônica interna é mantida constante pela excreção compensatória de uma poliamina orgânica de carga positiva, a putrescina. Como a putrescina possui várias cargas positivas por molécula, obtém-se uma acentuada queda da força iônica com pequeno custo na força osmótica.

MÉTODOS DE CULTURA

Dois problemas devem ser considerados: a escolha de um meio de cultura apropriado e o isolamento de um microrganismo bacteriano em cultura pura.

O meio de cultura

A técnica utilizada e o tipo de meio escolhido dependem da natureza da investigação. Em geral, podem ser encontradas três situações: (1) pode haver necessidade de cultivar um grupo de células de uma determinada espécie disponível; (2) pode haver a necessidade de certo número e dos tipos de microrganismos presentes em determinado material; ou (3) pode-se desejar isolar determinado tipo de microrganismo de uma fonte natural.

A. Crescimento de células de determinada espécie

Os microrganismos cujo crescimento no ambiente natural podem ser observados ao microscópio podem exibir extrema

dificuldade de crescer em cultura pura em um meio artificial. Por exemplo, certas formas parasitárias nunca foram cultivadas fora do hospedeiro. Todavia, em geral pode-se preparar um meio apropriado com a cuidadosa reprodução das condições encontradas no ambiente natural do microrganismo. É simples reproduzir o pH, a temperatura e a aeração; os nutrientes constituem o principal problema. A contribuição feita pelo ambiente vivo é importante e difícil de analisar; assim, um parasito pode necessitar de um extrato do tecido do hospedeiro, enquanto uma forma de vida livre pode exigir uma substância excretada por um microrganismo ao qual está associada na natureza. Pode ser necessária considerável experimentação para determinar as necessidades do microrganismo, de modo que o sucesso irá depender do suprimento de uma fonte apropriada de cada categoria de nutriente relacionada no início deste capítulo. A cultura de parasitos obrigatórios, como as riquetsias, é discutida no Capítulo 27.

B. Exame microbiológico de materiais naturais

Um material natural pode conter muitos microambientes distintos, proporcionando, cada qual, um nicho para uma espécie diferente. A semeadura de amostra do material em determinado conjunto de condições irá permitir que um grupo selecionado de formas produza colônias, mas fará com que muitos outros tipos passem despercebidos. Por essa razão, é habitual semear amostras do material em diferentes meios e condições de incubação. Seis a oito condições diferentes de cultura não representam um número exagerado quando se pretende descobrir a maioria das formas presentes.

Como cada tipo de microrganismo presente deve ter a oportunidade de crescer, são utilizados meios sólidos, e evita-se a aglomeração de colônias. Caso contrário, a competição irá impedir a formação de colônias por alguns tipos de microrganismo.

C. Isolamento de determinado tipo de microrganismo

Uma pequena amostra de solo, quando processada adequadamente, irá produzir um tipo diferente de microrganismo para cada microambiente presente. No caso de solo fértil (úmido, arejado, rico em minerais e matéria orgânica), isso significa a possibilidade de isolar centenas ou mesmo milhares de tipos de microrganismo. Esse isolamento é efetuado ao selecionar-se o tipo desejado. Por exemplo, inocula-se 1 g de solo em um recipiente com meio líquido preparado com a finalidade de favorecer determinado tipo de microrganismo, por exemplo, fixadores aeróbios de nitrogênio (*Azotobacter*). Nesse caso, o meio não contém nitrogênio combinado, sendo incubado em condições aeróbias. Se houver *Azotobacter* no solo, as células irão crescer bem nesse meio; as formas incapazes de fixar o nitrogênio só irão crescer à medida que o solo tiver introduzido nitrogênio fixado contaminante no meio. Por conseguinte, quando a cultura estiver totalmente desenvolvida, a porcentagem de *Azotobacter* na população total terá aumentado acentuadamente; por esse motivo, o método é denominado cultura de enriquecimento. A transferência de uma amostra dessa cultura para um novo meio irá resultar em maior enriquecimento de *Azotobacter*; depois de várias transferências seriadas, a cultura poderá ser semeada em meio sólido de enriquecimento, podendo isolar colônias de *Azotobacter*.

Deve-se utilizar um meio líquido para permitir a competição e, portanto, a seleção ideal, mesmo quando o tipo desejado é representado no solo em forma de apenas algumas células em uma população de milhões. Pode-se tirar proveito do “enriquecimento natural”. Assim, por exemplo, na pesquisa de oxidantes do querosene, escolhe-se um solo carregado de óleo, visto que se trata de um meio de enriquecimento para essas formas.

A cultura de enriquecimento, portanto, constitui um procedimento pelo qual o meio é preparado de modo a reproduzir o ambiente natural (“nicho”) do microrganismo desejado, levando à sua seleção. Um princípio importante envolvido nesta seleção é o seguinte: o microrganismo selecionado será do tipo cuja necessidade nutricional for dificilmente satisfeita. O *Azotobacter*, por exemplo, cresce melhor em um meio de cultura que contenha nitrogênio orgânico, porém sua exigência mínima consiste na presença de N₂; por conseguinte, ele será selecionado em um meio que contenha N₂ como única fonte de nitrogênio. Se for acrescentado nitrogênio orgânico ao meio, as condições não irão selecionar mais *Azotobacter*, mas uma forma cuja exigência mínima seja a presença de nitrogênio orgânico.

Ao pesquisar um determinado tipo de microrganismo, que é parte de uma população mista, meios seletivos e diferenciais devem ser usados. Os meios seletivos inibem o crescimento de diferentes microrganismos, permitindo o crescimento dos microrganismos desejáveis. Por exemplo, o ágar Thayer-Martin usado no isolamento de *Neisseria gonorrhoeae* (agente etiológico da gonorreia) de um espécime clínico. Os meios diferenciais contêm substâncias que podem ser metabolizadas ou não pelos microrganismos, permitindo a distinção entre eles. Por exemplo, as colônias de *E. coli* exibem um brilho metálico característico em ágar que contenha os corantes eosina e azul de metileno (ágar-EMB). O ágar-EMB, que contém alta concentração de um açúcar, fará com que os microrganismos que fermentam esse açúcar formem colônias avermelhadas. São utilizados meios diferenciais para certos propósitos, como a identificação de bactérias entéricas em água ou leite e a presença de determinados patógenos em amostras clínicas.

O Quadro 5.2, apresenta vários exemplos de condições de cultura de enriquecimento, bem como os tipos de bactérias que elas irão selecionar. Contudo, a despeito dos melhores esforços, muitos ambientes contêm várias bactérias não cultivadas.

Isolamento de microrganismos em cultura pura

Para se estudarem as propriedades de determinado microrganismo, é necessário manipulá-lo em uma cultura pura livre de todos os outros tipos de microrganismos. Para isso, é necessário isolar uma única célula de todas as demais; essa célula isolada deve ser cultivada de modo que sua progênie coletiva também permaneça isolada. Existem vários métodos disponíveis.

A. Semeadura em placa

Diferentemente das células em meio líquido, as células em meio sólido ou sobre ele ficam imobilizadas. Desse modo, se for colocado um número suficiente de células sobre, ou dentro do meio sólido, cada célula irá crescer, formando uma colônia isolada. O agente sólido ideal para a maioria dos meios de cultura microbiológica é o ágar, um polissacarídeo.

QUADRO 5.2 Alguns meios de cultura enriquecidos

Fonte de nitrogênio	Fonte de carbono	Atmosfera	Iluminação	Organismo predominante inicialmente enriquecido
N ₂	CO ₂	Aeróbia ou anaeróbia	Escura	Nenhum
			Luz	Cianobactérias
	Álcool, ácidos graxos, etc.	Anaeróbia	Escura	Nenhum
			Ar	Azotobacter
			Ar	Azotobacter
Glicose	Anaeróbia	Escura	<i>Clostridium pasteurianum</i>	
		Ar	Azotobacter	
NaNO ₃	CO ₂	Aeróbia ou anaeróbia	Escura	Nenhum
			Luz	Algas verdes e cianobactérias
	Álcool, ácidos graxos, etc.	Anaeróbia	Escura	Desnitrificadores
			Ar	Aeróbios
	Glicose	Anaeróbia	Escura	Fermentadores
			Ar	Aeróbios
NH ₄ Cl	CO ₂	Anaeróbia	Escura	Nenhum
		Aeróbia	Escura	Nitrosomonas
		Aeróbia ou anaeróbia	Luz	Algas verdes e cianobactérias
	Álcool, ácidos graxos, etc.	Anaeróbia	Escura	Redutores de sulfato ou de carbonato
		Aeróbia	Escura	Aeróbios
	Glicose	Anaeróbia	Escura	Fermentadores
		Aeróbia	Escura	Aeróbios

Nota: componentes de todos os meios: MgSO₄, K₂HPO₄, FeCl₃, CaCl₂, CaCO₃ e oligoelementos.

ácido extraído de determinadas algas vermelhas. Uma suspensão a 1,5 a 2% em água é dissolvida a 100°C, formando uma solução transparente que se solidifica a 45°C. Por conseguinte, uma solução estéril de ágar pode ser resfriada a 50°C; em seguida, são adicionadas bactérias ou outras células microbianas, e depois a solução é rapidamente resfriada abaixo de 45°C para formar um gel. (Embora as células microbianas sejam, em sua maioria, destruídas a 50°C, o tempo necessário para o processo de morte é suficientemente lento a essa temperatura para possibilitar o procedimento; ver a Fig. 4.3.) Uma vez solidificado, o ágar não se liquefaz novamente até ser aquecido acima de 80°C, de modo que qualquer temperatura apropriada à incubação de uma cultura microbiana pode ser utilizada subsequentemente. No **método de semeadura em profundidade** (método de *pour-plate*), uma suspensão de células é misturada com ágar liquefeito a 50°C e distribuída em uma **placa de Petri**. Quando o ágar se solidifica, as células são imobilizadas no ágar e crescem em colônias. Se a suspensão de células tiver sido diluída o suficiente, as colônias ficarão bem separadas, de modo que cada uma delas terá alta probabilidade de originar-se de uma única célula (Fig. 5.5). Entretanto, para se ter certeza disso, é necessário escolher uma colônia do tipo desejado, suspendê-la em água e semeá-la novamente. A repetição desse procedimento várias vezes irá garantir a obtenção de uma cultura pura.

Uma alternativa consiste em semear a suspensão original em placa de ágar com alça de metal (**técnica da placa estriada**).

À medida que se procede a isso, o número de células deixadas na alça torna-se cada vez menor, de modo que, finalmente, a alça poderá depositar células isoladas no ágar (Fig. 5.6). A placa

é incubada, e qualquer colônia bem isolada é removida, suspensa novamente em água e mais uma vez semeada na superfície do ágar. Se uma suspensão (e não apenas um pequeno crescimento de uma colônia ou de material em tubo inclinado) for semeada com alça, esse método será tão confiável quanto o método de semeadura em profundidade, além de ser muito mais rápido.

Na **técnica de semeadura por espalhamento**, um pequeno volume da suspensão microbiana diluída contendo cerca de 30 a 300 células é transferido para o centro de uma placa de ágar e espalhado igualmente sobre a superfície com uma alça de vidro estéril*. As células dispersas desenvolvem-se em colônias isoladas. Uma vez que o número de colônias deve ser igual ao número de organismos viáveis em uma amostra, pode-se usar as placas semeadas para contar a população microbiana.

B. Diluição

Um método muito menos confiável consiste em diluição até a extinção. A suspensão é diluída de modo seriado e faz-se a semeadura de amostras de cada diluição. Se apenas algumas amostras de determinada diluição exibirem crescimento, presume-se que algumas dessas culturas foram iniciadas a partir de células isoladas. Tal método só deverá ser utilizado se a semeadura em placas for, por algum motivo, impossível. Um aspecto indesejável desse método é que ele só pode ser utilizado para isolar o tipo predominante de microrganismo em uma população mista.

* N. de R.T. As alças de vidro empregadas em semeadura microbiana também são conhecidas como **alças de Drigalski**.

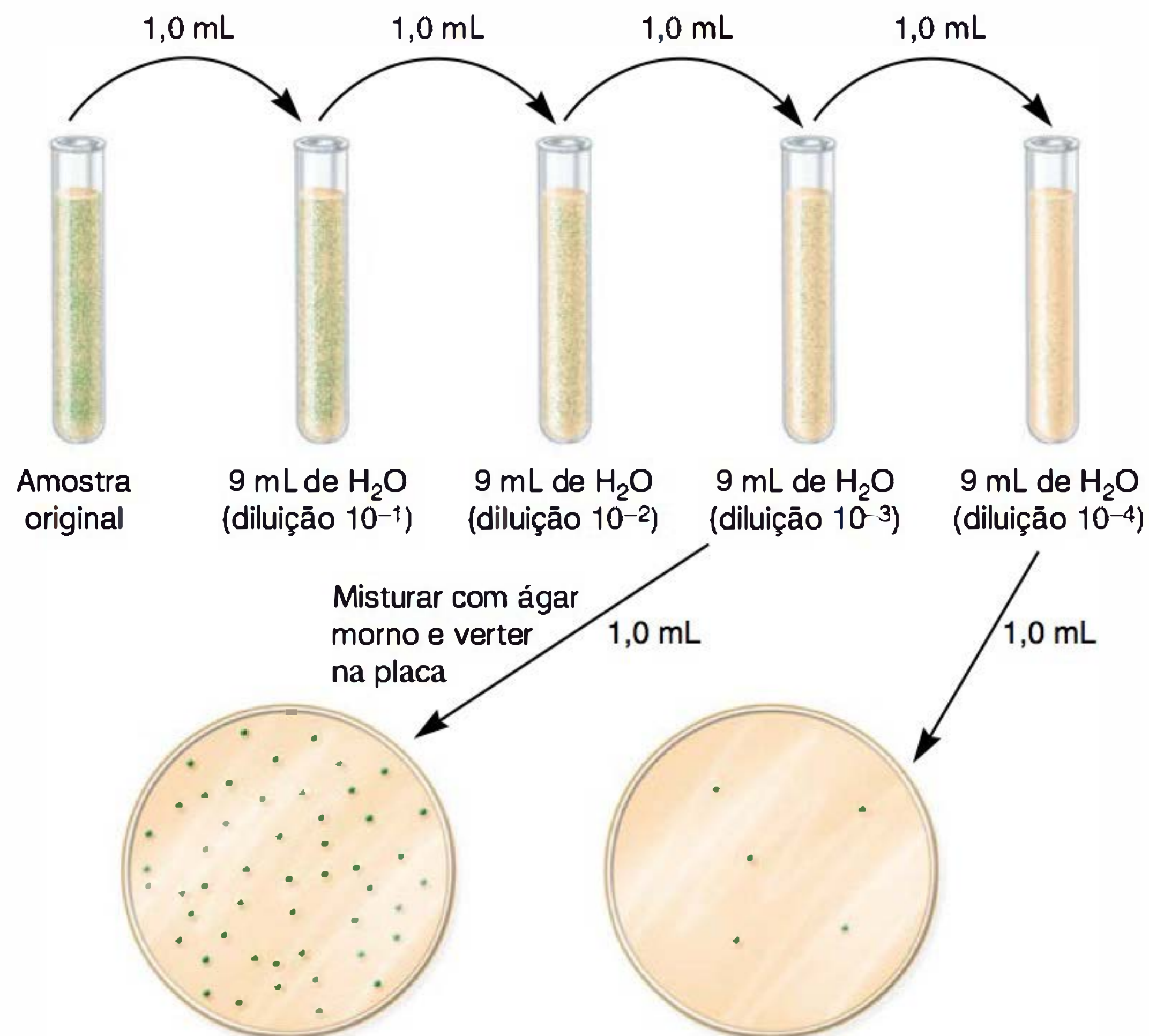
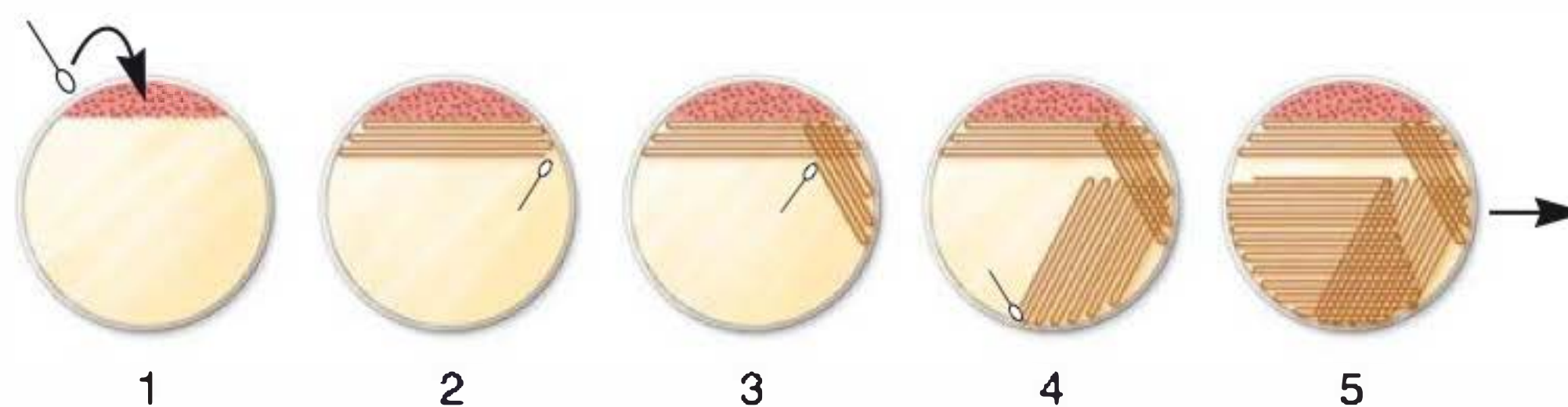
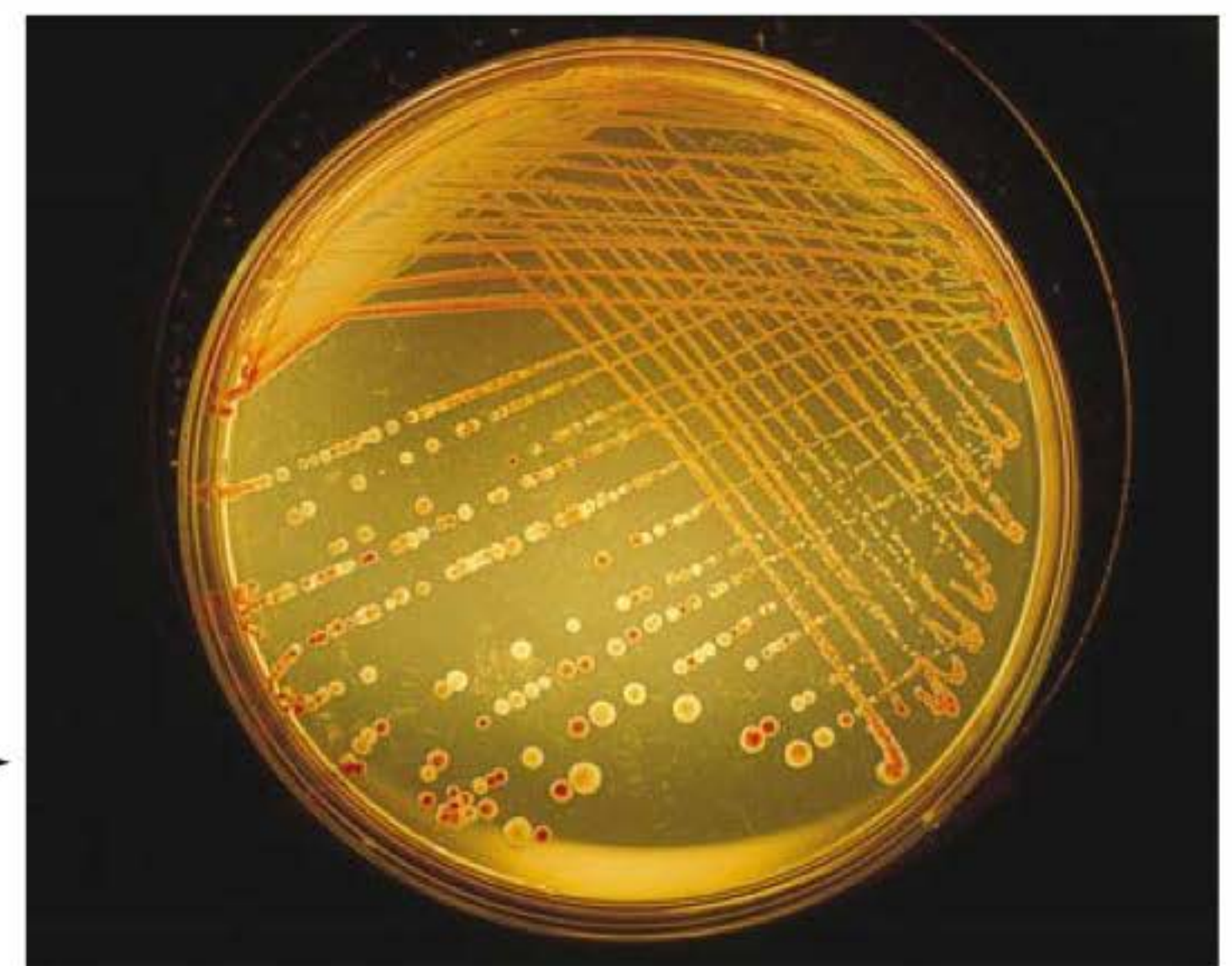


FIGURA 5.5 Técnica de semeadura em profundidade (método de *pour-plate*). A amostra original é diluída diversas vezes, a fim de reduzir a população. As amostras mais diluídas são misturadas com ágar morno e vertidas em placas de Petri. As células isoladas crescem em colônias e são usadas para a obtenção de colônias puras. As colônias de superfície são circulares; as colônias imersas no ágar são lenticulares (em forma de lente). (Reproduzida, com autorização, de Willey JM, Sherwood LM, Woolverton CJ: *Prescott, Harley & Klein's Microbiology*, 7th ed., McGraw-Hill, 2008. © The McGraw-Hill Companies, Inc.)

Nota: este método só funciona se a ferramenta usada para a semeadura (geralmente uma alça de inoculação) for reesterilizada após cada um dos passos 1 a 4.



A Passos da técnica da placa estriada.



B

FIGURA 5.6 Técnica da placa estriada. (A) Um típico padrão de semeadura. (Reproduzida, com autorização de Willey JM, Sherwood CJ, Woolverton CJ: *Prescott, Harley, & Klein's Microbiology*, 7th ed., McGraw-Hill, 2008. © The McGraw-Hill Companies, Inc.) (B) Um exemplo de placa estriada. (Reproduzida, com autorização, de Kathy Park Talaro.)

RESUMO DO CAPÍTULO

- Todos os organismos necessitam de compostos orgânicos e inorgânicos necessários para o seu crescimento. Os nutrientes são classificados de acordo com os elementos que eles fornecem, incluindo fontes de carbono, de nitrogênio, de fósforo, de enxofre e de sais minerais.
- Fatores de crescimento são compostos orgânicos que as células necessitam para o seu desenvolvimento, porém são incapazes de sintetizá-los.
- É necessária uma fonte de energia para manter uma força motriz de prótons e para permitir a síntese de macromoléculas. Há três principais mecanismos de metabolismo catabólico: fermentação, respiração e fotossíntese.

- Fatores ambientais, tais como pH, temperatura e aeração são importantes para o crescimento microbiano. A maioria dos patógenos humanos neutrófilos (cresce melhor em pH 6,0 a 8,0) e mesófilos (cresce melhor entre 30 e 37°C).
- Os organismos variam enormemente na sua habilidade de usar o oxigênio como aceptor de hidrogênio e pela sua capacidade de inativar produtos tóxicos do metabolismo aeróbio. Eles podem ser agrupados como: aeróbios obrigatórios, anaeróbios obrigatórios, anaeróbios facultativos, microaerófilos e aerotolerantes.
- Os meios microbiológicos são formulados para permitirem o crescimento de diferentes espécies bacterianas (meio enriquecido), distinguir entre as espécies presentes em uma amostra (meio diferencial) ou isolar um organismo presente em uma amostra mista (meio seletivo).

QUESTÕES DE REVISÃO

1. A maior parte dos microrganismos patogênicos para seres humanos cresce melhor em laboratório quando incubada a
 - (A) 15 a 20°C
 - (B) 20 a 30°C
 - (C) 30 a 37°C
 - (D) 38 a 50°C
 - (E) 50 a 55°C
2. O processo pelo qual os microrganismos formam ATP durante a fermentação da glicose é caracterizado por
 - (A) Acoplamento da produção de ATP com a transferência de elétrons
 - (B) Desnitrificação
 - (C) Redução do oxigênio
 - (D) Fosforilação do substrato
 - (E) Respiração anaeróbia
3. Qual das seguintes técnicas de cultura e meios pode enumerar o maior número de espécies microbianas em uma amostra de solo?
 - (A) Cultura de enriquecimento
 - (B) Placa de meio seletivo
 - (C) Placa de meio diferencial
 - (D) Tubo com caldo nutriente
 - (E) Diferentes meios de cultura e diferentes condições de incubação
4. A polimerização das unidades formadoras (p. ex., aminoácidos) em macromoléculas (p. ex., proteínas) é grandemente alcançada por
 - (A) Desidratação
 - (B) Redução
 - (C) Oxidação
 - (D) Assimilação
 - (E) Hidrólise
5. Uma cepa de *E. coli* sofre mutação que a impede de crescer bem em um meio que contenha glicose, sais minerais e cloreto de amônio. Entretanto, a cepa será capaz de crescer nesse meio se for adicionada metionina, referida como
 - (A) Um sal inorgânico
 - (B) Uma fonte de enxofre
 - (C) Um fator de crescimento
 - (D) Uma fonte de energia
 - (E) Uma fonte de nitrogênio
6. Qual das seguintes alternativas NÃO é um exemplo de metabolismo catabólico realizada por microrganismos?
 - (A) Fermentação
 - (B) Síntese proteica
 - (C) Respiração
 - (D) Fotossíntese
 - (E) C e D
7. Qual dos seguintes termos melhor descreve um microrganismo que cresce a 20°C?
 - (A) Neutrófilo
 - (B) Psicrófilo
 - (C) Mesófilo
 - (D) Osmófilo
 - (E) Termófilo
8. A habilidade de assimilar N_2 via NH_3 é denominada:
 - (A) Amonificação
 - (B) Anammox (oxidação anaeróbia de amônia)
 - (C) Redução do nitrato
 - (D) Deaminação
 - (E) Fixação do nitrogênio
9. Qual das seguintes moléculas NÃO é absorvida pelas células eucariontes?
 - (A) Glicose
 - (B) Lactato
 - (C) Sulfato (SO_4^{2-})
 - (D) Nitrogênio (N_2)
 - (E) Fosfato (PO_4^{3-})
10. As bactérias que são patógenos humanos intracelulares obrigatórios (p. ex., *Chlamydia trachomatis*) são consideradas:
 - (A) Autotróficas
 - (B) Fotossintéticas
 - (C) Quimiolitotróficas
 - (D) Hipertermófilas
 - (E) Heterotróficas

Respostas

- | | | | |
|------|------|------|-------|
| 1. C | 4. A | 7. B | 10. E |
| 2. D | 5. C | 8. E | |
| 3. E | 6. B | 9. D | |

REFERÊNCIAS

- Adams MW: Enzymes and proteins from organisms that grow near or above 100°C. *Annu Rev Med* 1993;47:627.
- Koch AL: Microbial physiology and ecology of slow growth. *Microbiol Molec Biol Rev* 1997;61:305.
- Maier RM, Pepper IL, Gerba CP: *Environmental Microbiology*. Academic Press, 1992.
- Marzlut GA: Regulation of sulfur and nitrogen metabolism in filamentary fungi. *Annu Rev Microbiol* 1993;42:89.
- Pelczar MJ Jr, Chan ECS, Krieg NR: *Microbiology: Concepts and Applications*. McGraw-Hill, 1993.
- Schloss PD, Handelsman J: Status of the microbial census. *Microbiol Molec Biol Rev* 2004;68:686.
- Wood JM: Bacterial osmoregulation: A paradigm for the study of cellular homeostasis. *Annu Rev Microbiol* 2011;65:215.

Metabolismo microbiano

O PAPEL DO METABOLISMO NA BIOSÍNTESE E NO CRESCIMENTO

O crescimento microbiano exige a polimerização das subunidades bioquímicas em proteínas, ácidos nucleicos, polissacarídeos e lipídeos. As subunidades precursoras precisam estar pré-formadas no meio ou devem ser sintetizadas pelas células em crescimento. A necessidade de coenzimas que participam na catálise enzimática constitui uma demanda adicional de biossíntese. As reações de polimerização nos processos de biossíntese exigem a transferência das ligações de anidrido a partir da adenosina trifosfato (ATP). O crescimento requer uma fonte de energia metabólica para a síntese das ligações de anidrido, bem como manutenção dos gradientes transmembrana de íons e metabólitos.

O **metabolismo** apresenta dois componentes: o **catabolismo** e o **anabolismo** (Fig. 6.1). O metabolismo catabólico engloba processos de obtenção de energia, liberada pela clivagem de diferentes compostos (p. ex., glicose), que é usada para síntese de ATP. O metabolismo anabólico, ou de **biossíntese** inclui processos que utilizam a energia armazenada no ATP para sintetizar e montar as subunidades das macromoléculas que compõem a célula.

A sequência das subunidades em uma macromolécula é determinada de duas maneiras. Nos ácidos nucleicos e nas proteínas, a sequência é **dirigida por um modelo**: o DNA atua como modelo para sua própria síntese e a síntese dos vários tipos de RNA; o RNA mensageiro serve de modelo para a síntese das proteínas. Já nos carboidratos e lipídeos, a disposição das subunidades é totalmente determinada por especificidades enzimáticas. Uma vez sintetizadas, as macromoléculas organizam-se para formar as estruturas supramoleculares da célula, como, por exemplo, ribossomos, membranas, parede celular, flagelos e *pili*.

A velocidade da síntese macromolecular e a atividade das vias metabólicas precisam ser reguladas, de modo que a biossíntese seja equilibrada. Todos os componentes necessários à síntese macromolecular devem estar presentes para que o crescimento seja ordenado, e o controle tem de ser exercido para que as reservas das células não sejam consumidas em produtos que não contribuem para o crescimento ou a sobrevivência.

Este capítulo faz uma revisão sobre o metabolismo microbiano e sua regulação. Os microrganismos representam extremos de divergência evolutiva, encontrando enorme variedade de rotas metabólicas dentro desse grupo. Assim, por exemplo, qualquer uma de mais de meia dúzia de vias metabólicas diferentes pode ser utilizada para a assimilação de um composto

relativamente simples, como o benzoato, e uma única via para a assimilação do benzoato pode ser regulada por qualquer um de mais de meia dúzia de mecanismos de controle. O objetivo é ilustrar os princípios subjacentes às vias metabólicas e sua regulação. O princípio básico que determina as vias metabólicas é que elas sejam seguidas mediante a organização de um número relativamente pequeno de reações bioquímicas em uma sequência específica. Muitas vias de biossíntese podem ser deduzidas pela verificação das estruturas químicas das substâncias de partida, do produto final e, talvez, de um ou dois intermediários metabólicos. O princípio básico subjacente à regulação metabólica consiste no fato de que as enzimas tendem a atuar apenas quando sua atividade catalítica se faz necessária. A atividade de uma enzima pode ser modificada ao variar-se a sua quantidade ou a do substrato. Em alguns casos, a atividade das enzimas pode ser alterada pela ligação de **efetores** específicos — metabólitos que modulam a atividade enzimática.

METABÓLITOS FOCAIS E SUAS INTERCONVERSÕES

Interconversões de glicose-6-fosfato e carboidratos

As origens da biossíntese das subunidades que formam as macromoléculas e as coenzimas podem ser rastreadas até aos precursores denominados metabólitos focais. As Figuras 6.2 a 6.5 ilustram como os respectivos metabólitos focais (glicose-6-fosfato (G6PD), fosfoenolpiruvato, oxaloacetato e α -ketoglutarato) dão origem a maioria dos produtos finais da biossíntese.

A Figura 6.2 ilustra como a G6PD é convertida em uma série de produtos finais de biossíntese através de ésteres de fosfato de carboidratos com cadeias de diferentes comprimentos. Os carboidratos possuem a fórmula empírica $(\text{CH}_2\text{O})_n$, e o objetivo primeiro de seu metabolismo é modificar o valor de n , o comprimento da cadeia de carbonos. Os mecanismos pelos quais os comprimentos das cadeias de fosfatos de carboidratos são interconvertidos encontram-se resumidos na Figura 6.6. Em um caso, são utilizadas reações oxidativas para remover um único carbono da G6PD, produzindo-se o derivado de pentose, a ribulose-5-fosfato. As reações da isomerase e da epimerase interconvertem as formas bioquímicas mais comuns das pentoses: ribulose-5-fosfato, ribose-5-fosfato e xilulose-5-fosfato. As transcetolases transferem um fragmento de dois carbonos

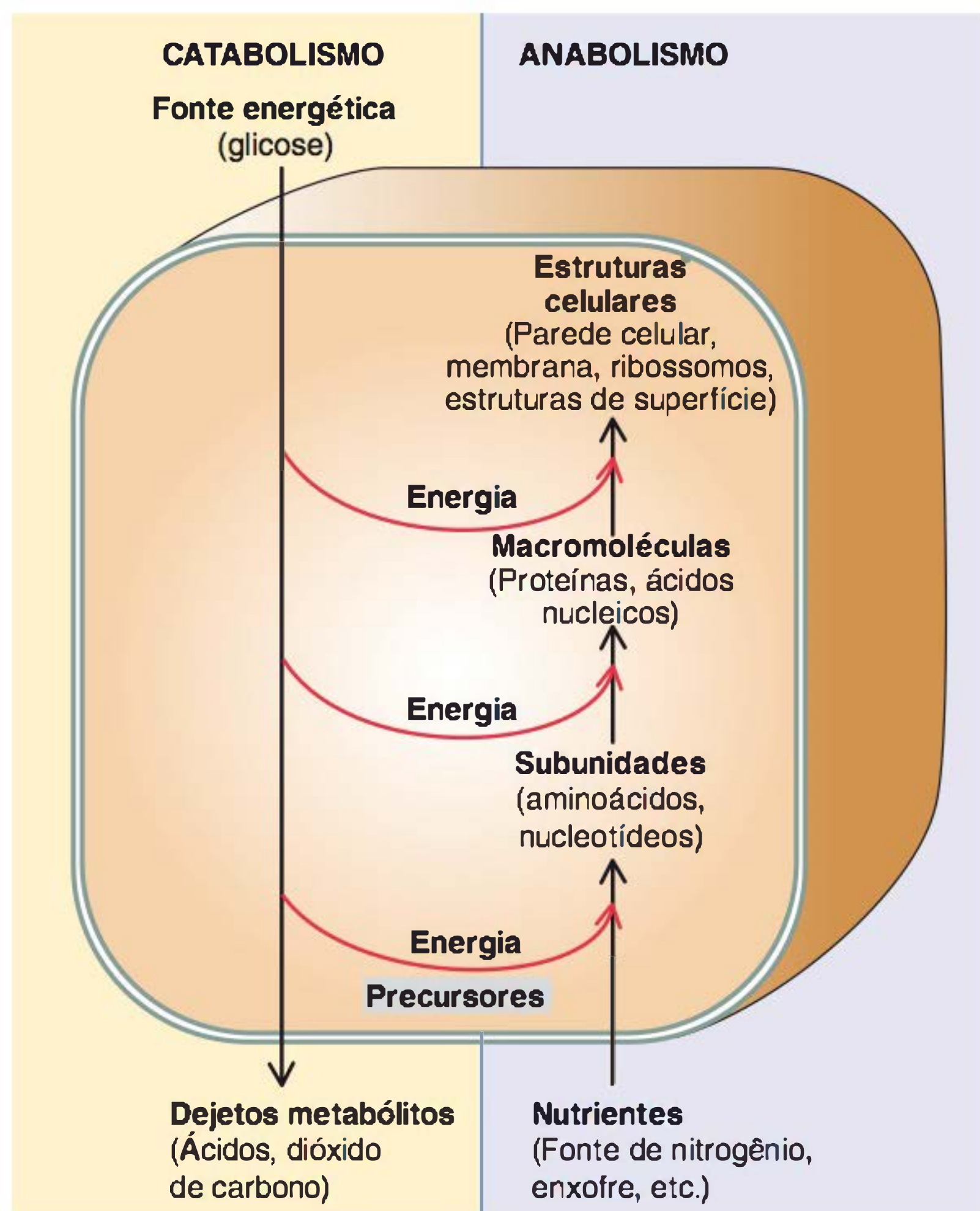


FIGURA 6.1 A relação entre o metabolismo catabólico e o anabólico. O catabólico compreende processos que, pela clivagem de compostos, resultam na liberação de energia usada na síntese de adenosina trifosfato (ATP); além de precusores metabólicos usados na biossíntese. O anabólico ou a biossíntese incluem processos que utilizam ATP e os precusores metabólicos para sintetizar e montar as subunidades das macromoléculas que constituem a célula. (Reproduzida, com autorização, de Nester EW, Anderson DG, Roberts CE, Nester MT [editores]: *Microbiology: A Human Perspective*, 6th ed. McGraw-Hill, 2009, p. 127. © The McGraw-Hill Companies, Inc.).

de um doador para uma molécula aceptora, reações que possibilitam às pentoses formar ou serem formadas a partir de carboidratos com cadeias de comprimentos variáveis. Como mostra a Figura 6.6, duas pentoses-5-fosfato ($n = 5$) são interconversíveis com a triose-3-fosfato ($n = 3$) e com a heptose-7-fosfato ($n = 7$); a pentose-5-fosfato ($n = 5$) e a tetrose-4-fosfato ($n = 4$) são interconversíveis com a triose-3-fosfato ($n = 3$) e a hexose-6-fosfato ($n = 6$).

A cadeia hexose de seis carbonos da frutose-6-fosfato pode ser convertida em dois derivados triose de três carbonos pela ação consecutivamente de uma quinase e uma aldolase sobre a frutose-6-fosfato. Como alternativa, podem ser utilizadas aldolases, que atuam em conjunto com fosfatases, para aumentar o comprimento das moléculas dos carboidratos: as trioses-fosfato dão origem à frutose-6-fosfato; uma triose-fosfato e uma tetrose-4-fosfato formam heptose-7-fosfato. A forma final da interconversão do comprimento das cadeias de carboidratos é a reação da transaldolase, que interconverte a heptose-7-fosfato e a triose-3-fosfato em tetrose-4-fosfato e hexose-6-fosfato.

A coordenação das diferentes reações de rearranjo dos carboidratos, para atingir um objetivo metabólico global, é ilustrada pela derivação da hexose-monofosfato (Fig. 6.7), ciclo metabólico utilizado pelas cianobactérias para a redução do nicotinamida adenina dinucleotídeo (NAD^+) em nicotinamida

adenina dinucleotídeo reduzido (NADH), que atua como redutor para a respiração no escuro. Muitos microrganismos utilizam o derivado de hexose monofosfato para reduzir a nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato (NADP^+) em nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato reduzido (NADPH), utilizado em reações de redução biossintéticas. As primeiras etapas na derivação da hexose-monofosfato são as reações oxidativas que encurtam seis hexoses-6-fosfato (abreviadas como 6C_6 na Fig. 6.7) em seis pentoses-5-fosfato (abreviadas como 6C_5). As reações de rearranjo dos carboidratos convertem as seis moléculas C_5 em cinco moléculas C_6 de modo que o ciclo oxidativo possa continuar.

Evidentemente, todas as reações de interconversão de comprimentos de cadeias de carboidratos não atuam ao mesmo tempo. A seleção de conjuntos específicos de enzimas, essencialmente a determinação da via metabólica tomada, é condicionada pela fonte de carbono e pelas necessidades de biossíntese da célula. Assim, por exemplo, a célula que recebe uma triose-fosfato como fonte de carboidrato utilizará a combinação aldolase-fosfatase para formar frutose-6-fosfato; a quinase que atua sobre a frutose-6-fosfato na sua conversão em triose-fosfato não seria ativa nessas circunstâncias. Se as necessidades de pentose-5-fosfato forem altas, como no caso da assimilação fotossintética de dióxido de carbono, as transcetolases que poderão dar origem a pentoses-5-fosfato serão muito ativas.

Em suma, a G6PD pode ser considerada um metabólito focal, visto que atua tanto como precursor direto de subunidades metabólicas quanto como fonte de carboidratos de comprimento variável, utilizados para fins de biossíntese. A própria G6PD pode ser produzida a partir de outros carboidratos fosforilados pela seleção de vias a partir de um conjunto de reações para interconversão de comprimentos de cadeias. As reações escolhidas são determinadas pelo potencial genético da célula, pela fonte primária de carbono e pelas necessidades de biossíntese do microrganismo. É necessário haver uma regulação metabólica para garantir a escolha das reações que suprirão as demandas do organismo.

Formação e utilização do fosfoenolpiruvato

As trioses-fosfato formadas pela interconversão de fosfoésteres de carboidratos são convertidas em fosfoenolpiruvato pela série de reações mostradas na Figura 6.8. A oxidação do gliceraldeído-3-fosfato pelo NAD^+ é acompanhada pela formação da ligação acilfosfato no carbono 1 do 1,3-difosfoglicerato. Esse anidrido-fosfato acilfosfato é transferido mediante a **fosforilação do substrato em adenosina difosfato (ADP)**, produzindo uma ligação rica em energia (ATP). Outra ligação fosfato rica em energia é formada pela desidratação do 2-fosfoglicerato em fosfoenolpiruvato; por meio de outra fosforilação de substrato, o fosfoenolpiruvato pode doar a ligação rica em energia ao ADP com a consequente formação de ATP e piruvato. Por conseguinte, podem ser obtidas duas ligações ricas em energia do ATP pela conversão metabólica da triose-fosfato em piruvato. Trata-se de um processo oxidativo, e, na ausência de um aceptor exógeno de elétrons, o NADH gerado pela oxidação do gliceraldeído-3-fosfato deve ser oxidado em NAD^+ pelo piruvato ou por metabólitos derivados a partir do piruvato. Os produtos formados em consequência desse

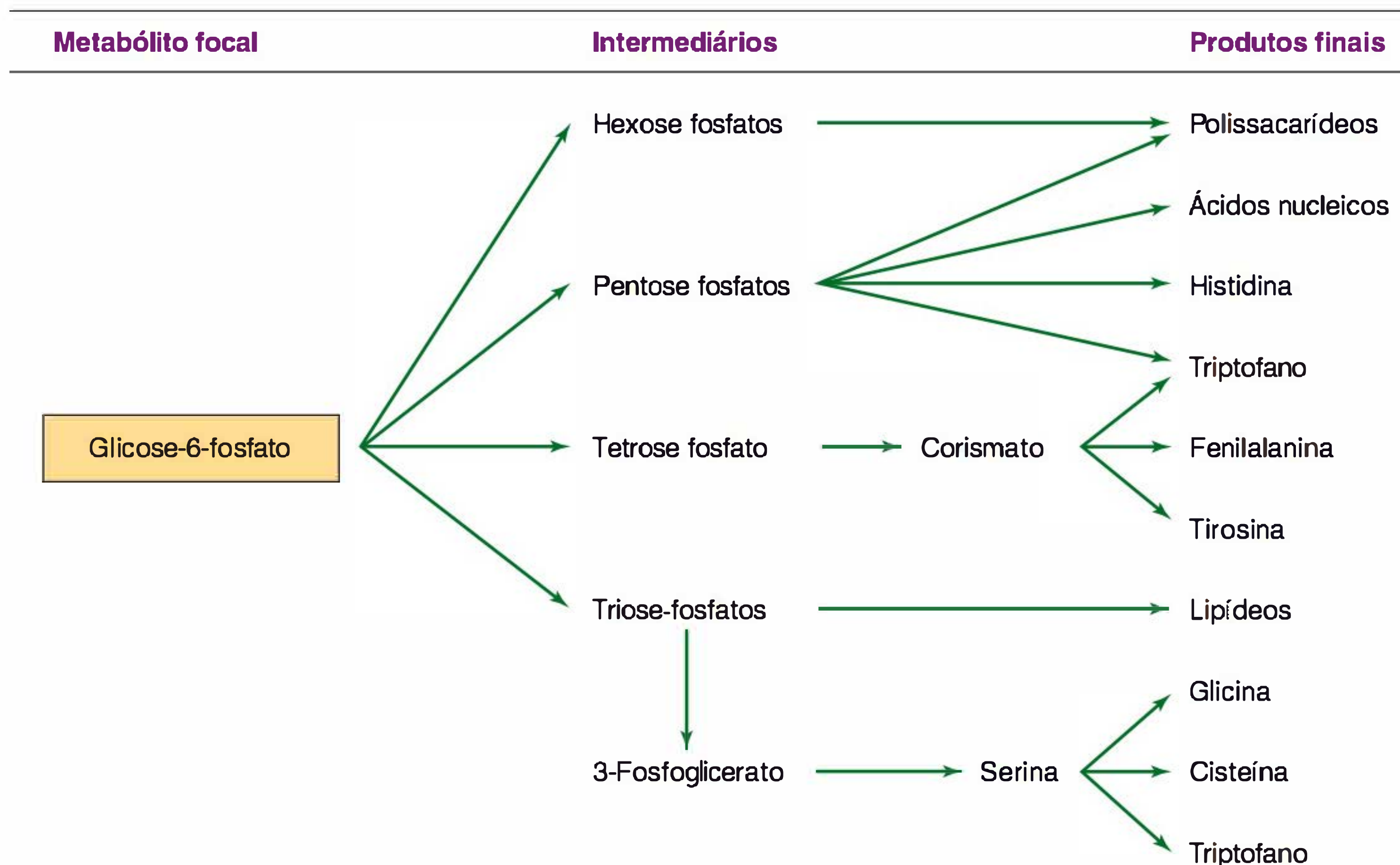


FIGURA 6.2 Produtos finais da biossíntese formados a partir da glicose-6-fosfato. Os ésteres de fosfato dos carboidratos com cadeias de comprimento variável atuam como intermediários nas vias biossintéticas.

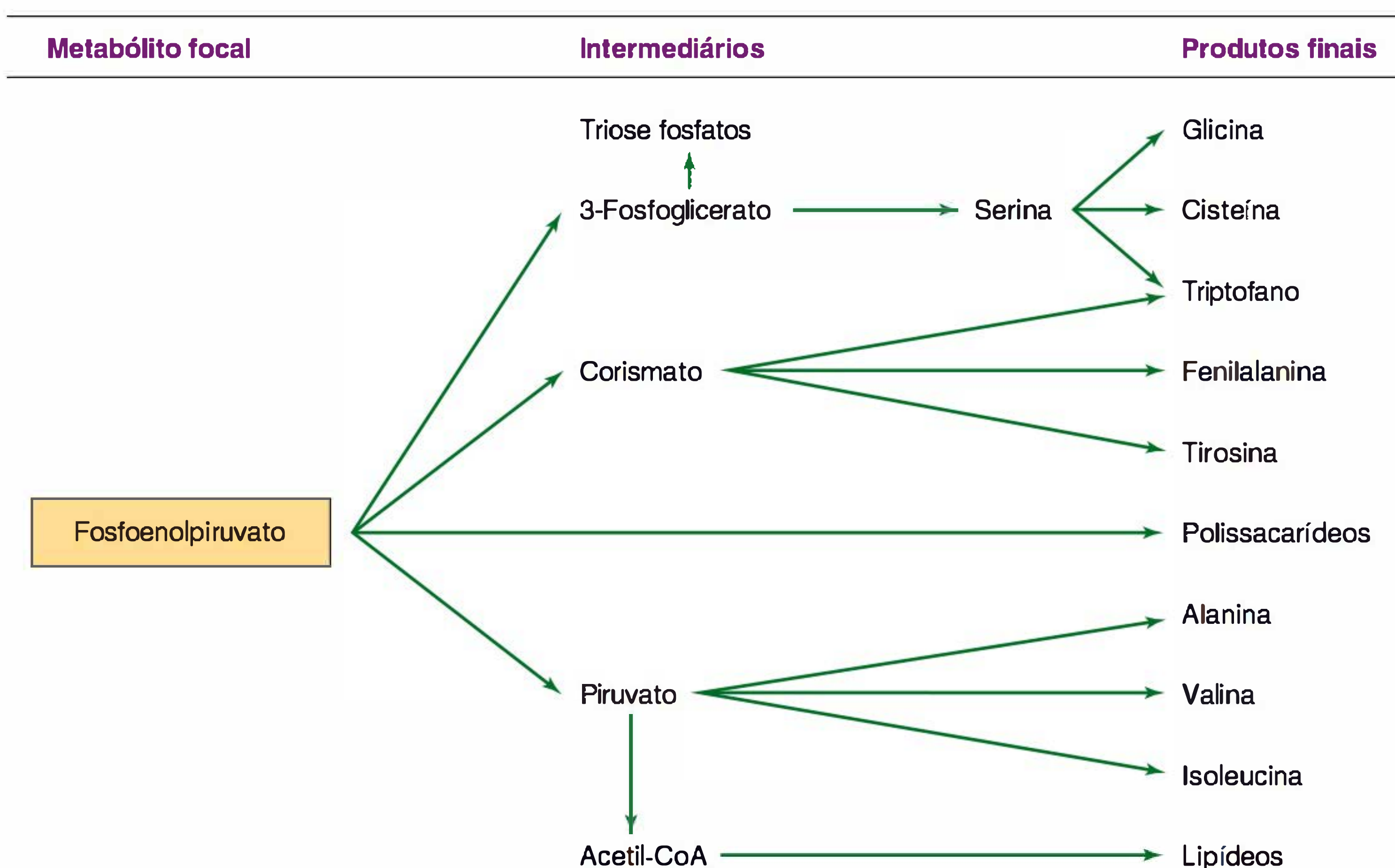


FIGURA 6.3 Produtos finais da biossíntese formados a partir do fosfoenolpiruvato.

processo variam e, conforme descreveremos adiante neste capítulo podem ser utilizados na identificação de bactérias de importância clínica.

A formação de fosfoenolpiruvato a partir do piruvato requer uma quantidade substancial de energia metabólica, e no processo são utilizadas invariavelmente duas ligações anidrido

do ATP. Alguns microrganismos — por exemplo, *Escherichia coli* — fosforilam diretamente o piruvato com ATP, havendo, em seguida, a formação de adenosina monofosfato (AMP) e fosfato inorgânico (P_i). Outros microrganismos utilizam duas etapas metabólicas: uma ligação pirofosfato do ATP é utilizada na carboxilação do piruvato em oxaloacetato, e uma segunda

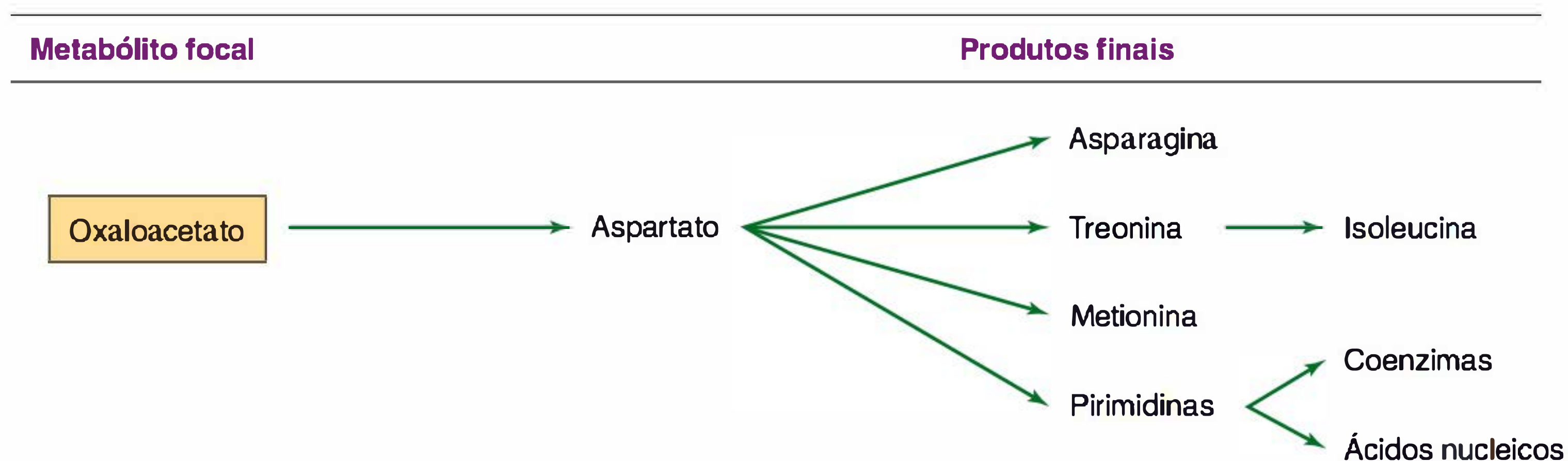


FIGURA 6.4 Produtos finais da biossíntese formados a partir do oxaloacetato. Os produtos finais: aspartato, treonina e pirimidinas atuam como intermediários na síntese de outros compostos.

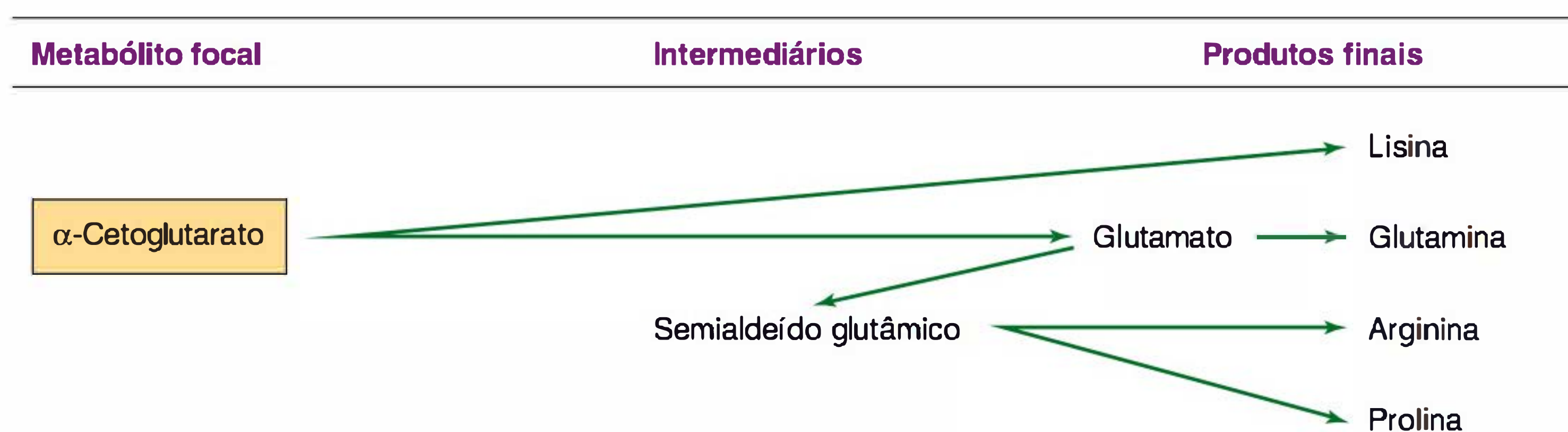


FIGURA 6.5 Produtos finais da biossíntese formados a partir do α -cetogluturato.

ligação pirofosfato (frequentemente transportada mais pelo **guanosina trifosfato** [GTP] do que pelo ATP) é utilizada para gerar fosfoenolpiruvato a partir do oxaloacetato.

Formação e utilização do oxaloacetato

Conforme previamente descrito, muitos microrganismos formam oxaloacetato mediante a carboxilação, dependente de ATP, do piruvato. Outros microrganismos, como a *E. coli*, que formam fosfoenolpiruvato diretamente a partir do piruvato, sintetizam o oxaloacetato por carboxilação do fosfoenolpiruvato.

A succinil-CoA é um precursor biossintético necessário à síntese das porfirinas e outros compostos essenciais. Alguns microrganismos formam a succinil-CoA mediante a redução do oxaloacetato via malato e fumarato. Tais reações representam uma reversão do fluxo metabólico observado no ciclo convencional dos ácidos tricarboxílicos (Fig. 6.11).

Formação do α -cetogluturato a partir do piruvato

A conversão do piruvato em α -cetogluturato requer uma via metabólica divergente e, em seguida, convergente (Fig. 6.9). Por um caminho, o oxaloacetato é formado por carboxilação do piruvato ou do fosfoenolpiruvato. Pelo outro, o piruvato sofre oxidação em acetil-CoA. É interessante assinalar que, independentemente do mecanismo enzimático utilizado para

a formação do oxaloacetato, a acetil-CoA é necessária como efetor metabólico positivo desse processo. Por conseguinte, a síntese do oxaloacetato é equilibrada com a produção de acetil-CoA. A condensação do oxaloacetato com acetil-CoA produz citrato. A isomerização da molécula de citrato produz isocitrato, descarboxilado de modo oxidativo em α -cetogluturato.

VIAS DE ASSIMILAÇÃO

Crescimento com acetato

O acetato é metabolizado via acetil-CoA, tendo inúmeros microrganismos com a capacidade de formar acetil-CoA (Fig. 6.10), utilizada na biossíntese do α -cetogluturato e, na maioria dos microrganismos respiratórios, o fragmento acetil da acetil-CoA é oxidado por completo em dióxido de carbono pelo ciclo dos ácidos tricarboxílicos (Fig. 6.11). Entretanto, a capacidade de usar o acetato como fonte efetiva de carbono limita-se a um número relativamente pequeno de microrganismos e vegetais. A síntese final dos precursores biossintéticos a partir do acetato é efetuada por reações de acoplamento do ciclo dos ácidos tricarboxílicos com duas outras reações catalisadas pela isocitrato-liase e pela malato-sintase. Conforme ilustra a Figura 6.12, essas reações possibilitam a conversão oxidativa *final* de duas porções acetil provenientes da acetil-CoA em uma molécula de succinato. O succinato pode ser utilizado para fins de biossíntese após sua conversão em oxaloacetato, α -cetogluturato, fosfoenolpiruvato ou G6PD.

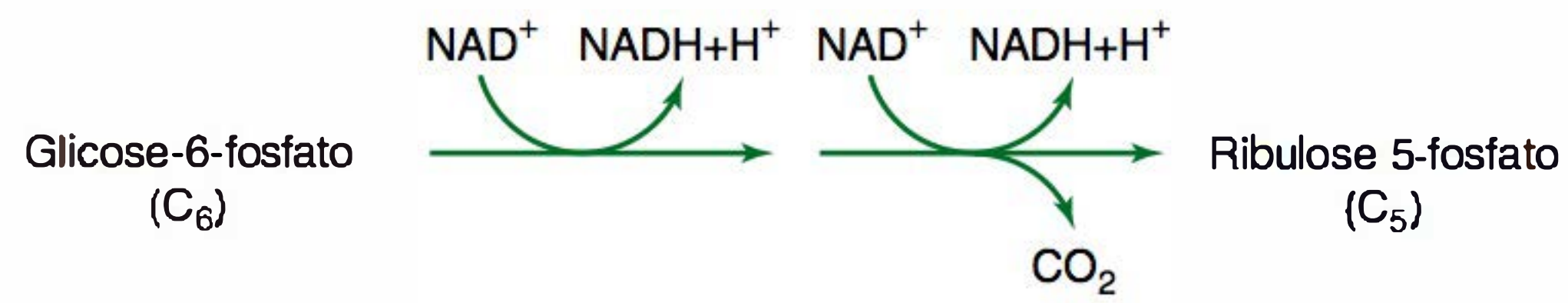
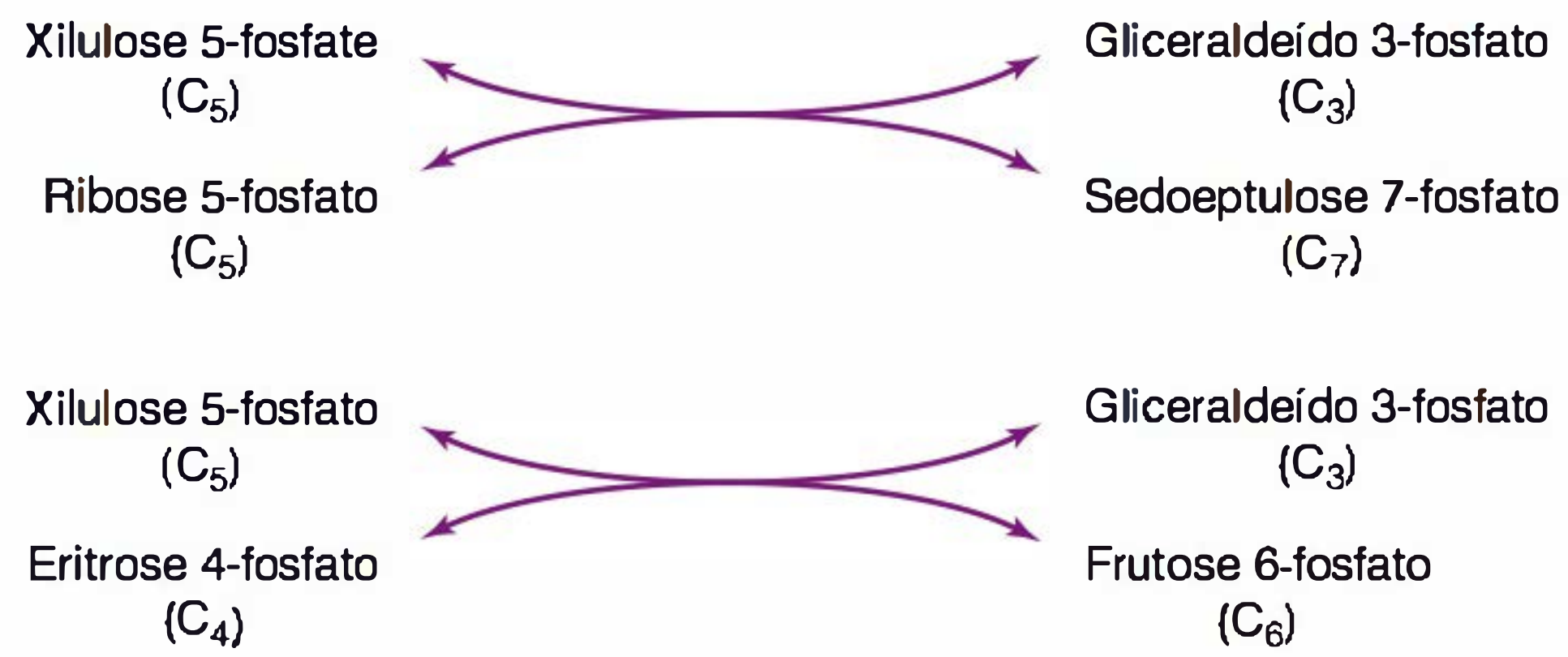
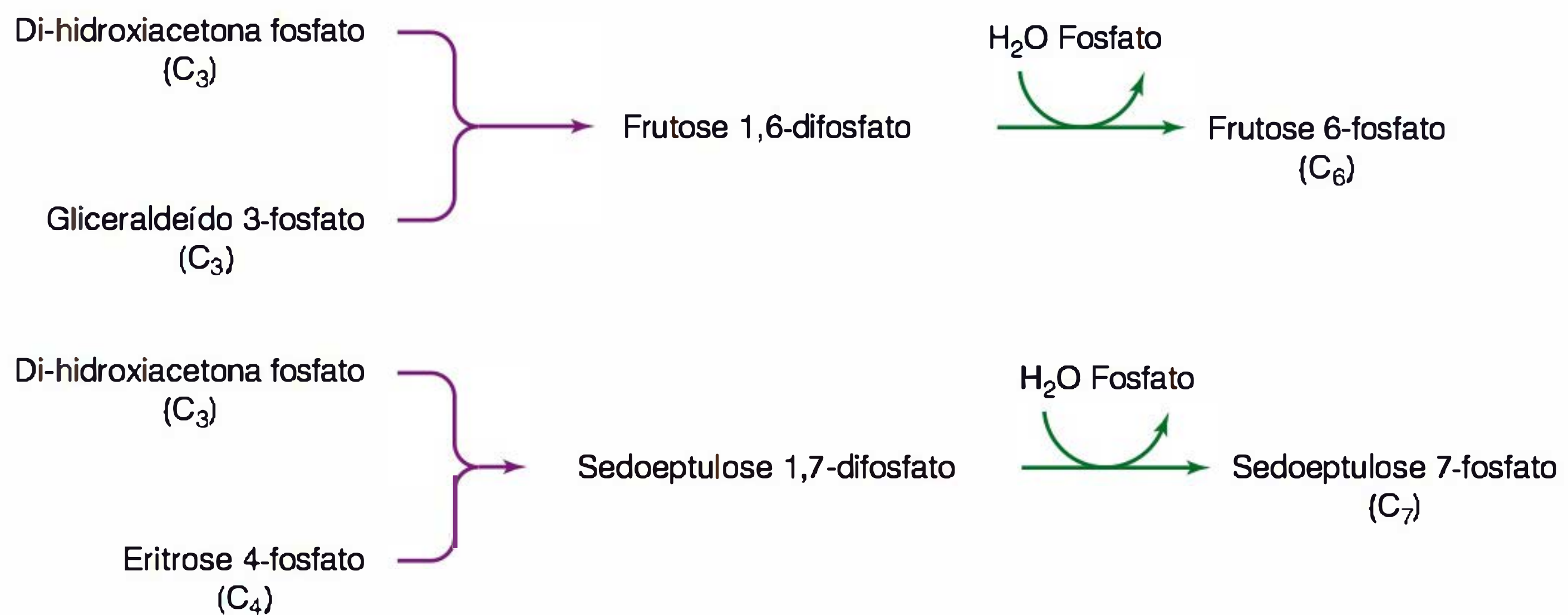
Desidrogenases**Transcetolases****Quinase, aldolase****Aldolase, fosfatase****Transaldolase**

FIGURA 6.6 Mecanismos bioquímicos para modificação do comprimento das moléculas dos carboidratos. A fórmula empírica geral dos ésteres de fosfato dos carboidratos — (C_nH_{2n}O_n)-N-fosfato — está abreviada (C_n) para enfatizar as alterações no comprimento das cadeias.

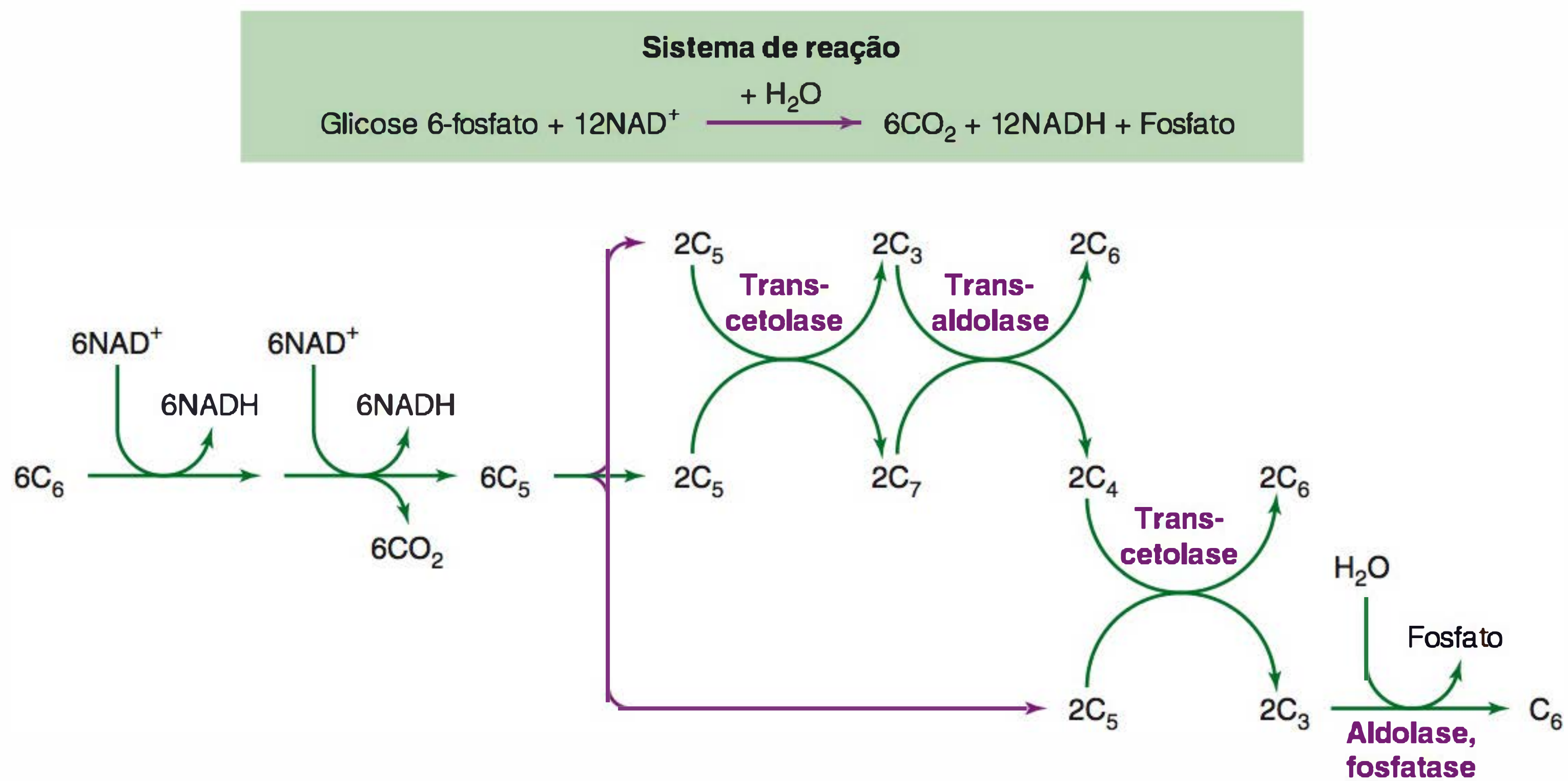


FIGURA 6.7 A derivação de hexose-monofosfato. As reações oxidativas (Fig. 6.6) reduzem o NAD^+ (nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato) e produzem CO_2 , resultando em encurtamento das seis hexoses-fosfato (abreviadas por C_6) em seis pentoses-fosfato (abreviadas por C_5). Os rearranjos dos carboidratos (Fig. 6.6) convertem as pentoses-fosfato em hexoses-fosfato, de modo que o ciclo oxidativo possa prosseguir.

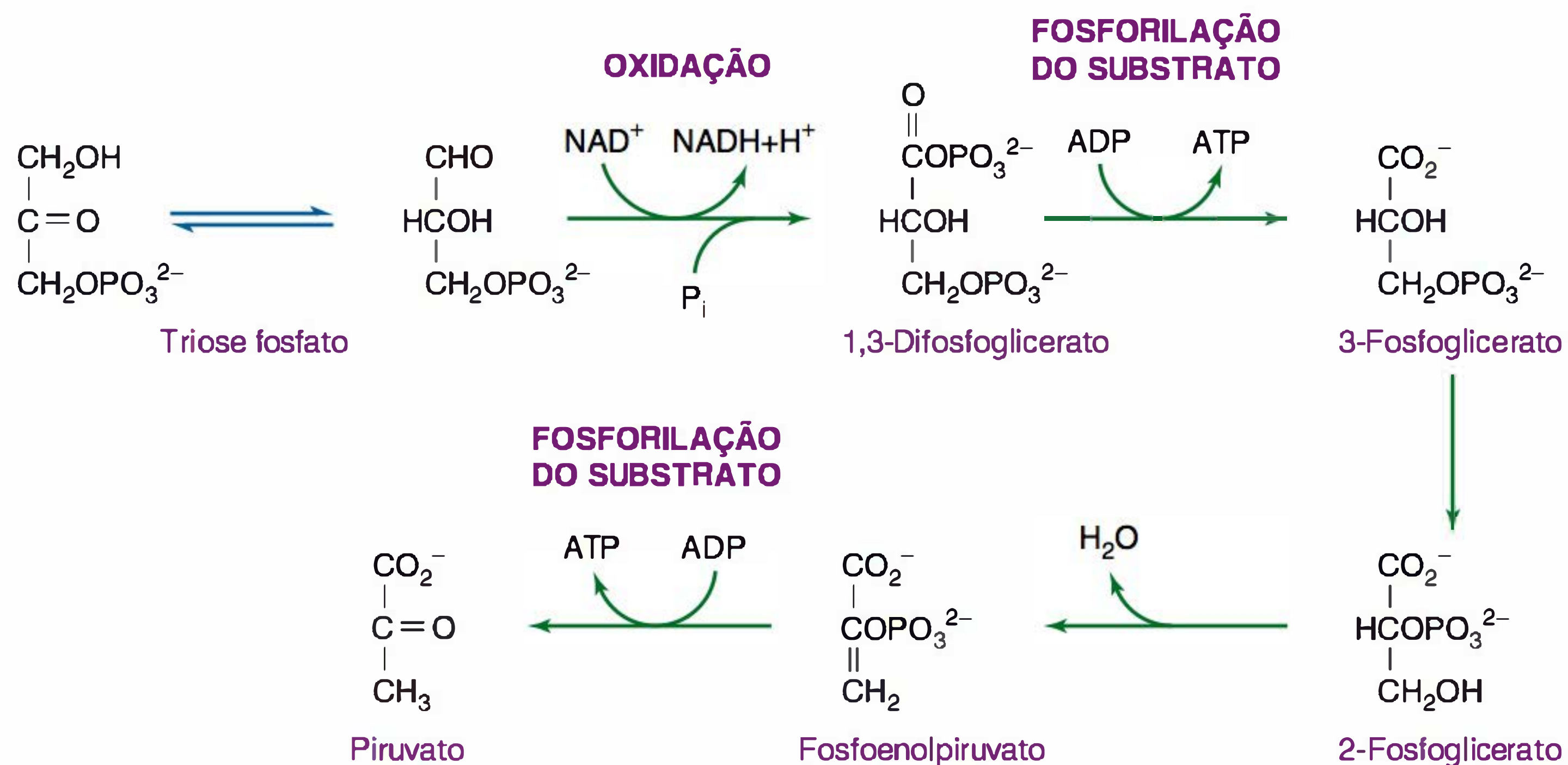


FIGURA 6.8 Formação do fosfoenolpiruvato e do piruvato a partir da triose-fosfato. A figura chama a atenção para dois locais de fosforilação do substrato e para a etapa oxidativa que resulta na redução do (nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato (NAD^+) em nicotinamida adenina dinucleotídeo hidreto (NADH). A repetição dessa via de produção de energia requer um mecanismo para a oxidação do NADH em NAD^+ . Os microrganismos fermentativos atingem esse objetivo ao utilizar o piruvato ou metabólitos derivados do piruvato como oxidantes.

Crescimento com dióxido de carbono: o ciclo de Calvin

De forma similar as plantas e algas, diversas espécies microbianas são capazes de utilizar o dióxido de carbono como única fonte de carbono. Em quase todos esses organismos, a principal via de assimilação do carbono é a do ciclo de Calvin, em que o dióxido de carbono e a ribulose-difosfato combinam-se para formar duas moléculas de 3-fosfoglicerato (Fig. 6.13A). O 3-fosfoglicerato é fosforilado em 1,3-difosfoglicerato, composto reduzido no derivado triose, o gliceraldeído 3-fosfato. As reações de rearranjo dos carboidratos (Fig. 6.6) possibilitam a

conversão da triose fosfato no derivado pentose, ribulose-5-fosfato, que sofre fosforilação para regenerar a molécula aceptor, ribulose-1,5-difosfato (Fig. 6.13B). O carbono reduzido adicional, formado por assimilação redutora do dióxido de carbono, é convertido em metabólitos focais para as vias biossintéticas.

As células que podem utilizar o dióxido de carbono como única fonte de carbono são denominadas **autotróficas**, e as exigências para esse padrão de assimilação do carbono podem ser resumidas brevemente como a seguir: além da reação primária de assimilação que dá origem ao 3-fosfoglicerato, deve existir um mecanismo para a regeneração da molécula

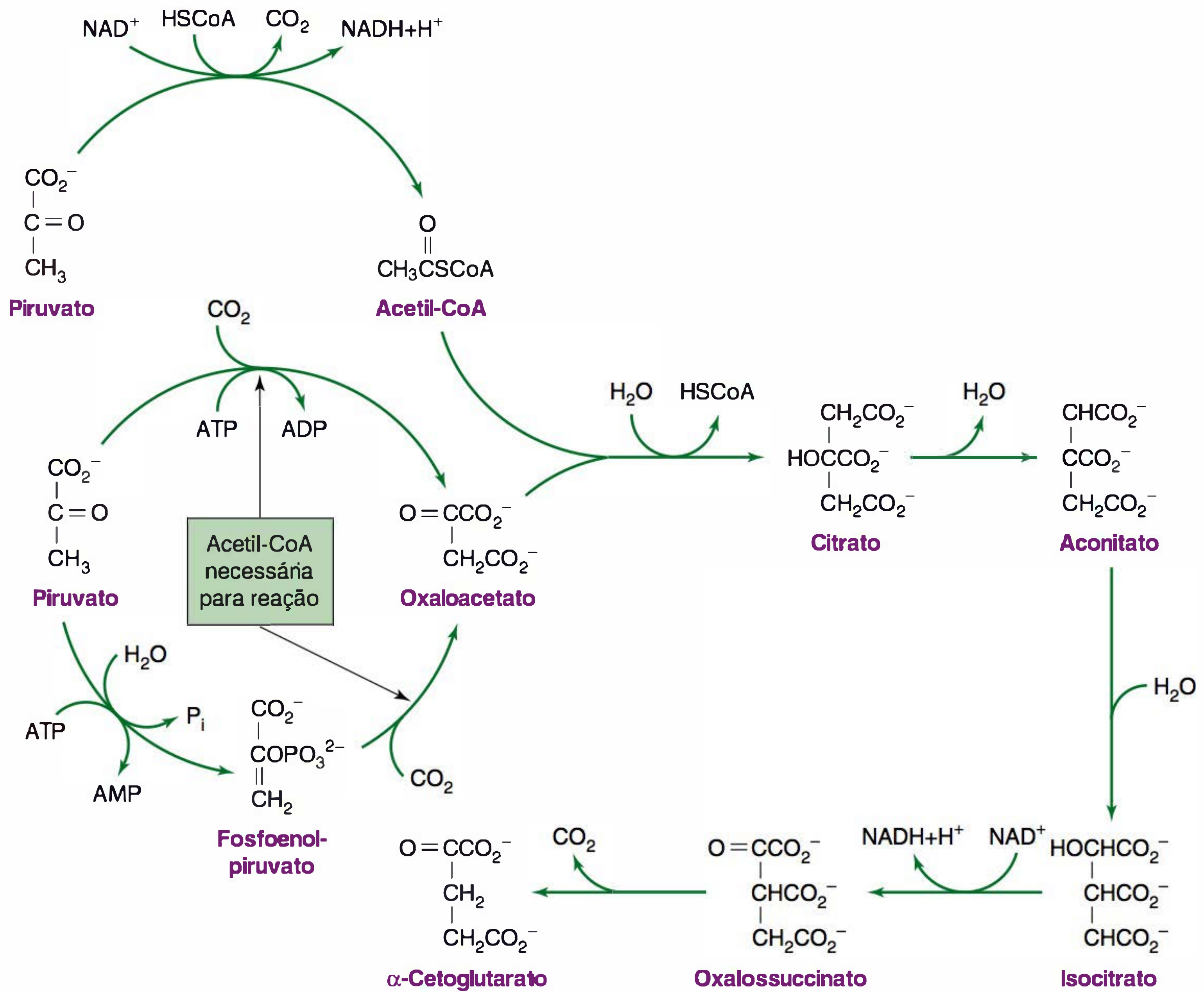


FIGURA 6.9 Conversão do piruvato em α-cetoglutarato. O piruvato é convertido em α-cetoglutarato por uma ramificação da rota de biossíntese. Em uma ramificação, o piruvato é oxidado em acetil-CoA; em outra, o piruvato é carboxilado em oxaloacetato.

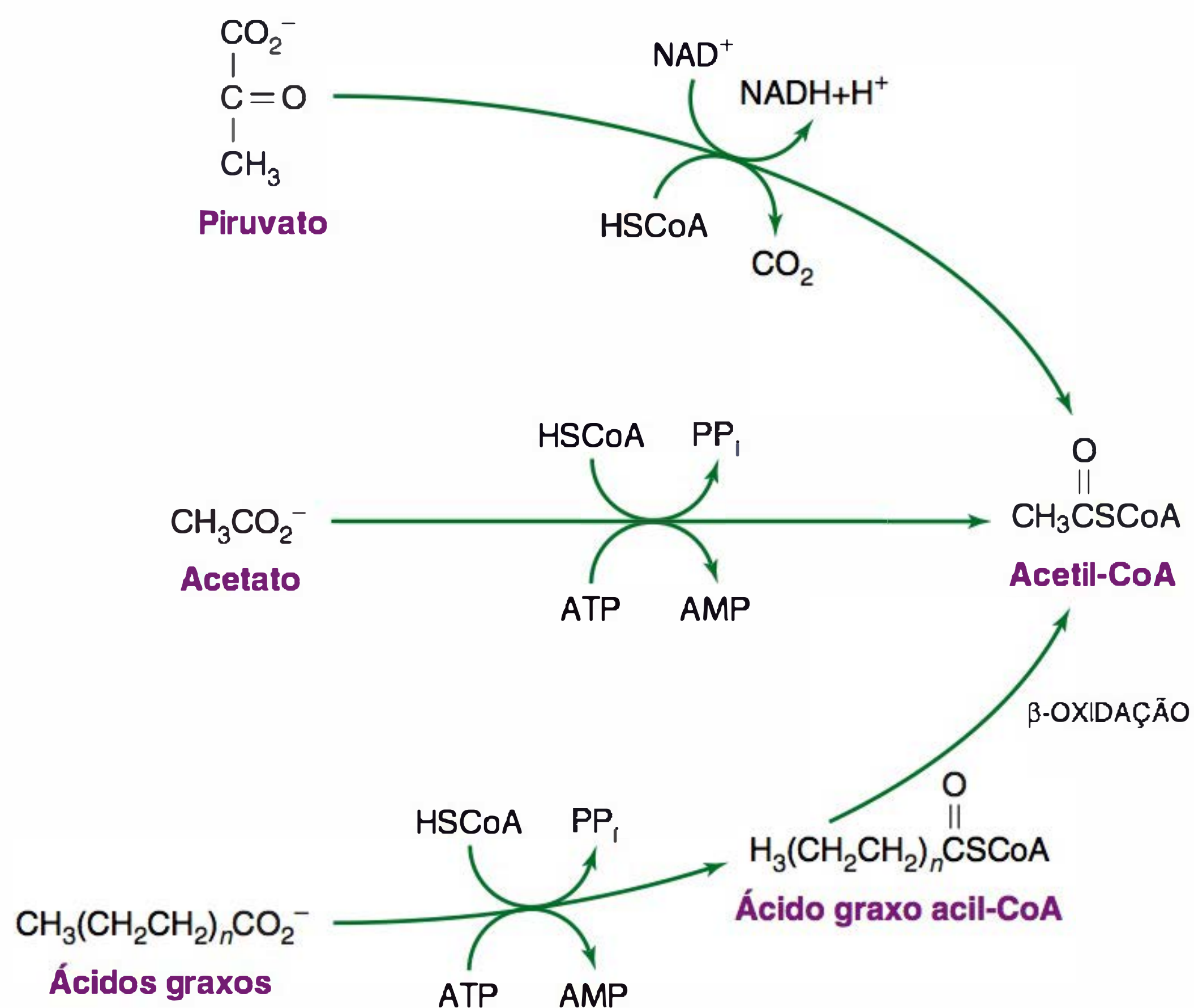


FIGURA 6.10 Fontes bioquímicas de acetil-CoA. AMP, adenosina monofosfato; ATP, adenosina trifosfato.

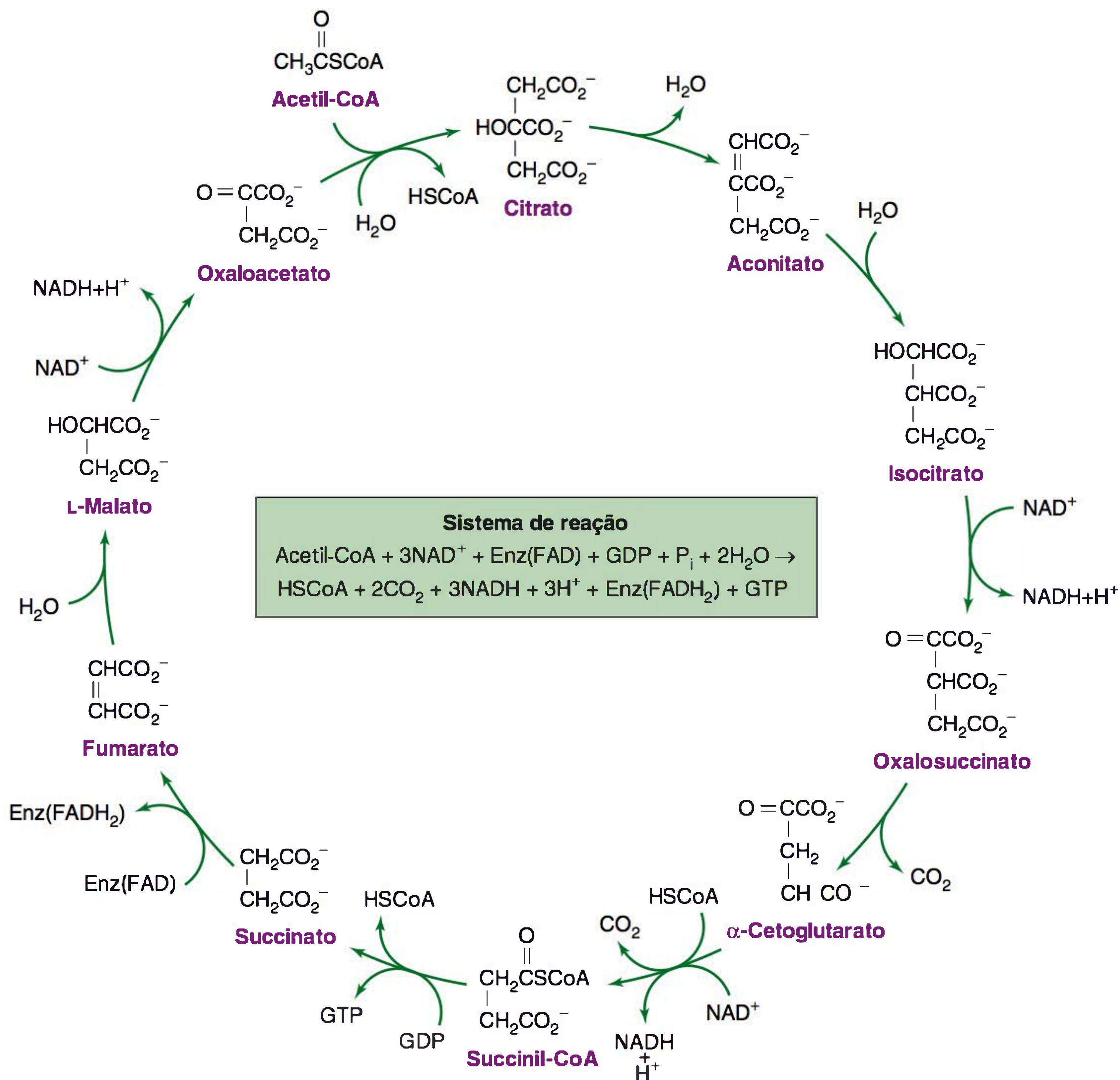


FIGURA 6.11 Ciclo do ácido tricarboxílico. Existem quatro etapas oxidativas, três delas originando nicotinamida adenina dinucleotídeo hidreto (NADH), enquanto uma dá origem a uma flavoproteína reduzida, Enz(FADH₂). O ciclo só pode prosseguir se houver aceptores de elétrons disponíveis para oxidar o NADH e a flavoproteína reduzida. GDP, guanosina difosfato; GTP, guanosina trifosfato.

aceptora, a ribulose 1,5-difosfato, processo que requer a redução, dependente de energia, do 3-fosfoglicerato para o nível do carboidrato. Por conseguinte, o autotrofismo exige a presença de dióxido de carbono, ATP, NADPH e um conjunto específico de enzimas.

Despolimerases

Existem muitos substratos potenciais de crescimento que servem como subunidades formadoras dentro da estrutura dos polímeros biológicos. Essas moléculas grandes não são facilmente transportadas através da membrana celular sendo, com frequência, fixadas a estruturas celulares ainda maiores. Inúmeros microrganismos elaboram despolimerases extracelulares que hidrolisam proteínas, ácidos nucleicos, polissacarídeos e lipídeos. O padrão das atividades de despolimerase pode ser útil na identificação de microrganismos.

Oxigenases

Muitos compostos presentes no meio ambiente são relativamente resistentes à modificação enzimática, de modo que a sua utilização como substratos para crescimento exige uma classe especial de enzimas, denominadas oxigenases, que usam diretamente o oxigênio molecular oxidante potente como substrato em reações que convertem um composto relativamente intratável em uma forma na qual pode ser assimilado por reações favorecidas termodinamicamente. A ação das oxigenases é ilustrada na Figura 6.14, que mostra o papel de duas oxigenases na utilização do benzoato.

Vias de redução

Alguns microrganismos vivem em ambientes extremamente redutores, os quais favorecem reações químicas que não

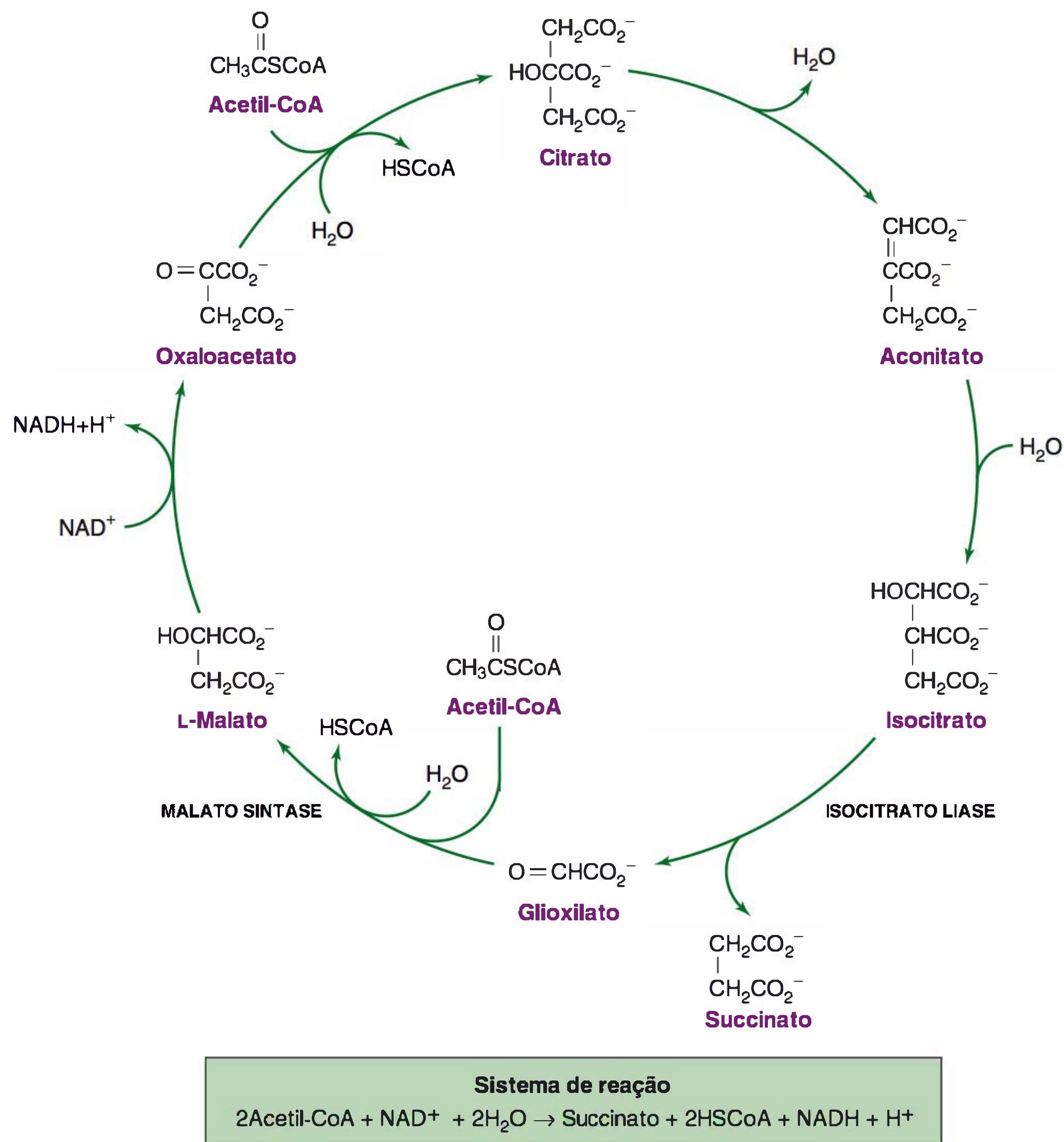


FIGURA 6.12 O ciclo do glioxilato. Observe que as reações que convertem o malato em isocitrato são compartilhadas pelo ciclo do ácido tricarbóxico (Fig. 6.11). A divergência metabólica no nível do isocitrato e a ação de duas enzimas, a isocitrato-liase e malato-sintase, modificam o ciclo do ácido tricarbóxico, resultando em conversão redutora de duas moléculas de acetil-CoA em succinato.

ocorreriam em microrganismos que utilizam o oxigênio como aceptor de elétrons. Nesses microrganismos, podem ser utilizados redutores potentes para impulsionar reações que possibilitam a assimilação de compostos relativamente intratáveis. Um exemplo é a assimilação redutora do benzoato, processo em que o anel aromático é reduzido e aberto para formar o pimelato do ácido dicarbóxico. Reações metabólicas posteriores convertem o pimelato em metabólitos focais.

Assimilação do nitrogênio

A assimilação redutora do nitrogênio molecular, também conhecida como **fixação do nitrogênio**, é necessária para a manutenção da vida em nosso planeta. Tal fixação é efetuada por uma variedade de bactérias e cianobactérias que utilizam um sistema de inúmeros multicomponentes denominado **complexo enzimático nitrogenase**. Apesar da variedade dos

microrganismos capazes de fixar o nitrogênio, na maioria deles o complexo nitrogenase é semelhante (Fig. 6.15). A nitrogenase é um complexo de duas enzimas — uma (dinitrogenase redutase) contendo ferro e a outra (dinitrogenase) contendo ferro e molibdênio. Juntas, elas catalisam a seguinte reação:



Devido à alta energia de ativação para quebrar as fortes ligações triplas que unem dois átomos de nitrogênio, essa assimilação redutora do nitrogênio exige uma quantidade substancial de energia metabólica: 20 a 24 moléculas de ATP são hidrolisadas, enquanto uma única molécula de N_2 é reduzida a duas moléculas de NH_3 .

Outras demandas fisiológicas são impostas pelo fato de a nitrogenase ser facilmente inativada pelo oxigênio. Os microrganismos aeróbios que utilizam a nitrogenase desenvolveram

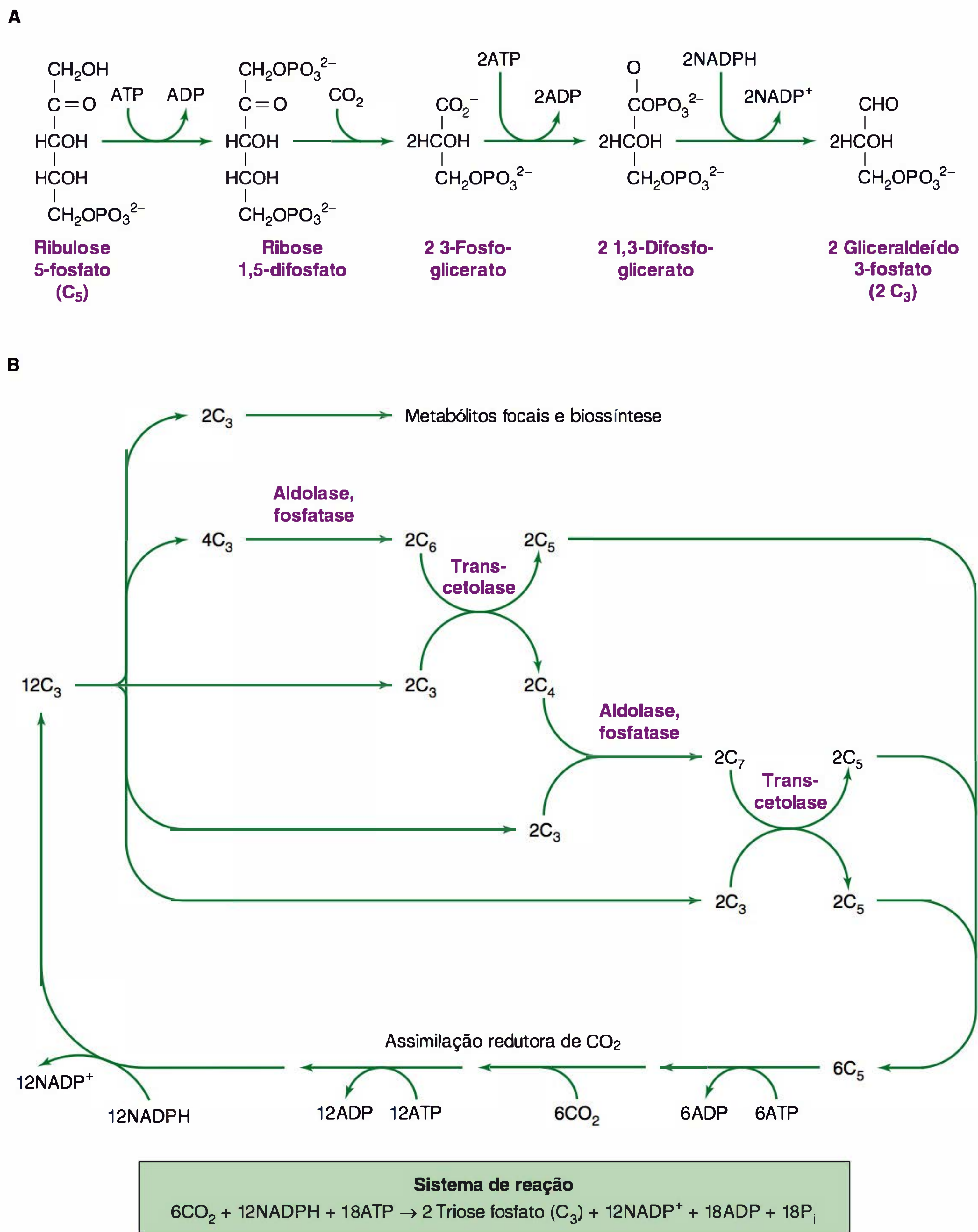


FIGURA 6.13 O ciclo de Calvin. **(A)** Assimilação redutora do CO_2 . A adenosina trifosfato (ATP) e a nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato (NADPH) são utilizadas para conversão redutora da pentose 5-fosfato (C_5) em duas moléculas de triose fosfato (C_3). **(B)** O ciclo de Calvin é concluído através de reações de rearranjo dos carboidratos (Fig. 6.6) que possibilitam a síntese final do carboidrato e a regeneração da pentose fosfato, de modo que o ciclo possa continuar. ADP, adenosina difosfato.

mecanismos elaborados para proteger a enzima da inativação. Alguns formam células especializadas nas quais ocorre a fixação do nitrogênio, enquanto outros desenvolveram cadeias de transporte de elétrons elaboradas para proteger a nitrogenase da inativação pelo oxigênio. As mais importantes dessas bactérias na agricultura são as *Rhizobiaceae*, microrganismos que

fixam simbioticamente o nitrogênio nos nódulos das raízes das plantas leguminosas.

A capacidade de utilizar a amônia como fonte de nitrogênio é amplamente observada entre os microrganismos. A principal porta de entrada do nitrogênio no metabolismo do carbono é o glutamato, formado por aminação redutora do α -cetoglutarato.

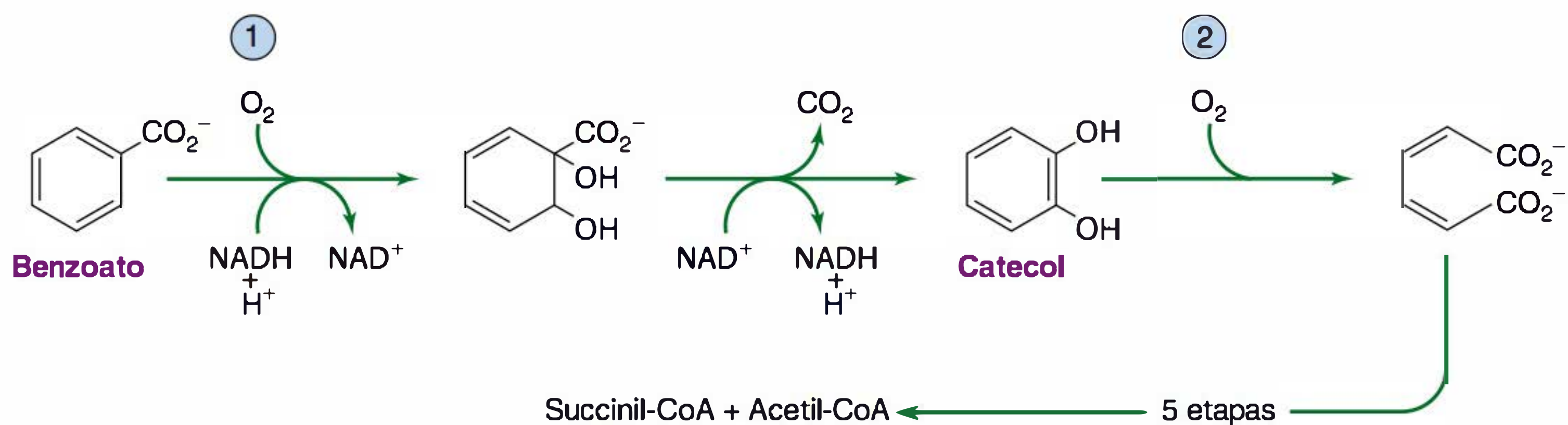


FIGURA 6.14 O papel das oxigenases na utilização aeróbica do benzoato como fonte de carbono. O oxigênio molecular participa diretamente nas reações que rompem o anel aromático do benzoato e do catecol.

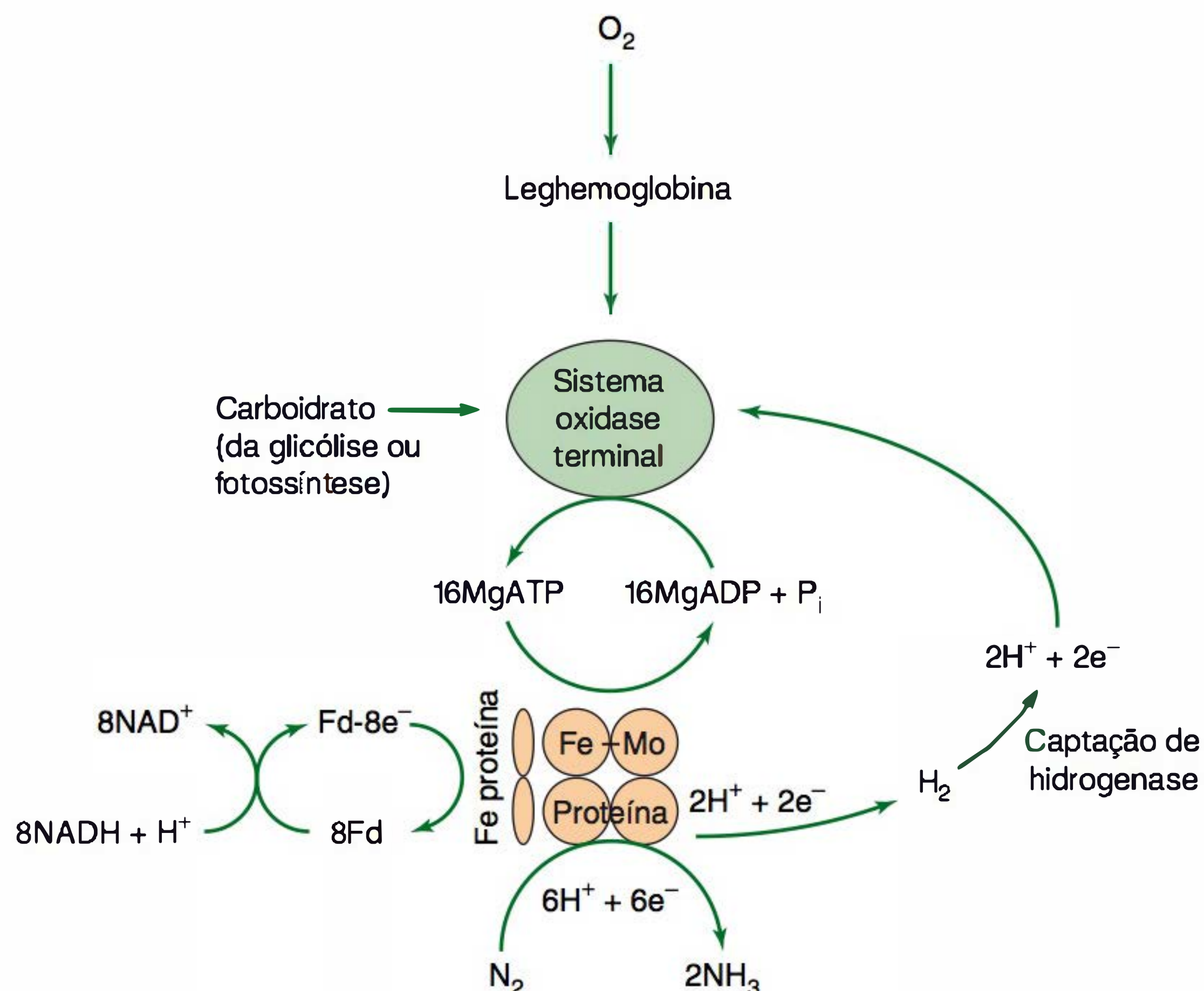


FIGURA 6.15 Redução do N_2 em duas moléculas de NH_3 . Além do redutor, a reação da nitrogenase requer uma quantidade significativa de energia metabólica. O número de moléculas de adenosina trifosfato (ATP) necessário para a redução de uma única molécula de nitrogênio em amônia é incerto, e parece situar-se entre 12 e 16. A reação global requer nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato - $8NADH + H^+$, seis utilizados para reduzir o N_2 em $2NH_3$, enquanto dois são empregados para formar H_2 . A hidrogenase de captação devolve o H_2 ao sistema, conservando, assim, a energia. (Redesenhada e reproduzida, com autorização, de Moat AG, Foster JW: *Microbial Physiology*, 4th ed., Wiley-Liss, 2002. Reproduzida, com autorização, de John Wiley & Sons, Inc.)

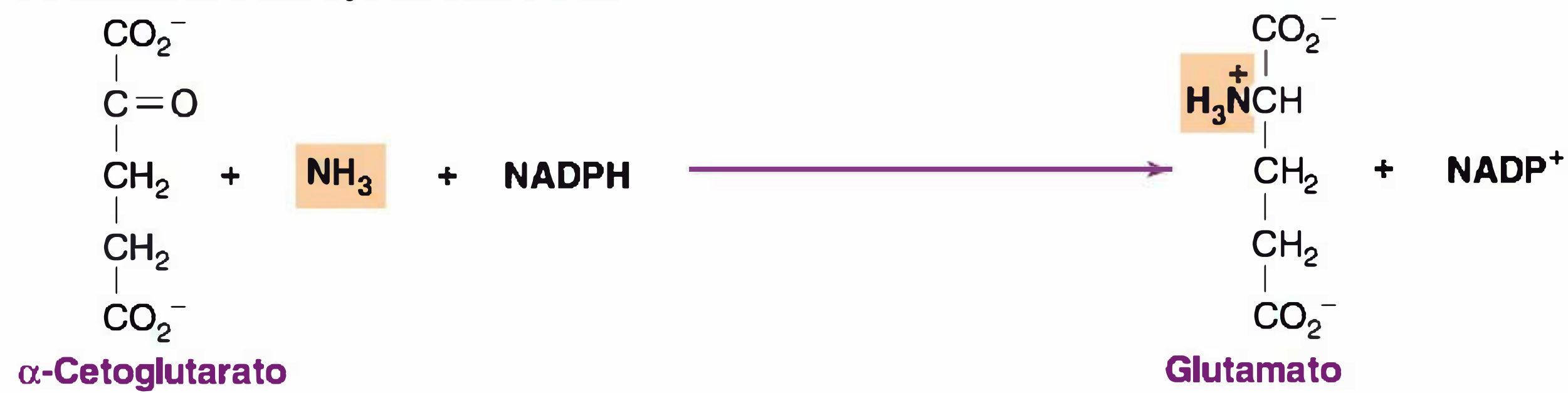
Conforme ilustra a Figura 6.16, existem dois mecanismos bioquímicos pelos quais isso pode ser feito. Um deles, que consiste na redução em uma única etapa catalisada pela glutamato-desidrogenase (Fig. 6.16A), é efetivo em ambientes em que existe suprimento de amônia abundante. O outro, um processo em duas etapas em que a glutamina atua como intermediário (Fig. 6.16B), é usado em ambientes nos quais há pouco suprimento de amônia. O último mecanismo possibilita que a célula utilize a energia livre formada por hidrólise de uma ligação pirofosfato no ATP para assimilar a amônia a partir do meio ambiente.

O nitrogênio amida da glutamina, um intermediário na assimilação em duas etapas da amônia em glutamato (Fig. 6.16B), também é transferido diretamente para nitrogênio orgânico,

que aparece nas estruturas das purinas, pirimidinas, arginina, triptofano e glicosamina. A atividade e a síntese da glutamina-sintase são reguladas pelo suprimento de amônia e pela disponibilidade de metabólitos que contêm nitrogênio, derivado diretamente do nitrogênio amida da glutamina.

A maior parte do nitrogênio orgânico nas células provém do grupo α -amino glutamato, e o mecanismo primário pelo qual o nitrogênio é transferido consiste na **transaminação**. Nessas reações, o acceptor habitual é um α -cetoácido, transformado no α -aminoácido correspondente. O α -cetoglutarato, o outro produto da reação de transaminação, pode ser convertido em glutamato por aminação redutora (Fig. 6.16).

A. Altas concentrações de amônia.



B. Baixas concentrações de amônia.

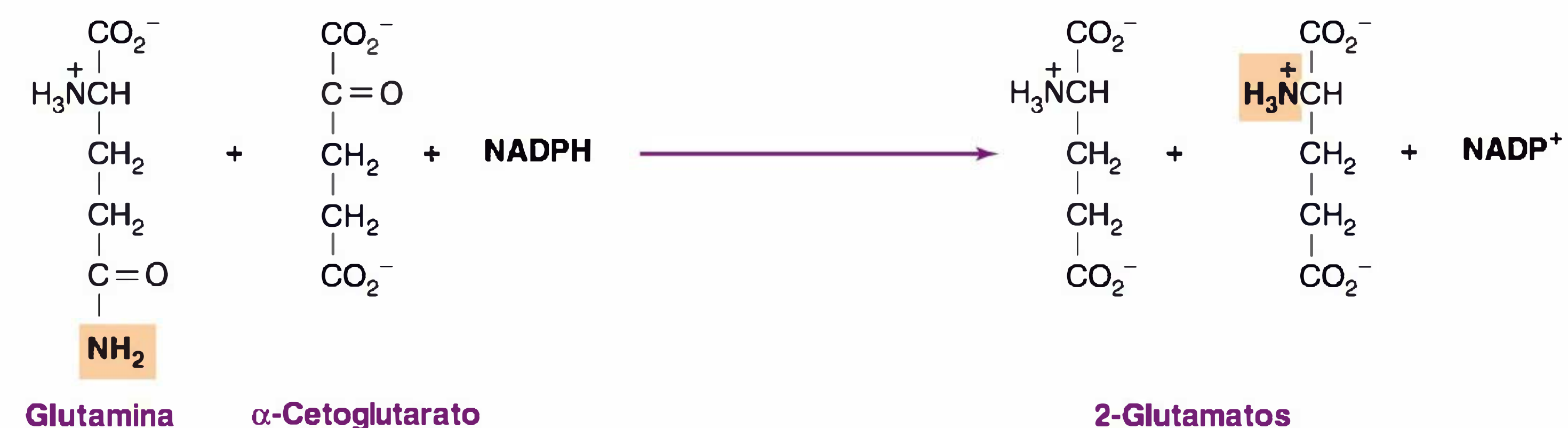


FIGURA 6.16 Mecanismos de assimilação do NH_3 . (A) Quando a concentração de NH_3 se apresenta elevada, as células são capazes de assimilar o composto através da reação da glutamato desidrogenase. (B) Quando a concentração de NH_3 é baixa, como ocorre mais frequentemente, as células acoplam as reações da glutamina sintase e da glutamato sintase para utilizar a energia produzida por hidrólise de uma ligação de pirofosfato na assimilação da amônia.

VIAS DE BIOSÍNTESE

Traçado das estruturas dos precursores biossintéticos: glutamato e aspartato

Em muitos casos, é possível estabelecer a origem biossintética do esqueleto de carbono de um produto final metabólico. A glutamina, que fornece um exemplo óbvio, é claramente derivada do glutamato (Fig. 6.17). O esqueleto do glutamato nas estruturas da arginina e da prolina (Fig. 6.17) é menos evidente, porém facilmente discernível. De modo semelhante, o esqueleto de carbono do aspartato, derivado diretamente do metabólito focal oxaloacetato, é evidente nas estruturas da asparagina, treonina, metionina e pirimidinas (Fig. 6.18).

Em alguns casos, diferentes esqueletos de carbono combinam-se em uma via de biossíntese. Assim, por exemplo, o aspartato semialdeído e o piruvato combinam-se para formar os precursores metabólicos da lisina, o ácido diaminopimélico e o ácido dipicolínico (Fig. 6.19). Os dois últimos compostos são

encontrados unicamente nos procariotos. O ácido diaminopimélico é um componente do peptidoglicano da parede celular, enquanto o ácido dipicolínico representa um componente majoritário dos endosporos.

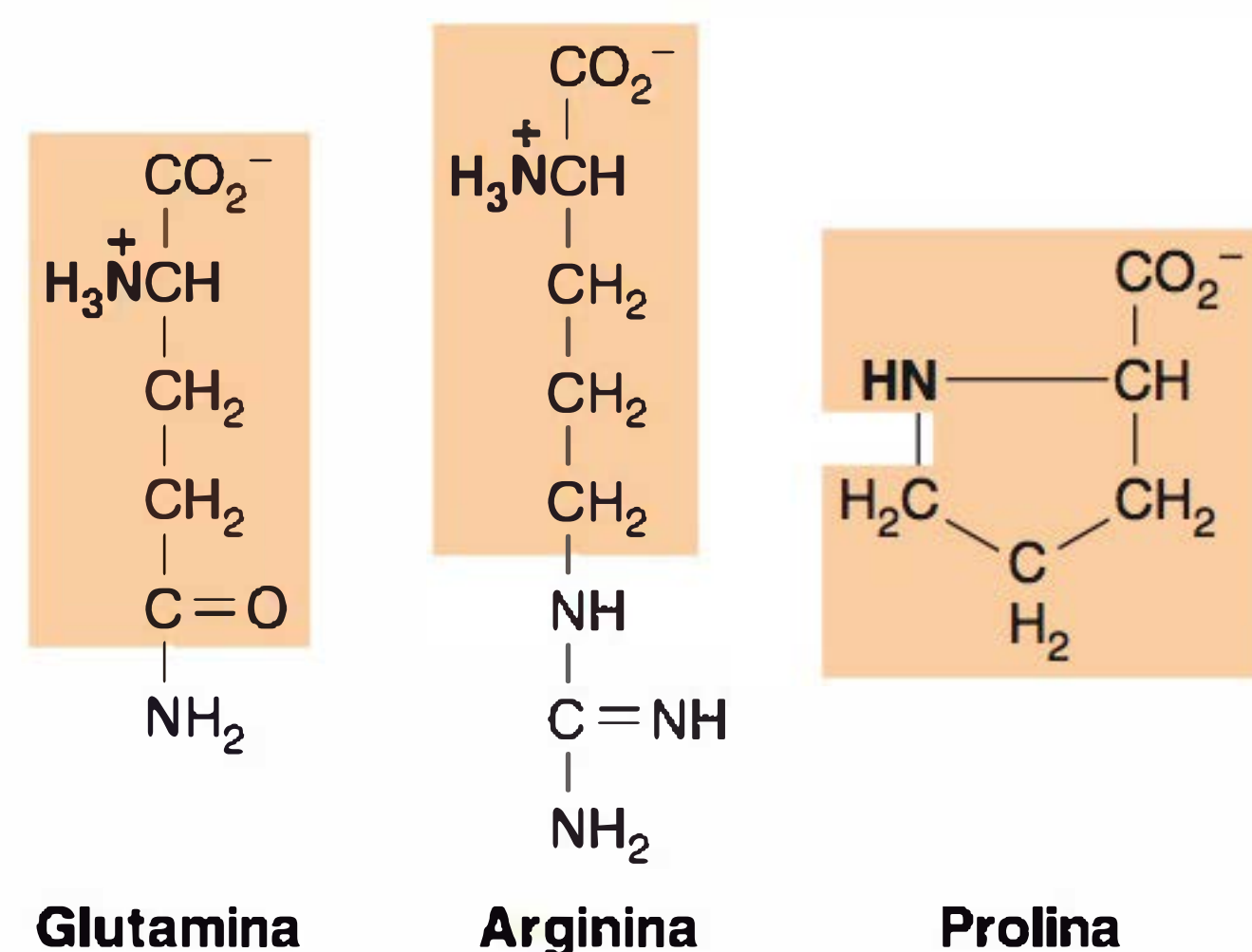


FIGURA 6.17 Aminoácidos formados a partir do glutamato.

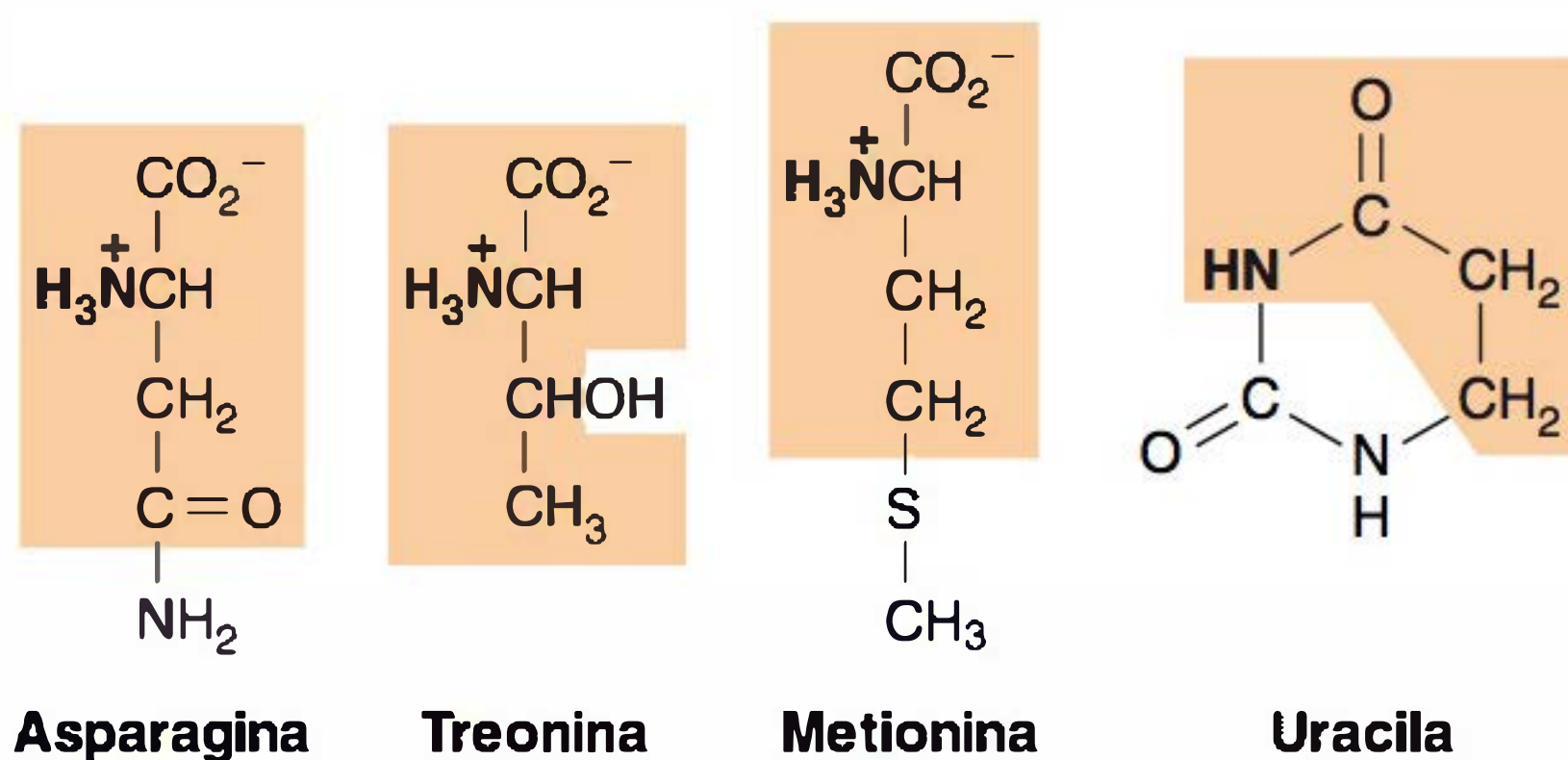


FIGURA 6.18 Produtos finais da biossíntese formados a partir do aspartato.

Síntese do peptidoglicano da parede celular

A estrutura do peptidoglicano é mostrada na Figura 2.16; a via pela qual ele é sintetizado encontra-se ilustrada de modo simplificado na Figura 6.20A. A síntese do peptidoglicano começa com a síntese em etapas do UDP-ácido *N*-acetilmurâmico-pentapeptídeo no citoplasma. A *N*-acetilglicosamina liga-se inicialmente ao uridina difosfato (UDP) e, em seguida, é convertida em UDP-ácido *N*-acetilmurâmico por condensação com o fosfoenolpiruvato e redução. Os aminoácidos do pentapeptídeo são sequencialmente adicionados, sendo cada

adição catalisada por uma enzima diferente, envolvendo, cada qual, a clivagem do ATP em ADP + P_i .

O UDP-ácido-*N*-acetilmurâmico-pentapeptídeo liga-se ao bactoprenol (um lipídeo da membrana celular) e recebe uma molécula de *N*-acetilglicosamina do UDP. Algumas bactérias (p. ex., *Staphylococcus aureus*) formam um derivado pentaglicina em uma série de reações que utilizam glicil-RNA_t como doador; o dissacarídeo obtido é polimerizado em um intermediário oligomérico antes de ser transferido para a porção terminal de um polímero de glicopeptídeo na parede celular.

A ligação cruzada final (Fig. 6.20B) é efetuada por meio de uma reação de transpeptidação, em que o grupo amino livre de um resíduo de pentaglicina desloca o resíduo *D*-alanina terminal de um pentapeptídeo vizinho. A transpeptidação é catalisada por uma enzima de um conjunto de enzimas denominadas proteínas de ligação da penicilina (PBP). As PBP ligam-se à penicilina e a outros antibióticos betalactâmicos de modo covalente, devido, em parte, a uma semelhança estrutural entre esses antibióticos e o pentapeptídeo precursor. Algumas PBP exibem atividades de transpeptidase ou carboxipeptidase, sendo provável que suas velocidades relativas controlem o grau de formação de ligações cruzadas no peptidoglicano (fator importante na septação celular).

A via de biossíntese tem importância especial em medicina, visto que proporciona uma base para a ação antibacteriana seletiva de vários quimioterápicos. Diferentemente de suas células

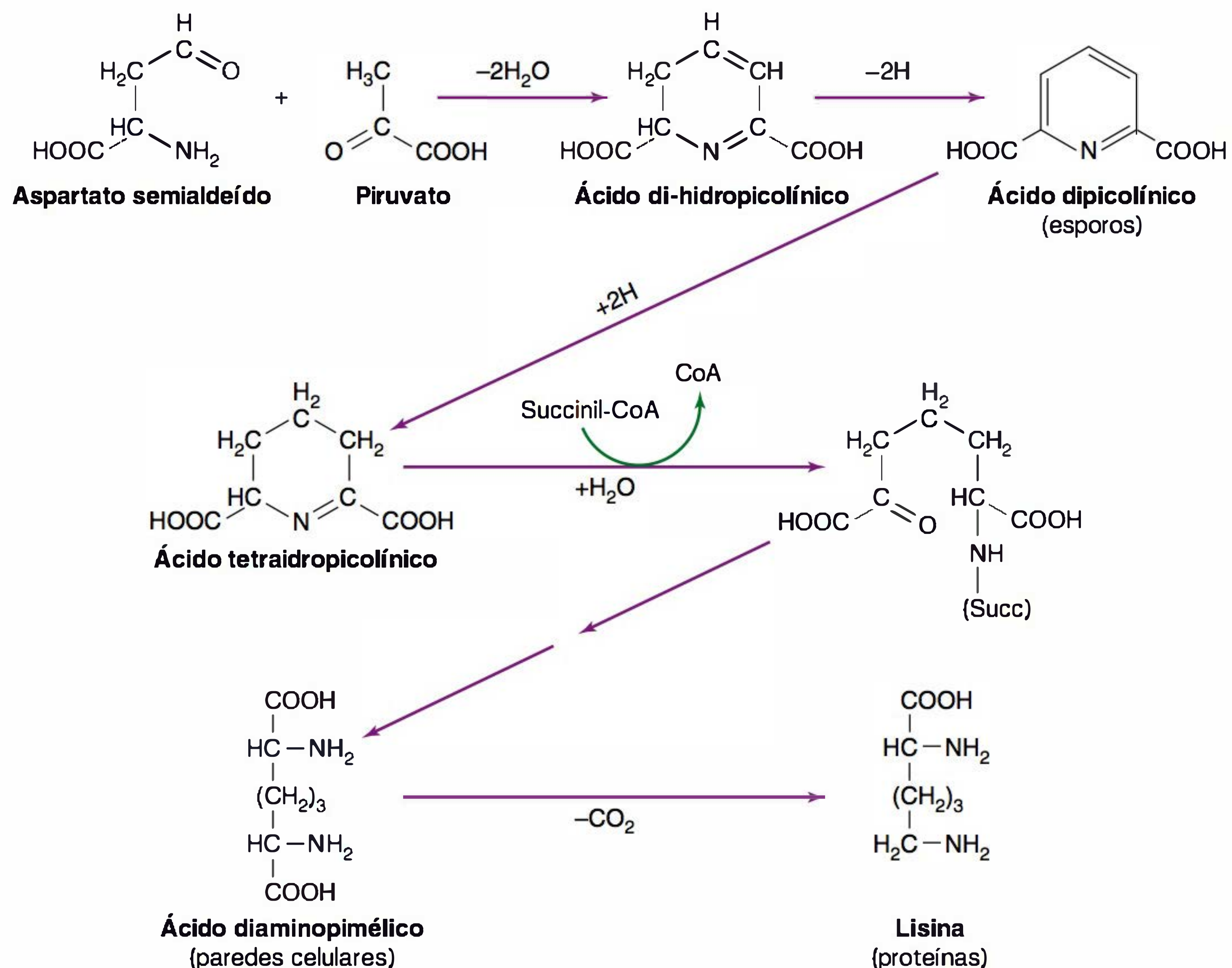


FIGURA 6.19 Produtos finais da biossíntese formados a partir do aspartato semialdeído e do piruvato.

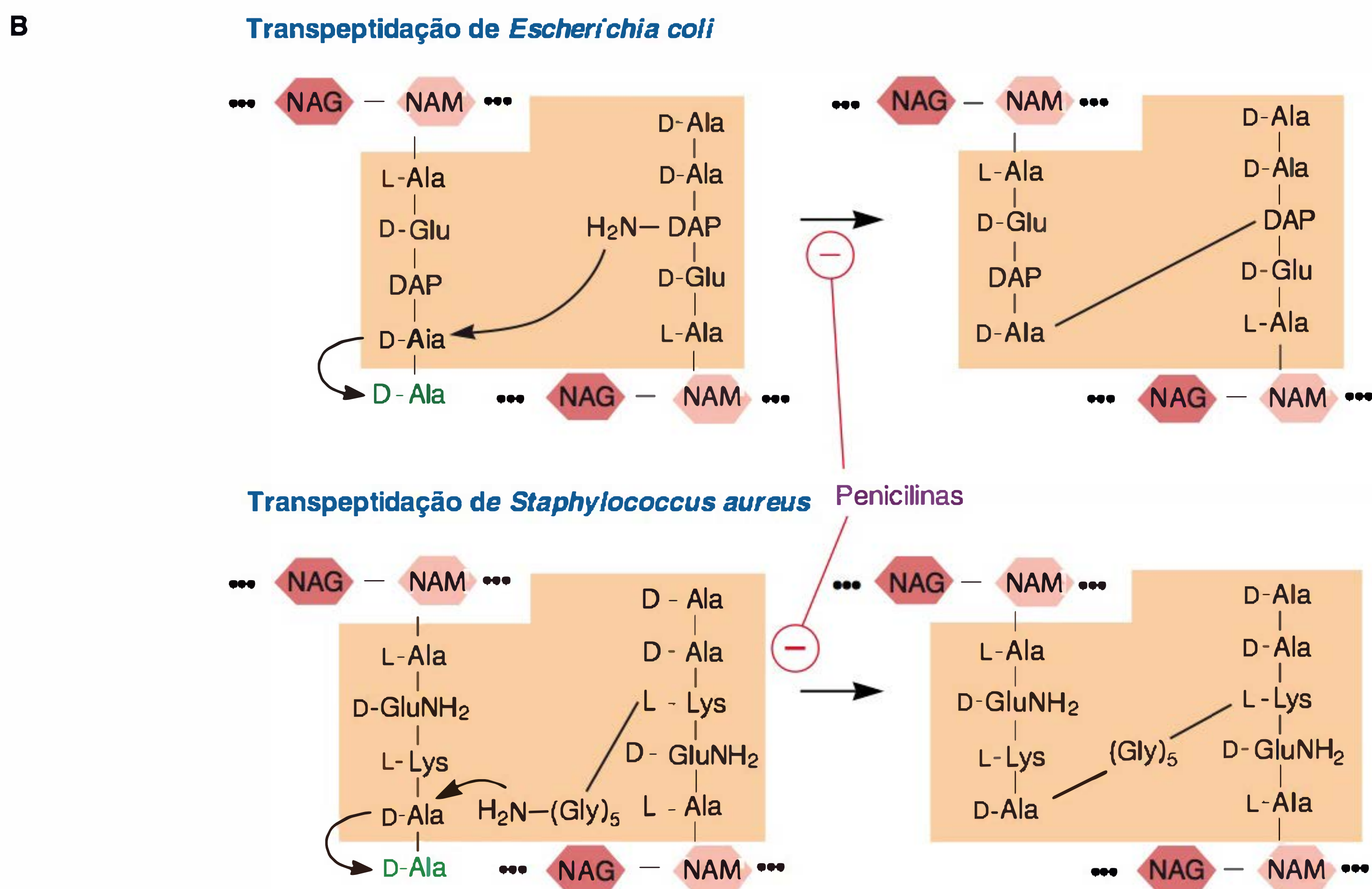
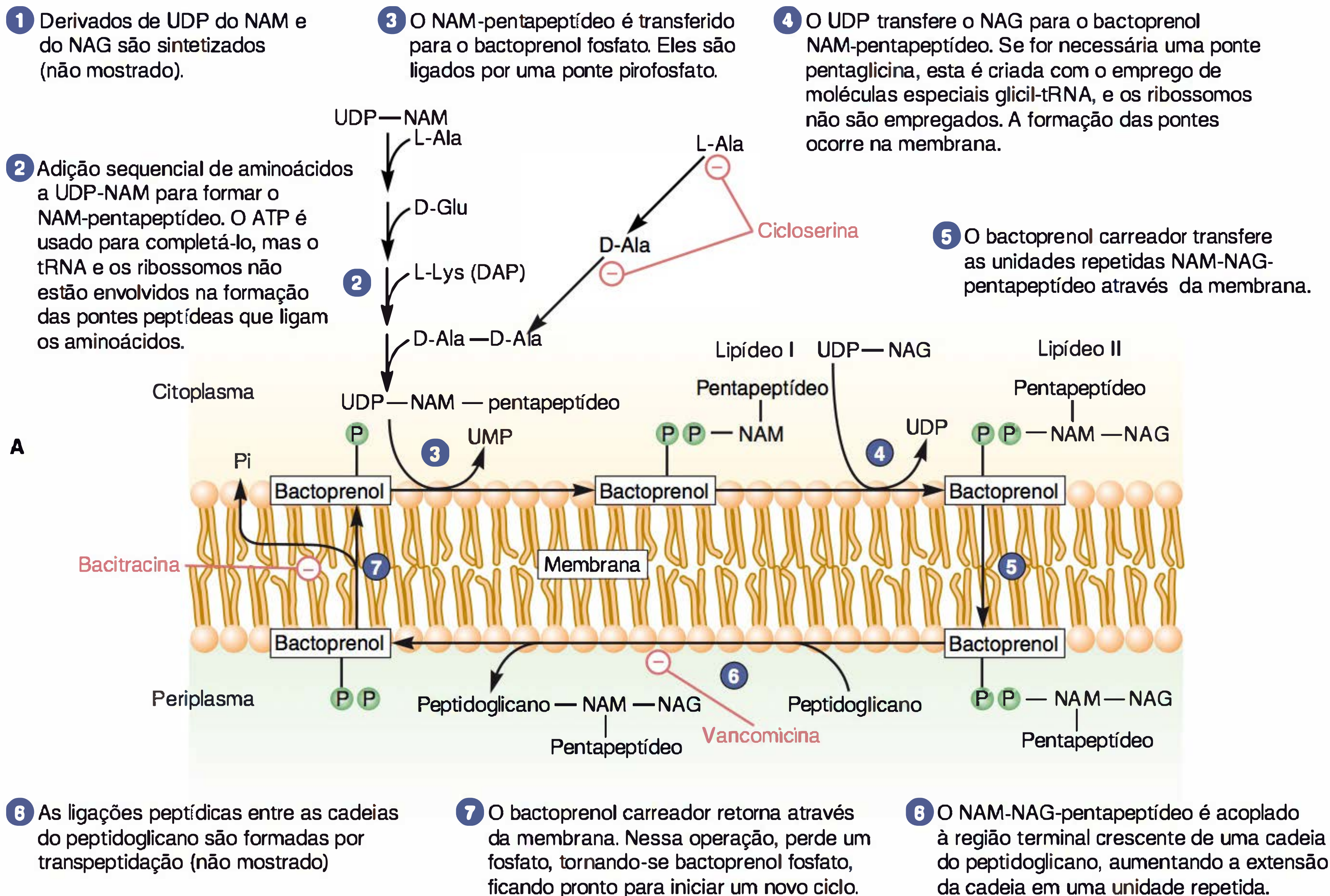


FIGURA 6.20 (A) Biossíntese do peptidoglicano. NAM é o ácido *N*-acetilmurâmico e NAG a *N*-acetilglicosamina. O pentapeptídeo contém *L*-lisina no peptidoglicano de *Staphylococcus aureus* e ácido diaminopimélico (DAP) em *Escherichia coli*. Também é mostrada a inibição por bacitracina, cicloserina e vancomicina. Os números correspondem a seis dos oito estágios discutidos no texto. O oitavo estágio é mostrado na Figura 6.208. NAM, Ácido *N*-acetilmurâmico; NAG, *N*-acetilglicosamina; UDP, uridina difosfato. (B) Transpeptidação. As reações de transpeptidação na formação do peptidoglicano de *Escherichia coli* e de *Staphylococcus aureus*. (Reproduzida, com autorização, de Willey JM, Sherwood LM, Woolverton CJ: *Prescott, Harley, & Klein's Microbiology*, 7th ed. MacGraw-Hill, 2008. © The McGraw-Hill Companies, Inc.).

hospedeiras, as bactérias não são isotônicas com os líquidos biológicos. O conteúdo das bactérias encontra-se sob elevada pressão osmótica, e sua viabilidade depende da integridade da rede de peptidoglicano na parede celular, que deve ser mantida por todo o ciclo de crescimento. Qualquer composto capaz de inibir uma etapa no processo de biossíntese do peptidoglicano provoca o enfraquecimento da parede da célula bacteriana em crescimento e a lise celular. As Figuras 6.20A e B mostram os locais de ação de vários antibióticos.

Síntese do lipopolissacarídeo do envelope celular

A Figura 2.20 mostra a estrutura geral do lipopolissacarídeo antigênico dos envelopes celulares de microrganismos gram-negativos. A biossíntese do grupo terminal repetitivo, que confere ao envelope sua especificidade antigênica, é apresentada na Figura 6.21. Observe a semelhança com a síntese do peptidoglicano: em ambos os casos, uma série de subunidades é organizada em um transportador lipídico na membrana e, em seguida, transferida para as extremidades abertas do polímero.

Síntese dos polímeros capsulares extracelulares

Os polímeros capsulares, alguns deles relacionados no Quadro 2.1, são sintetizados enzimaticamente a partir de subunidades ativadas. Nenhum transportador lipídico ligado à membrana tem sido envolvido nesse processo. A presença de uma cápsula é frequentemente determinada pelo ambiente: os dextranos e os levanos, por exemplo, só podem ser sintetizados com a utilização do dissacarídeo sacarose (frutose-glicose)

como fonte da subunidade apropriada, por isso sua síntese depende da presença de sacarose no meio.

Síntese dos grânulos de reserva alimentar

Quando existe um excesso de nutrientes com relação às necessidades de crescimento, as bactérias convertem alguns deles em grânulos intracelulares de reserva alimentar. Os principais são o amido, glicogênio, poli- β -hidroxibutirato e a volutina, que consiste principalmente em polifosfato inorgânico (Cap. 2). O tipo de grânulo formado é próprio da espécie. Os grânulos são degradados quando ocorre a depleção dos nutrientes exógenos.

PADRÕES DE METABOLISMO PRODUTORES DE ENERGIA EM MICRÓBIOS

Conforme descrito no Capítulo 5, existem dois mecanismos metabólicos principais para a geração de ligações de pirofosfato ácido ricas em energia no ATP: a **fosforilação do substrato** (a transferência direta de uma ligação acilfosfato de um doador orgânico para o ADP) e a fosforilação do ADP pelo fosfato inorgânico. A última reação é desfavorável do ponto de vista energético e tem de ser impulsionada por um gradiente eletroquímico transmembrana, a **força motriz de prótons**. Na respiração, o gradiente eletroquímico é criado a partir de um redutor e um oxidante fornecidos externamente. A energia liberada por transferência de elétrons do redutor para o oxidante através de transportadores ligados à membrana é acoplada à formação do gradiente eletroquímico transmembrana.

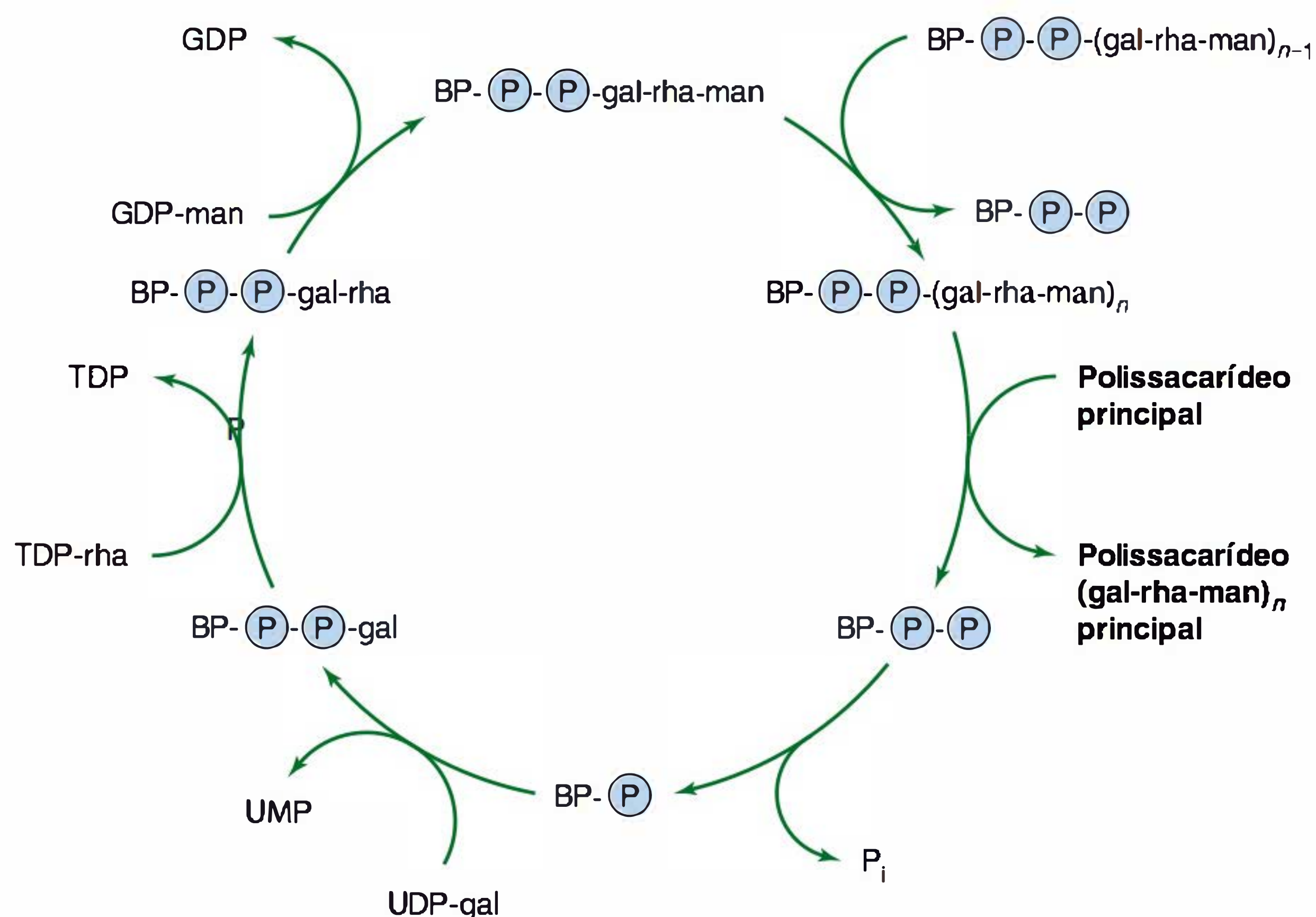


FIGURA 6.21 Síntese da unidade repetida da cadeia lateral do polissacarídeo da *Salmonella enterica* sorovar Newington e sua transferência para o cerne do lipopolissacarídeo. BP, bactoprenol; GDP, guanosina difosfato; TDP, timidina difosfato; UDP, uridina difosfato; UMP, uridina monofosfato.

Na fotossíntese, a energia luminosa gera redutores e oxidantes associados à membrana; a força motriz de prótons é gerada à medida que esses transportadores de elétrons retornam ao estado basal. Tais processos são discutidos a seguir.

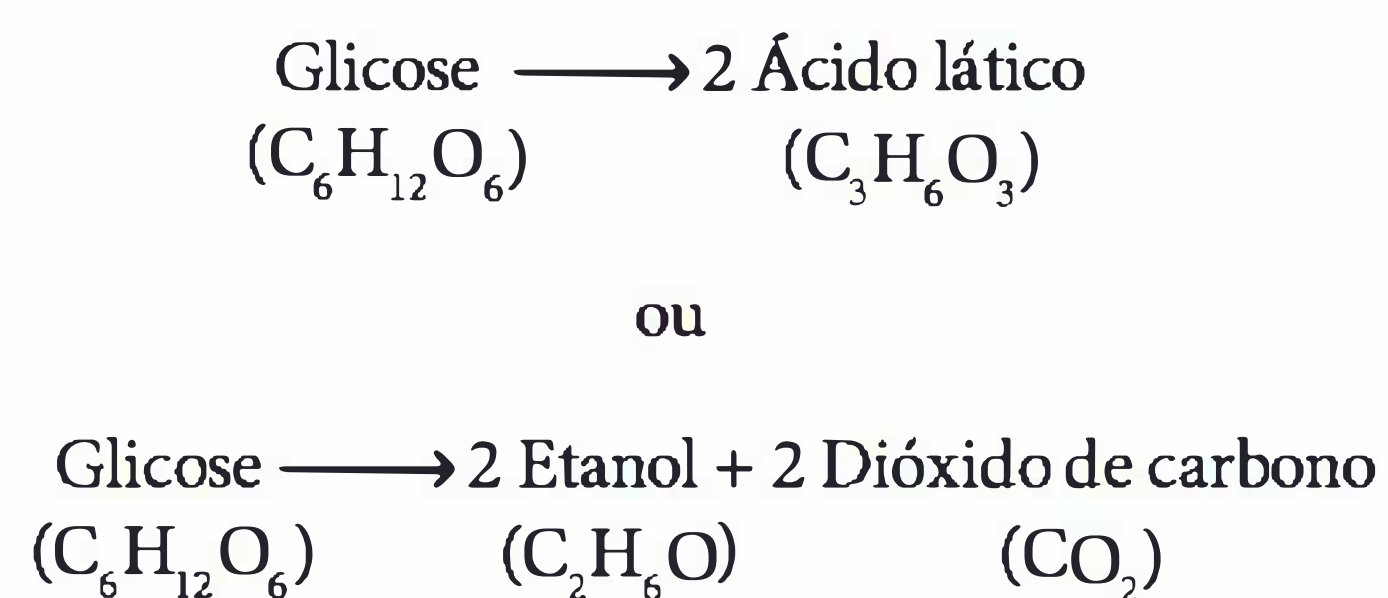
Vias de fermentação

A. Estratégias para a fosforilação de substratos

Na ausência de respiração ou de fotossíntese, as células dependem totalmente da fosforilação de substratos para obter energia: a geração de ATP precisa ser acoplada ao rearranjo químico de compostos orgânicos. Muitos compostos podem atuar como substratos de crescimento passíveis de fermentação, e várias vias foram desenvolvidas, apresentando três estágios gerais: (1) conversão do composto passível de fermentação no doador de fosfato para a fosforilação de substrato; esse estágio com frequência abrange reações metabólicas nas quais o NAD^+ é reduzido a NADH ; (2) fosforilação do ADP pelo doador de fosfato rico em energia; (3) etapas metabólicas que colocam os produtos da fermentação em equilíbrio químico com os materiais de partida. A exigência mais frequente nesse último estágio consiste em um mecanismo para a oxidação do NADH , gerado no primeiro estágio de fermentação, em NAD^+ , de modo que a fermentação possa prosseguir. Nas próximas seções são fornecidos exemplos de cada um dos três estágios da fermentação.

B. Fermentação da glicose

A diversidade das vias é ilustrada ao se considerarem alguns dos mecanismos utilizados por microrganismos para efetuar a fosforilação de substratos à custa da glicose. Em princípio, a fosforilação do ADP em ATP pode ser acoplada a uma de duas transformações quimicamente balanceadas:



Os mecanismos bioquímicos pelos quais essas transformações ocorrem variam de modo considerável.

Em geral, a fermentação da glicose é iniciada pela sua fosforilação em G6PD. Existem dois mecanismos pelos quais essa reação pode ser efetuada: (1) a glicose extracelular pode ser transportada, através da membrana citoplasmática, para o interior da célula e, em seguida, fosforilada pelo ATP, produzindo G6PD e ADP; (2) em muitos microrganismos, a glicose extracelular é fosforilada à medida que está sendo transportada através da membrana citoplasmática por um sistema enzimático existente na membrana, que fosforila a glicose extracelular à custa do fosfoenolpiruvato, produzindo G6PD e piruvato intracelulares. O último processo é um exemplo do **metabolismo vetorial**, um conjunto de reações bioquímicas em que tanto

a estrutura quanto a localização de um substrato são modificadas. Convém assinalar que a escolha do ATP ou do fosfoenolpiruvato como agente de fosforilação não altera a produção de ATP da fermentação, visto que o fosfoenolpiruvato é utilizado como fonte de ATP nos estágios finais da fermentação (Fig. 6.8).

C. A via de Embden-Meyerhof

Esta via (Fig. 6.22), um mecanismo comumente encontrado na fermentação da glicose, utiliza uma quinase e uma aldolase (Fig. 6.6) para transformar a hexose (C_6) fosfato em duas moléculas de triose (C_3) fosfato. A conversão da triose-fosfato em duas moléculas de piruvato é acompanhada de quatro reações de fosforilação dos substratos. Por conseguinte, tendo em vista as duas ligações de pirofosfato do ATP necessárias à formação de triose-fosfato a partir da glicose, a via de Embden-Meyerhof produz um ganho líquido de duas ligações de pirofosfato de ATP. A formação do piruvato a partir da triose-fosfato é um processo oxidativo, e o NADH formado na primeira etapa metabólica (Fig. 6.22) deve ser convertido em NAD^+ para que a fermentação prossiga. A Figura 6.23 ilustra dois dos mecanismos mais simples para se atingir esse objetivo. A redução direta do piruvato pelo NADH gera o lactato como o produto final da fermentação e, portanto, resulta em acidificação do meio. Como alternativa, o piruvato pode ser descarboxilado em acetaldeído, que é então utilizado para oxidar o NADH com a consequente formação do produto neutro etanol. A via escolhida é determinada pela história evolutiva do microrganismo e, em alguns deles, pelas condições de crescimento.

D. As fermentações de Entner-Doudoroff e do heterolactato

A Figura 6.24 mostra vias alternativas para a fermentação da glicose, inclusive algumas reações enzimáticas especializadas. A via de Entner-Doudoroff diverge das outras vias do metabolismo dos carboidratos em virtude de uma desidratação do 6-fosfogliconato, seguida de uma reação de aldose ou aldolase que produz piruvato e triose fosfato (Fig. 6.24A). A fermentação do heterolactato e algumas outras vias fermentativas dependem de uma reação da fosfoacetolase (Fig. 6.24B), que cliva fosforoliticamente uma cetose fosfato, produzindo acetilfosfato e triose fosfato. O acetilfosfato pode ser utilizado para sintetizar o ATP ou possibilitar a oxidação de duas moléculas de NADH em NAD^+ à medida que é reduzido a etanol.

As Figuras 6.25 e 6.26 dão uma visão geral das vias de Entner-Doudoroff e do heterolactato, respectivamente, que produzem apenas uma única molécula de triose fosfato a partir da glicose, com produção de energia correspondentemente baixa: diferentemente da via de Embden-Meyerhof, as vias de Entner-Doudoroff e do heterolactato produzem apenas uma fosforilação do substrato de ADP por molécula de glicose fermentada. Por que outras vias de fermentação da glicose têm sido selecionadas no ambiente natural? Para responder a esta pergunta, é preciso ter em mente dois fatos. Em primeiro lugar, na competição direta pelo crescimento entre duas espécies microbianas, a velocidade de utilização de substrato pode ser mais importante do que a quantidade de crescimento. Em segundo lugar, a glicose é apenas um dos inúmeros carboidratos

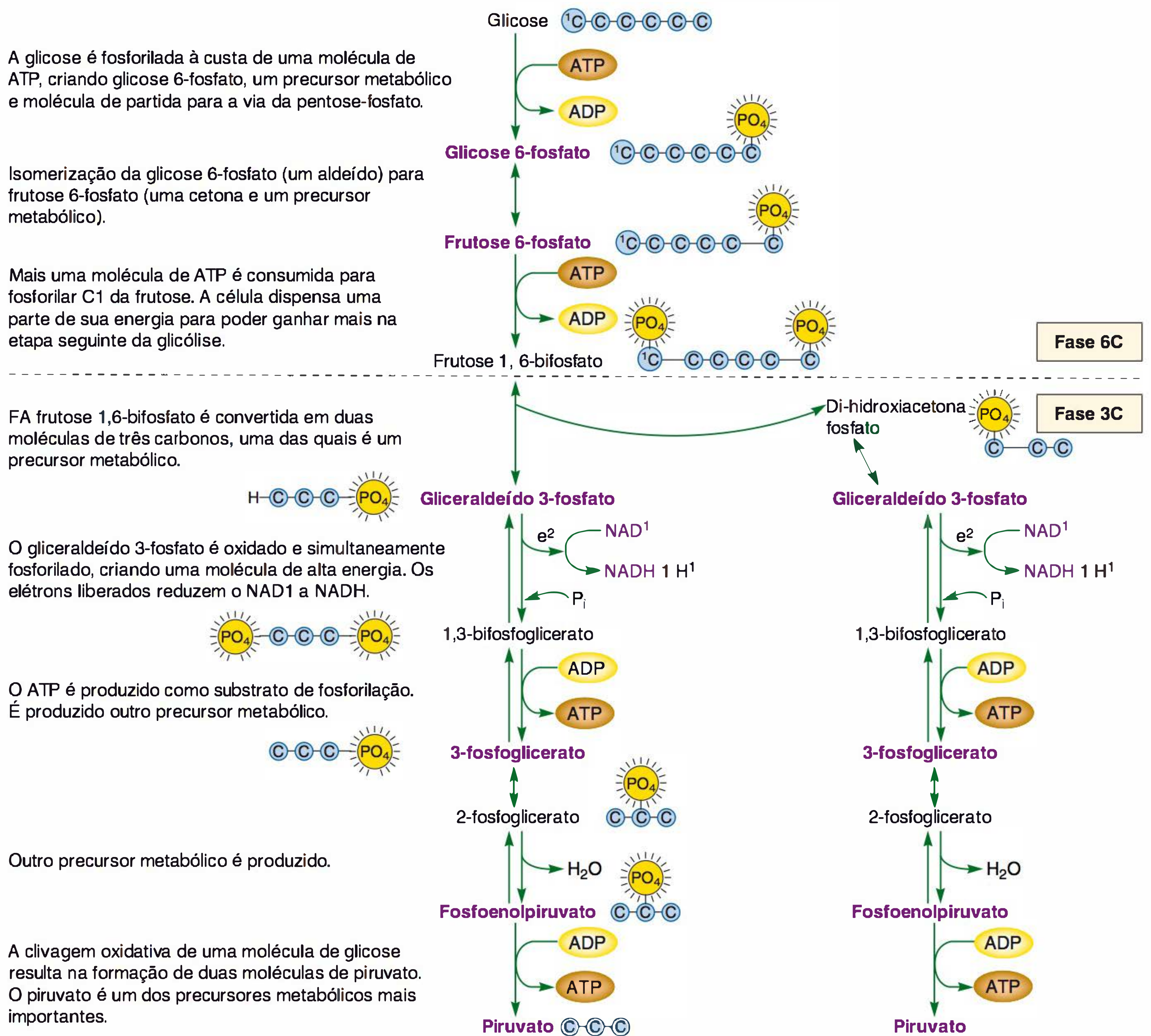


FIGURA 6.22 A via de Embden-Meyerhof. Esta é uma das três vias glicolíticas usadas para catabolizar a glicose em piruvato e que ocorre durante a respiração aeróbia, a respiração anaeróbia e a fermentação. Quando utilizada durante o processo respiratório, os elétrons aceitos pelo NAD⁺ (nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato) são transferidos para uma cadeia de transporte de elétrons e finalmente aceitos por um receptor exógeno de elétrons. Quando utilizada durante a fermentação, os elétrons aceitos pelo NAD⁺ são doados para um receptor de elétrons endógeno (p. ex., o piruvato). A via de Embden-Meyerhoff é também uma importante via anfibólica, pois gera vários precursores metabólicos (acima, em azul). ADP, adenosina difosfato; ATP, adenosina trifosfato. (Reproduzida, com autorização, de Willey JM, Sherwood LM, Woolverton CJ: Prescott, Harley, & Klein's Microbiology, 7th ed, McGraw-Hill, 2008.)

encontrados pelos microrganismos em seu ambiente natural. Por exemplo, as pentoses podem ser fermentadas com muita eficiência pela via usada pelo heterolactato.

E. Outras variações na fermentação dos carboidratos

As vias de fermentação dos carboidratos podem englobar muitos outros substratos além dos já descritos, e os produtos finais podem ser muito mais diversificados do que o sugerido até o

presente. Por exemplo, existem vários mecanismos para a oxidação do NADH à custa do piruvato. Uma dessas vias consiste na formação do succinato por redução. Muitas bactérias de importância clínica formam piruvato a partir da glicose pela via de Embden-Meyerhoff, podendo ser distinguidas com base nos produtos de redução formados a partir do piruvato, o que reflete a constituição enzimática de diferentes espécies. Os principais produtos de fermentação, relacionados no Quadro 6.1, formam a base de muitos testes diagnósticos.

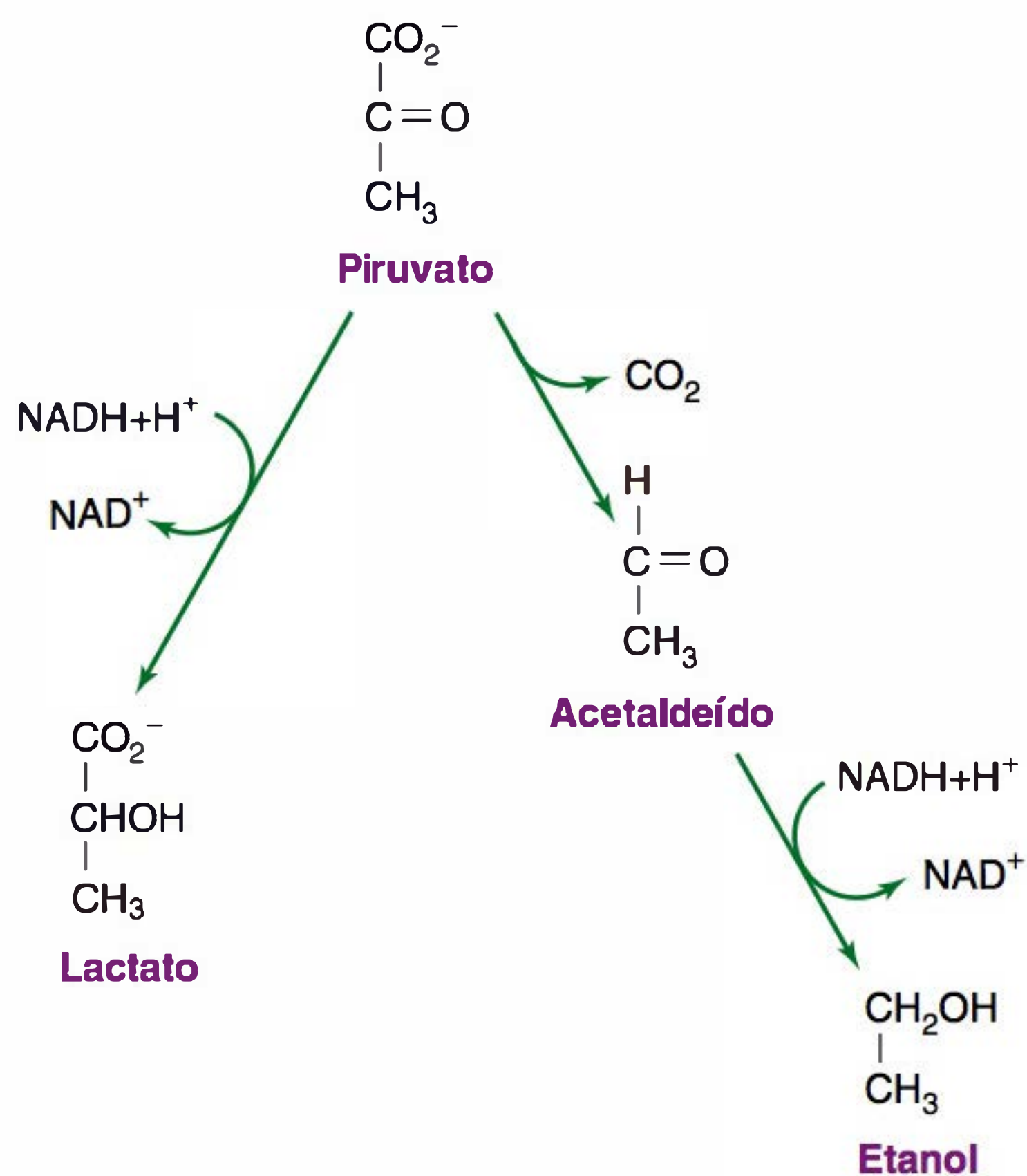


FIGURA 6.23 Dois mecanismos bioquímicos pelos quais o piruvato pode oxidar o nicotinamida adenina dinucleotídeo hidreto (NADH). **À esquerda:** formação direta do lactato, resultando em produção efetiva de ácido láctico a partir da glicose. **À direita:** formação dos produtos neutros dióxido de carbono e etanol.

F. Fermentação de outros substratos

Os carboidratos não são os únicos substratos passíveis de fermentação. O metabolismo dos aminoácidos, das purinas e das pirimidinas pode possibilitar a ocorrência da fosforilação dos substratos. Assim, por exemplo, a arginina pode atuar como fonte de energia, dando origem ao carbamoil-fosfato, que pode ser utilizado na fosforilação do ADP em ATP. Alguns microrganismos fermentam pares de aminoácidos, utilizando um deles como doador de elétrons e o outro comoceptor.

Padrões de respiração

A respiração exige uma membrana fechada. Nas bactérias, tal membrana é a própria membrana celular. Os elétrons passam de um redutor químico para um oxidante químico através de um conjunto específico de transportadores de elétrons no interior da membrana, resultando no estabelecimento da força motriz de prótons (Fig. 6.27); o retorno dos prótons através da membrana está acoplado à síntese do ATP. Conforme sugere a Figura 6.27, o redutor biológico para a respiração é frequentemente o NADH, enquanto o oxidante costuma ser o oxigênio.

Existe uma enorme diversidade microbiana no que concerne às fontes de redutores utilizados para a geração do NADH, sendo muitos microrganismos capazes de utilizar aceptores de elétrons diferentes do oxigênio. Os substratos orgânicos de

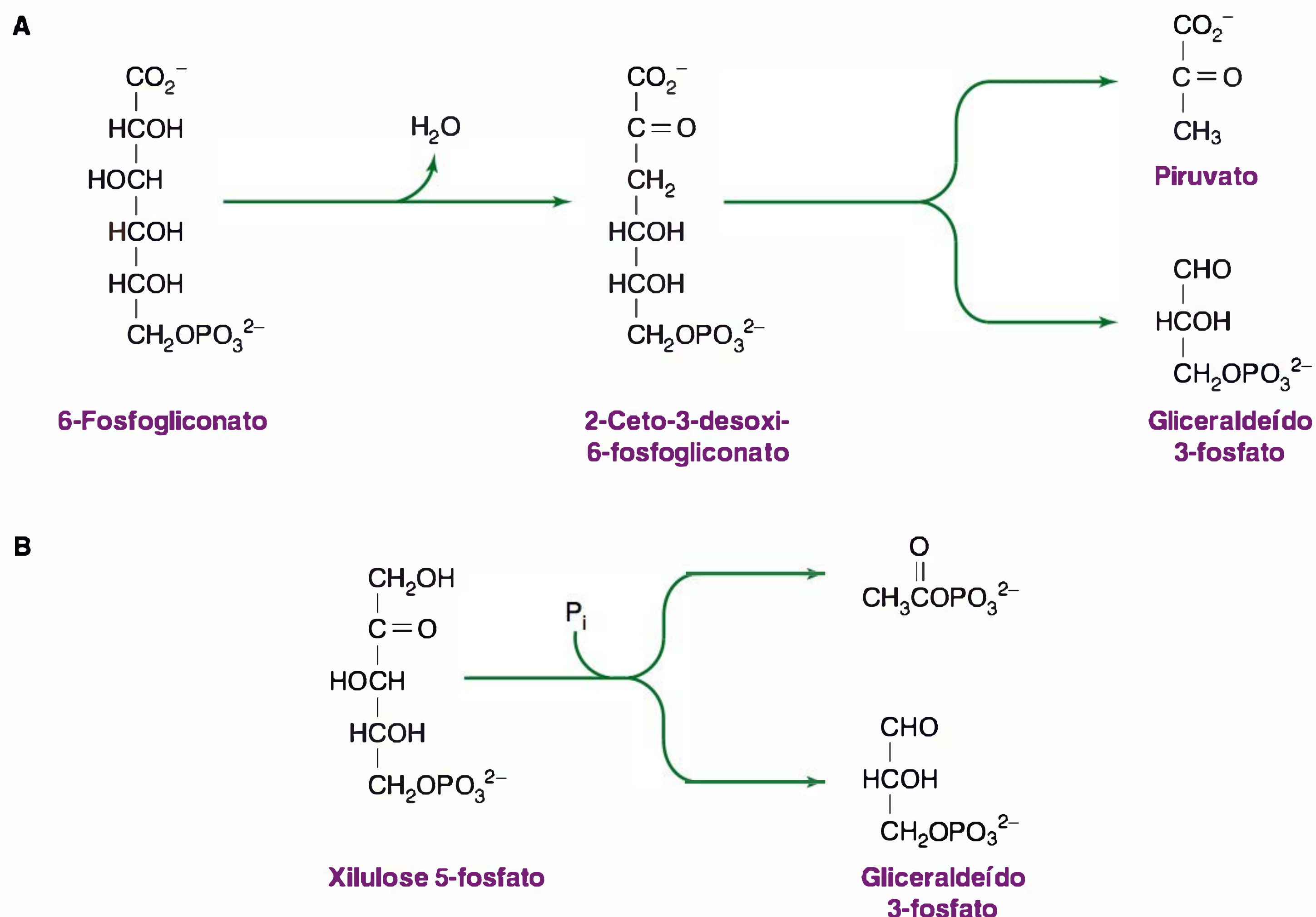


FIGURA 6.24 Reações associadas a vias específicas de fermentação dos carboidratos. **(A)** Reações de desidratase e aldolase utilizadas na via de Entner-Doudoroff. **(B)** A reação da fosfocetolase, encontrada em diversas vias de fermentação dos carboidratos, que gera o ácido anidrido acetilfosfato misto, o qual pode ser utilizado para a fosforilação de substrato da adenosina difosfato (ADP).

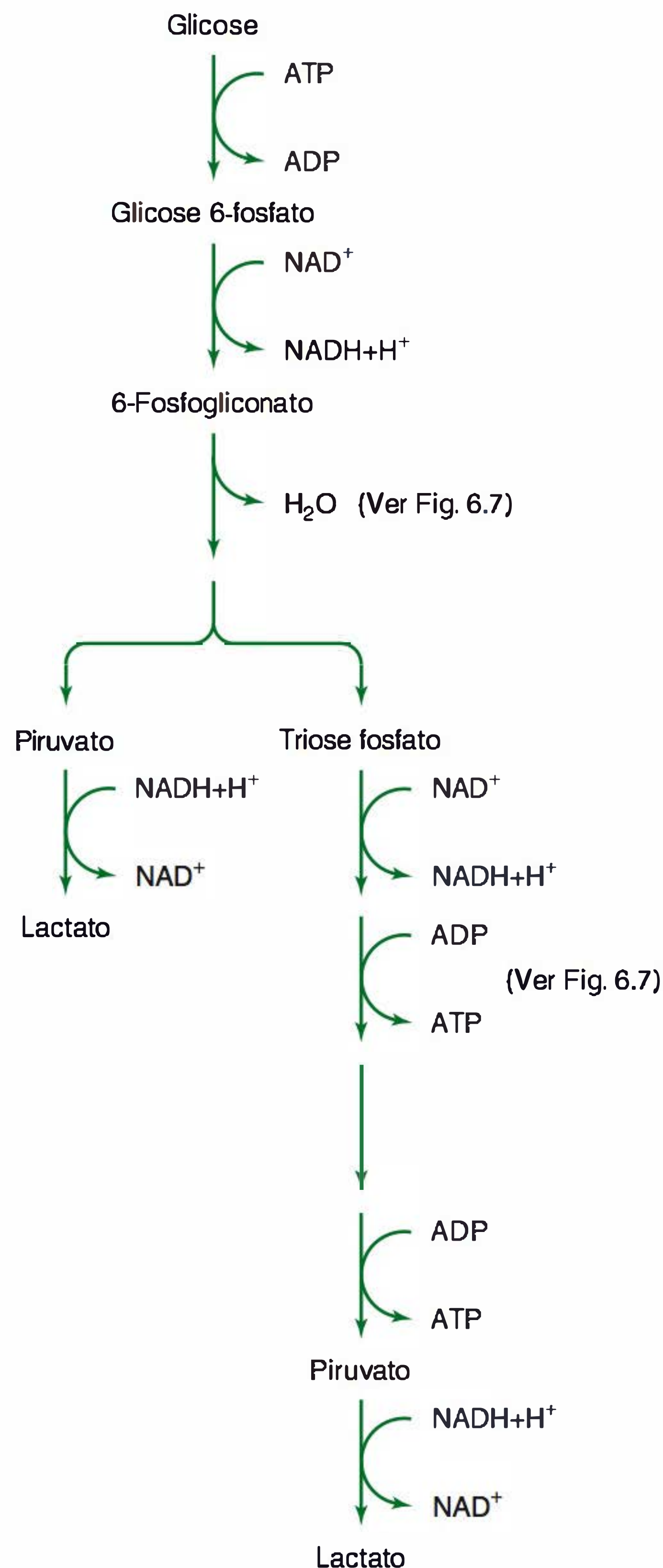


FIGURA 6.25 A via de Entner-Doudoroff. ADP, adenosina difosfato; ATP, adenosina trifosfato.

crescimento são convertidos em metabólitos focais, que podem reduzir o NAD⁺ a NADH mediante a derivação de hexose-monofosfato (Fig. 6.7) ou o ciclo do ácido tricarboxílico (Fig. 6.11). Outros redutores podem ser gerados durante a degradação de alguns substratos de crescimento, como, por exemplo, os ácidos graxos (Fig. 6.10).

Algumas bactérias, denominadas **quimiolitotróficas**, são capazes de utilizar redutores inorgânicos para a respiração. Essas fontes de energia consistem em hidrogênio, ferro ferroso, bem como várias formas reduzidas de enxofre e nitrogênio. O ATP derivado da respiração e o NADPH gerado a partir dos redutores podem ser utilizados para impulsionar o ciclo de Calvin (Fig. 6.13).

Podem ser utilizados compostos e outros íons, além do O₂, como oxidantes terminais na respiração. Essa capacidade,

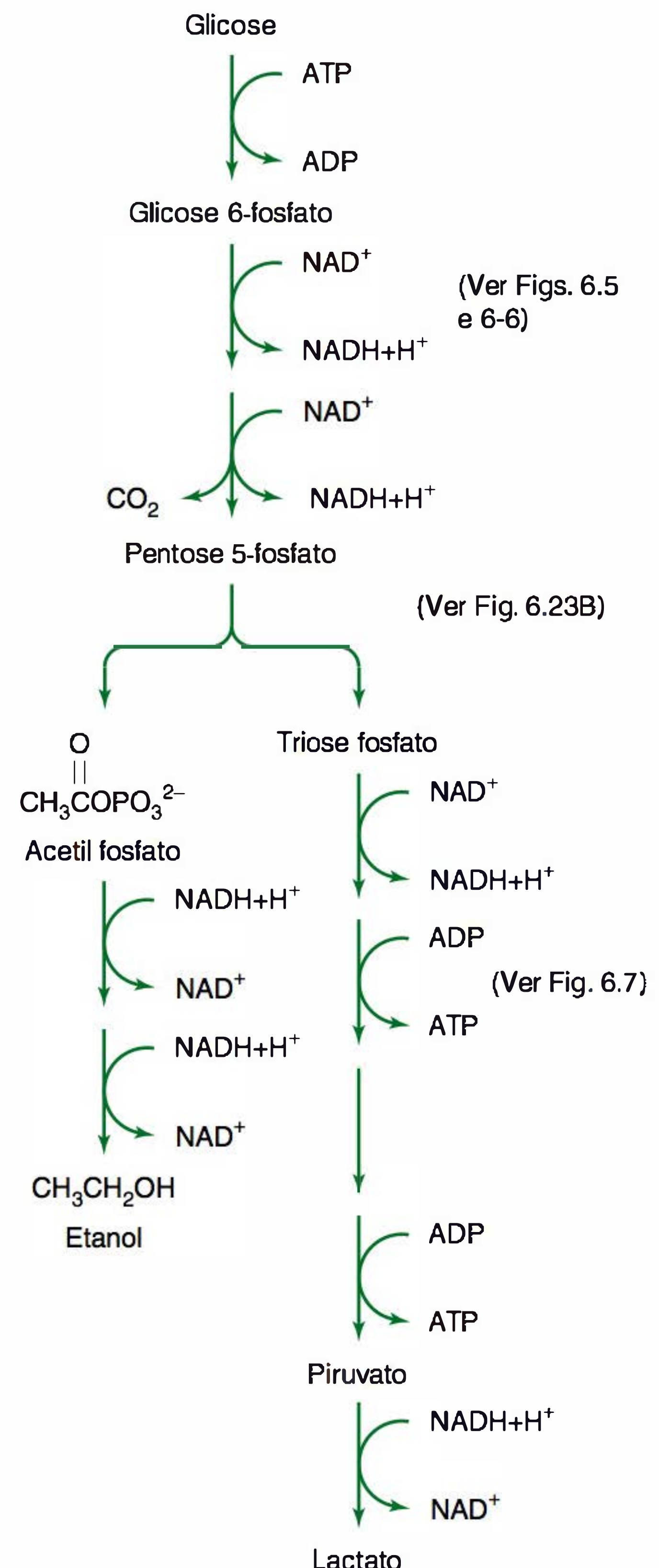


FIGURA 6.26 Fermentação heteroláctica da glicose. ADP, adenosina difosfato; ATP, adenosina trifosfato.

conhecida como capacidade de **respiração anaeróbia**, constitui uma característica microbiana disseminada. Os aceptores apropriados de elétrons consistem em nitrato, sulfato e dióxido de carbono. O metabolismo respiratório dependente de dióxido de carbono comoceptor de elétrons é uma propriedade encontrada entre os representantes de um grande grupo microbiano, as **arqueobactérias**. Por exemplo, os representantes desse grupo têm a capacidade de reduzir o dióxido de carbono a acetato como mecanismo para a produção de energia metabólica.

Fotossíntese bacteriana

Os organismos fotossintéticos utilizam a energia luminosa para separar cargas eletrônicas, a fim de criar redutores

QUADRO 6.1 Fermentações microbianas baseadas na via de Embden-Meyerhof

Fermentação	Organismos	Produtos
Etanol	Alguns fungos (particularmente algumas leveduras)	Etanol, CO ₂
Lactato (homofermentação)	<i>Streptococcus</i> Algumas espécies <i>Lactobacillus</i>	Lactato (contando com pelo menos 90% das fontes de energia do carbono)
Lactato (heterofermentação)	<i>Enterobacter</i> , <i>Aeromonas</i> , <i>Bacillus polymyxa</i>	Etanol, acetoina, 2,3-butileno glicol, CO ₂ , lactato, acetato, formato (total de ácidos = 21 mol ^a)
Propionato	<i>Clostridium propionicum</i> , <i>Propionibacterium</i> , <i>Corynebacterium diphtheriae</i> Algumas espécies <i>Neisseria</i> , <i>Veillonella</i> , <i>Micromonospora</i>	Propionato, acetato, succinato, CO ₂
Ácidos mistos	<i>Escherichia</i> , <i>Salmonella</i> , <i>Shigella</i> , <i>Proteus</i>	Lactato, acetato, formato, succinato, H ₂ , CO ₂ , etanol (total de ácidos = 159 mol ^a)
Butanol-butirato	<i>Butyribacterium</i> , <i>Zymosarcina maxima</i> Algumas espécies <i>Clostridium</i>	Butanol, butirato, acetona, isopropanol, acetato, etanol, H ₂ , CO ₂

^a Por 100 mol de glicose fermentada.

e oxidantes associados à membrana como resultado de um evento fotoquímico. A transferência de elétrons do redutor para o oxidante cria uma força motriz de prótons. Muitas bactérias utilizam um mecanismo fotossintético totalmente independente do oxigênio. A luz é utilizada como fonte de

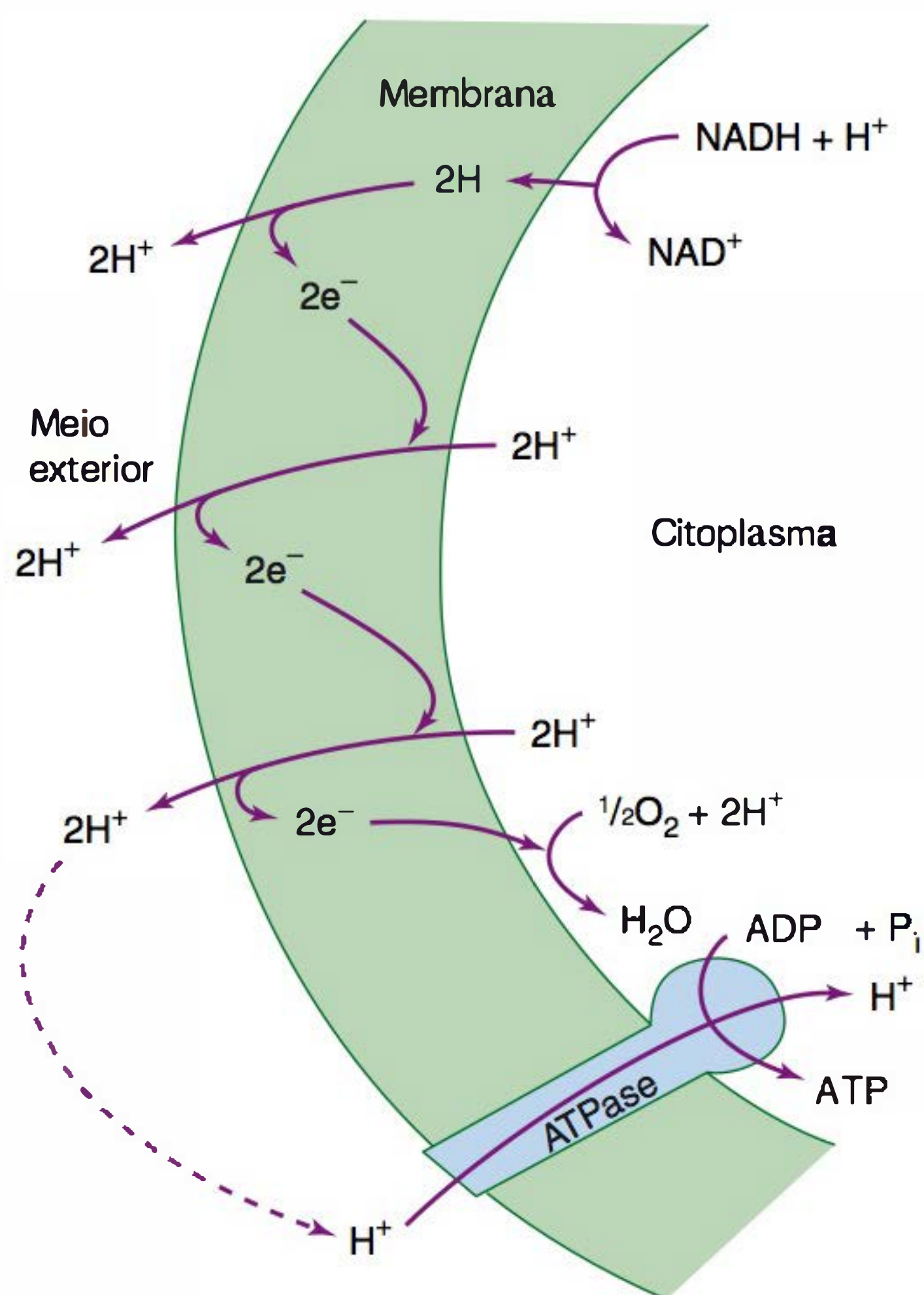


FIGURA 6.27 O acoplamento do transporte de elétrons na respiração para a geração de adenosina trifosfato (ATP). Os movimentos de prótons e elétrons indicados são mediados por transportadores (flavo-proteína, quinona, citocromos) associados à membrana. O fluxo de prótons através de seu gradiente eletroquímico, via ATPase da membrana, fornece a energia para a geração de ATP a partir de adenosina difosfato (ADP) e fosfato inorgânico (P_i). Analisar explicação no texto.

energia metabólica, e o carbono para o crescimento provém de compostos orgânicos (**fotoeterotróficos**) ou de uma combinação de redutor inorgânico (p. ex., tiosulfato) e dióxido de carbono (**fotolitotróficos**). Essas bactérias possuem um único fotossistema que, apesar de suficiente para fornecer a energia necessária à síntese do ATP e a geração de gradientes iônicos transmembrana essenciais, não permite a redução altamente exergônica do NADP⁺ à custa de água. Esse processo, essencial à fotossíntese que envolve o oxigênio, baseia-se na energia aditiva proveniente do acoplamento de dois eventos fotoquímicos diferentes, impulsionados por dois sistemas fotoquímicos independentes. Entre os procaríotos, essa característica só é encontrada nas cianobactérias (bactérias azul-esverdeadas). Entre os organismos eucarióticos, é compartilhada por algas e plantas cujo cloroplasto constitui a organela essencial que fornece energia.

REGULAÇÃO DAS VIAS METABÓLICAS

Em seu ambiente normal, as células microbianas geralmente regulam suas vias metabólicas de modo que não haja a formação excessiva de qualquer intermediário. Cada reação metabólica é regulada não apenas com relação a todas as outras reações na célula, mas também com relação às concentrações de nutrientes existentes no ambiente. Por conseguinte, quando uma fonte esporadicamente disponível de carbono se torna de repente abundante, as enzimas necessárias ao seu catabolismo aumentam tanto em quantidade quanto em atividade; em contrapartida, quando uma subunidade (p. ex., um aminoácido) torna-se subitamente abundante, as enzimas necessárias à sua biossíntese diminuem tanto em quantidade quanto em atividade.

A regulação da atividade e da síntese das enzimas proporciona tanto um **controle aprimorado** quanto um **controle grosseiro** das vias metabólicas. Assim, por exemplo, a inibição da atividade enzimática pelo produto final de uma via constitui um mecanismo de controle aprimorado, visto que o fluxo de carbono através dessa via é regulado instantaneamente e com

precisão. No entanto, a inibição da síntese das enzimas pelo mesmo produto final constitui um mecanismo de controle grosseiro. As moléculas preexistentes de enzima continuam a funcionar até que sejam diluídas em consequência do crescimento adicional, embora a síntese desnecessária de proteína cesse imediatamente.

Os mecanismos pelos quais a célula regula a atividade enzimática são discutidos na próxima seção. A regulação da síntese das enzimas é discutida no Capítulo 7.

Regulação da atividade enzimática

A. Enzimas como proteínas alostéricas

Em muitos casos, a atividade de uma enzima que catalisa uma etapa inicial de uma via metabólica é inibida pelo produto final dessa via. Entretanto, a referida inibição não pode depender da competição pelo local de ligação do substrato da enzima, visto que as estruturas do produto final e do intermediário inicial (substrato) em geral são muito diferentes. Na verdade, a inibição depende do fato de que as enzimas reguladas são **alostéricas**: cada enzima possui não apenas um local catalítico, que se liga ao substrato, mas também um ou mais locais que se ligam a pequenas moléculas reguladoras, ou **efetores**. A ligação de um efetor ao seu local provoca uma alteração na configuração da enzima, de modo que a afinidade do local catalítico pelo substrato diminui (inibição alostérica) ou aumenta (ativação alostérica).

Em geral, as proteínas alostéricas são oligoméricas. Em alguns casos, as subunidades são idênticas, e cada uma delas possui tanto um local catalítico quanto um efetor; em outros casos, as subunidades são diferentes, e um tipo tem apenas um local catalítico, enquanto o outro exibe somente um local efetor.

B. Inibição por retroalimentação (*Feedback*)

O mecanismo geral que evoluiu nos microrganismos para regular o fluxo de carbono através das vias de biossíntese é mais eficaz do que se possa imaginar. Em cada caso, o produto final inibe alostericamente a atividade da primeira — e apenas dela — enzima da via. Por exemplo, a primeira etapa na biossíntese da isoleucina que não envolva qualquer outra via consiste na conversão da L-treonina em ácido α -cetobutírico, catalisada pela treonina-desaminase, inibida alostericamente e de modo específico pela L-isoleucina e por nenhum outro composto (Fig. 6.28); as outras quatro enzimas da via não são afetadas (embora sua síntese seja reprimida).

C. Ativação alostérica

Em alguns casos, é vantajoso para a célula que o produto final, ou um intermediário, possa ativar determinada enzima em vez de inibi-la. No processo de degradação da glicose por *E. coli*, por exemplo, a produção excessiva dos intermediários G6PD e fosfoenolpiruvato assinala o desvio de alguma glicose para a via de síntese do glicogênio; esse processo é efetuado

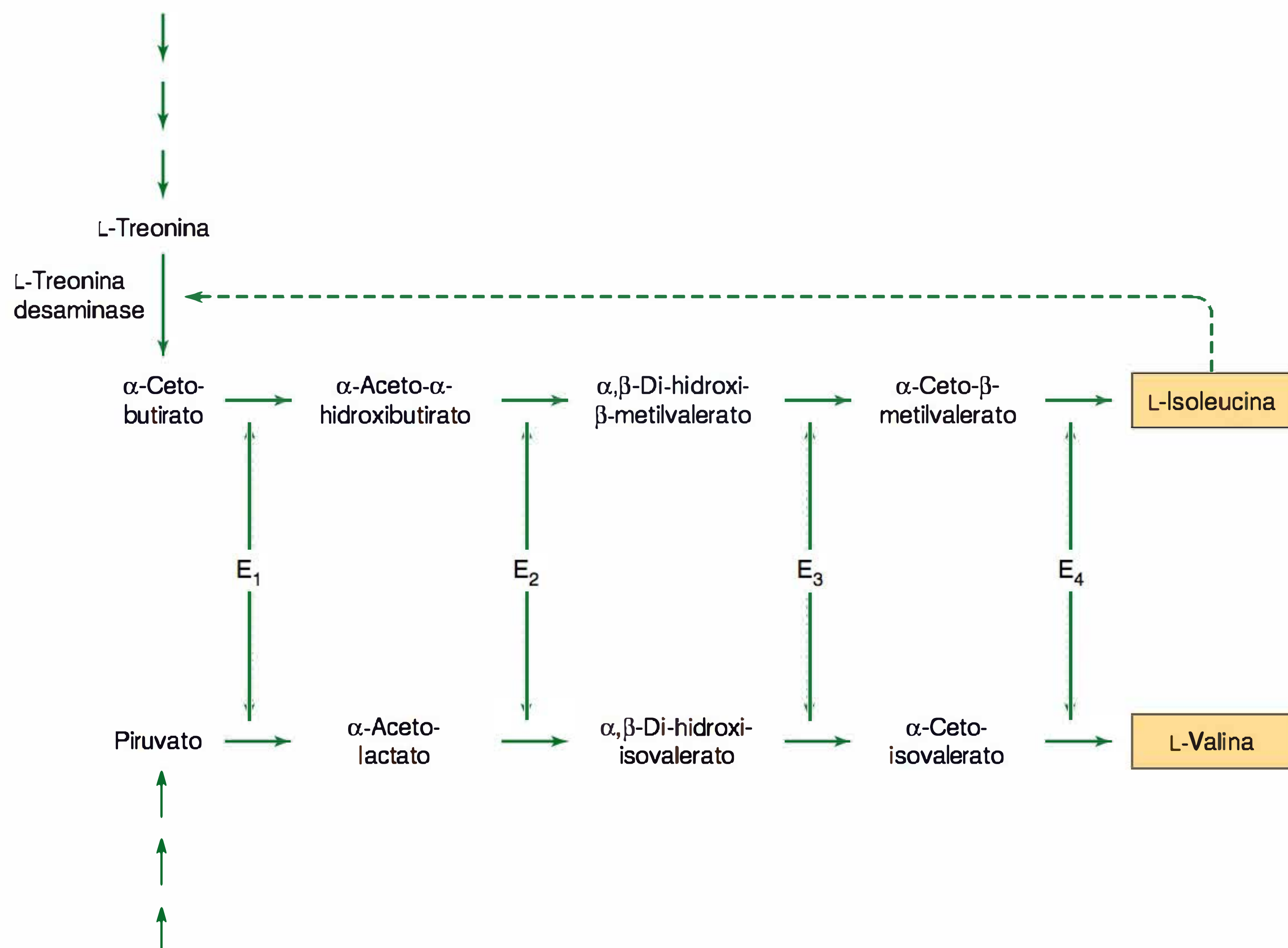


FIGURA 6.28 Inibição por retroalimentação da L-treonina-desaminase pela L-isoleucina (linha tracejada). As vias de biossíntese da isoleucina e da valina são mediadas por um conjunto comum de quatro enzimas, como representado na figura.

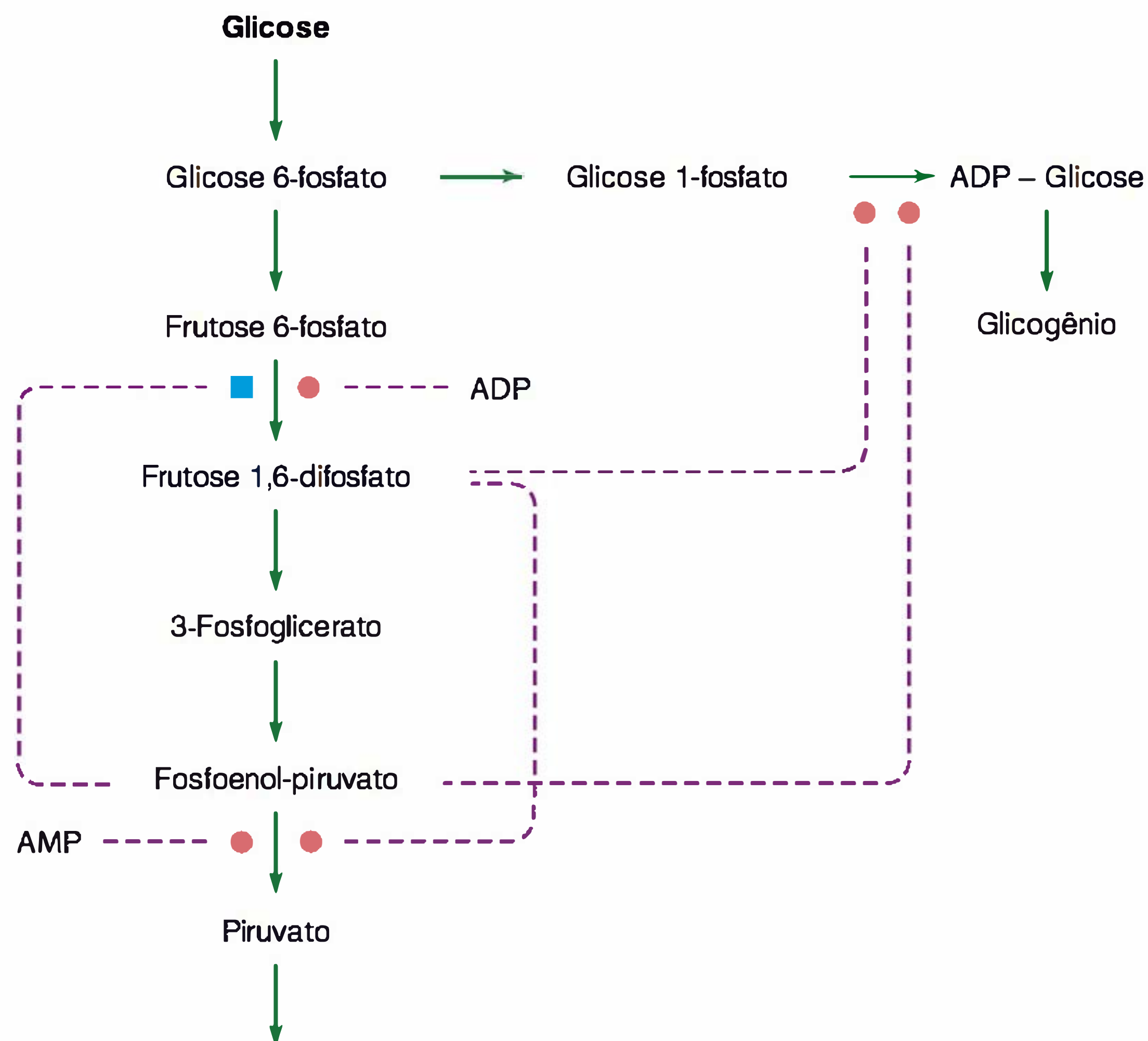


FIGURA 6.29 Regulação da utilização da glicose por uma combinação de ativação alostérica (●) e inibição alostérica (■). AMP, adenosina monofosfato; ATP, adenosina trifosfato (Reproduzida, com autorização, de Stanier RY, Adelberg EA, Ingraham JL: *The Microbial World*, 4th ed. Prentice-Hall, 1976.)

pela ativação alostérica da enzima que converte a glicose-1-fosfato em ADP-glicose (Fig. 6.29).

D. Cooperatividade

Muitas enzimas oligoméricas, por exibirem mais de um local de ligação de substrato, apresentam interações cooperativas de moléculas de substrato. A ligação do substrato por um local catalítico aumenta a afinidade dos outros locais por moléculas adicionais de substrato. O efeito final dessa interação consiste em aumento exponencial da atividade catalítica em resposta a um aumento aritmético na concentração do substrato.

E. Modificação covalente das enzimas

As propriedades reguladoras de algumas enzimas são alteradas mediante a modificação covalente da proteína. Assim, por exemplo, a resposta da glutamina-sintetase a efetores metabólicos é alterada por adenilação, a fixação covalente do ADP a uma cadeia lateral de tirosil específica no interior de cada subunidade enzimática. As enzimas que controlam a adenilação também são controladas por modificação covalente. A atividade de outras enzimas é alterada pela sua fosforilação.

F. Inativação das enzimas

A atividade de algumas enzimas é eliminada por sua hidrólise. Esse processo pode ser regulado e, às vezes, sinalizado por modificação covalente da enzima destinada a ser removida.

RESUMO DO CAPÍTULO

- Metabolismo consiste em dois componentes, o catabolismo e o anabolismo. O catabolismo compreende processos de clivagem de diferentes compostos, produzindo energia que é usada para síntese de ATP. O anabolismo (ou biossíntese), consiste em processos que usam a energia estocada na molécula de ATP para sintetizar as subunidades das macromoléculas que formam as células.
- A origem biossintética das subunidades pode ser rastreada até os precursores denominados metabólitos focais.
- A biossíntese do peptidoglicano somente é encontrada em bactérias. Alguns antibióticos destroem seletivamente bactérias, inibindo diferentes etapas da síntese dessa estrutura.
- As vias Embden-Meyerhof, Entner-Doudoroff e do heterolactato são três vias usadas para o catabolismo da glicose em bactérias. O padrão dos produtos finais, uma característica usada na identificação bacteriana.
- Na ausência de respiração ou fotossíntese, bactérias são inteiramente dependentes da fosforilação de substrato para obtenção de energia.
- A assimilação reductiva do nitrogênio molecular (ou fixação do nitrogênio) é necessária para a manutenção da vida em nosso planeta. É um processo intensivo de energia realizado por uma variedade de bactérias e pelas cianobactérias, usando um complexo enzimático nitrogenase.
- A regulação da atividade enzimática possibilita tanto um controle específico quanto geral das vias metabólicas, de modo que não haja o acúmulo de nenhum metabólito intermediário em excesso.

QUESTÕES DE REVISÃO

- Qual dos seguintes componentes da célula tem sua síntese dependente de um molde (*template*)?
 - Lipopolissacarídeo
 - Peptidoglicano
 - Polissacarídeo capsular
 - Ácido desoxirribonucleico
 - Fosfolípido
- Qual dos seguintes componentes da célula tem sua síntese totalmente determinada pela especificidade enzimática?
 - DNA
 - RNA ribossômico
 - Flagelos
 - Lipopolissacarídeo
 - Proteína
- As principais etapas da síntese do peptidoglicano ocorrem no citoplasma, na membrana citoplasmática e no espaço extracelular. Que antibiótico inibe a etapa extracelular na biossíntese do peptidoglicano?
 - Ciclosserina
 - Rifampicina
 - Penicilina
 - Bacitracina
 - Estreptomicina
- Os aminoácidos são encontrados nas proteínas, no peptidoglicano e na cápsula das bactérias. Qual dos seguintes aminoácidos é encontrado somente no peptidoglicano?
 - L-Lisina
 - Ácido diaminopimérico
 - D-Glutamato
 - L-Alanina
 - Nenhuma das opções anteriores
- A capacidade de empregar outros compostos e íons além do oxigênio como oxidante terminal na respiração é disseminada no trato microbiano. Esta capacidade é chamada:
 - Fotossíntese
 - Fermentação
 - Respiração anaeróbia
 - Fosforilação de substrato
 - Fixação de nitrogênio
- A rota primária da assimilação do carbono usado pelos organismos que usam o CO₂ como única fonte de carbono é:
 - Via hexose monofosfato
 - Via Entner-Doudoroff
 - Via Embden-Meyerhof
 - Ciclo Glioxilato
 - Ciclo de Calvin
- A biossíntese do peptidoglicano é de particular importância na medicina, uma vez que serve de base para o uso de antibióticos que atuam seletivamente. Todos os seguintes antibióticos inibem alguma etapa da síntese do peptidoglicano EXCETO:
 - Cicloserina
 - Vancomicina
 - Bacitracina
 - Estreptomicina
 - Penicilina
- A regulação da atividade enzimática resulta no controle das vias metabólicas. Qual dos seguintes mecanismos regulatórios fornece um controle da via biossintética?
 - Repressão catabólica
 - Indução
 - Inibição por *feedback* (retroalimentação)
 - Atenuação
 - Nenhuma das respostas anteriores
- A origem biossintética das subunidades das macromoléculas e coenzimas pode ser rastreada pelos poucos precursores denominados metabólitos focais. Qual das moléculas é um metabólito focal?
 - α -cetoglutarato
 - Oxaloacetato
 - Fosfoenolpiruvato
 - Glicose 6-fosfato
 - Todas as alternativas acima
- Qual das seguintes alternativas NÃO é um componente do peptidoglicano?
 - Ácido N-acetil-murâmico
 - N-acetil-glicosamina
 - Lípido A
 - Pentaglicina
 - Ácido diaminopimérico

Respostas

- | | | | |
|------|------|------|-------|
| 1. D | 4. B | 7. D | 10. C |
| 2. D | 5. C | 8. C | |
| 3. C | 6. E | 9. E | |

REFERÊNCIAS

- Atlas RM, Bartha R: *Microbial Ecology: Fundamentals and Applications*, 4th ed. Benjamin Cummings, 1998.
- Downs DM: Understanding microbial metabolism. *Annu Rev Microbiol* 2006;60:533.
- Fuchs G: Alternative pathways of carbon dioxide fixation: Insights into the early evolution of life? *Annu Rev Microbiol* 2011;65:631.
- Gibson J, Harwood CS: Metabolic diversity in aromatic compound utilization by anaerobic microbes. *Annu Rev Microbiol* 2002;56:345.
- Hillen W, Stülke: Regulation of carbon catabolism in *Bacillus* species. *Annu Rev Microbiol* 2000;54:849.
- Hurst CJ et al. (editors): *Manual of Environmental Microbiology*, 2nd ed. ASM Press, 2002.
- Ishihama A: Functional modulation of *Escherichia coli* RNA polymerase. *Annu Rev Microbiol* 2000;54:499.
- Leigh JA, Dodsworth JA: Nitrogen regulation in bacteria and archaea. *Annu Rev Microbiol* 2007;61:349.
- Moat AG, Foster JW: *Microbial Physiology*, 4th ed. Wiley-Liss, 2002.
- Neidhardt FC et al. (editors): *Escherichia coli* and *Salmonella*. *Cellular and Molecular Biology*, vols 1 and 2, 2nd ed. ASM Press, 1996.
- Peters JW, Fisher K, Dean DR: Nitrogenase structure and function. *Annu Rev Microbiol* 1995;49:335.
- Roberts IS: The biochemistry and genetics of capsular polysaccharide production in bacteria. *Annu Rev Microbiol* 1996;50:285.
- Russell JB, Cook GM: Energetics of bacterial growth: Balance of anabolic and catabolic reactions. *Microbiol Rev* 1995;59:48.
- Schaechter M, Ingraham JL, Neidhardt FC: *Microbe*. ASM Press, 2006.

Genética microbiana

A ciência da **genética** define e analisa a **hereditariedade**, na grande variedade de funções estruturais e fisiológicas que constituem as propriedades dos organismos. A unidade da hereditariedade é o **gene**, um segmento do ácido desoxirribonucleico (**DNA**) que codifica, em sua sequência de nucleotídeos, a informação sobre determinada propriedade fisiológica. A abordagem tradicional da genética tem sido identificar os genes com base na sua contribuição para o **fenótipo**, isto é, as propriedades estruturais e fisiológicas coletivas de um organismo. Uma propriedade fenotípica, seja ela a cor dos olhos ou a resistência a antibióticos em uma bactéria, é geralmente observada no nível do organismo. A base química para a variação no fenótipo consiste em alteração do **genótipo**, ou alteração na sequência de DNA dentro de um gene ou na organização dos genes.

O **DNA** como o elemento fundamental da hereditariedade foi sugerido na década de 1930 a partir de um experimento seminal, realizado por Frederick Griffith. Nesse experimento (Fig. 7.1), a inoculação de *Streptococcus pneumoniae* tipo III-S virulento (que possui uma cápsula) mortos, em camundongos junto com pneumococos vivos mas não virulentos do tipo II-R (sem cápsula) resultou em uma infecção letal, da qual foram recuperados pneumococos vivos do tipo III-S. A implicação foi que alguma entidade química havia transformado a cepa viva (não virulenta) no fenótipo virulento. Uma década mais tarde, Avery, MacLeod e McCarty descobriram que o agente transformante era o DNA, dando início à formação da biologia molecular tal como a conhecemos hoje. Pesquisas subsequentes com bactérias revelaram a presença de **enzimas de restrição**, proteínas que clivam o DNA em locais específicos, dando origem a **fragmentos de restrição** de DNA. Os **plasmídeos** foram identificados como pequenos elementos genéticos portadores de genes e capazes de replicação independente em bactérias e leveduras. A introdução de um fragmento de restrição do DNA em um plasmídeo permite que esse fragmento seja amplificado muitas vezes. A amplificação de regiões específicas do DNA também pode ser obtida com enzimas bacterianas, utilizando-se o método da **reação em cadeia da polimerase (PCR)** ou outros métodos de amplificação do ácido nucleico baseados em enzimas. O DNA amplificado por essas fontes e digerido com enzimas de restrição apropriadas pode ser inserido em plasmídeos. Os genes podem ficar sob o controle de **promotores** bacterianos de alta expressão, que permitem a expressão de proteínas codificadas em níveis aumentados. A genética bacteriana favoreceu o desenvolvimento da **engenharia genética**, não

somente em procariotos, mas também em eucariotos. Esta tecnologia é responsável pelos enormes avanços no campo da medicina nos dias atuais.

ORGANIZAÇÃO DOS GENES

A estrutura do DNA e a do RNA

A informação genética em bactérias é armazenada em forma de uma sequência de **bases no DNA** (Fig. 7.2). Em bacteriófagos e em vírus, a informação genética pode ser armazenada como sequências de bases no **ácido ribonucleico (RNA)** (Cap. 29). A maioria das moléculas de DNA é constituída por duas fitas entrelaçadas com **bases complementares** (A-T; G-C), pareadas por pontes de hidrogênio voltadas para o centro da molécula (Fig. 7.3). A orientação das duas fitas do DNA é **antiparalela**: uma fita é quimicamente orientada na direção 5' → 3', e sua fita complementar é orientada na direção 3' → 5'. A complementaridade das bases permite que uma fita (**fita-modelo**) forneça a informação necessária à cópia ou expressão da informação na outra fita (**a fita de codificação**). Os pares de bases estão localizados no centro da dupla hélice do DNA (Fig. 7.2) e determinam sua informação genética. Cada circunvolução da hélice possui uma fenda principal e uma fenda menor. Algumas proteínas têm a capacidade de se ligar ao DNA e regular a expressão gênica interagem predominantemente com a fenda principal, onde os átomos das bases estão mais expostos. Cada uma das quatro bases está ligada à fosfo-2'-desoxirribose para formar um **nucleotídeo**. O esqueleto fosfodiéster do DNA, carregado negativamente, fica voltado para o solvente. Em geral, o comprimento de uma molécula de DNA é expresso em milhares de pares de bases ou **pares de quilobases (kbp)**. Enquanto um pequeno vírus pode conter uma única molécula de DNA de menos de 0,5 kbp, o genoma de *Escherichia coli* é formado por > 4.000 kbp. Em ambos os casos, cada par de base é separado do par seguinte por uma distância de cerca de 0,34 nm, ou $3,4 \times 10^{-7}$ mm, de modo que o comprimento total do cromossomo de *E. coli* é de aproximadamente 1 mm. Como as dimensões globais da célula bacteriana são cerca de 1.000 vezes menores do que esse comprimento é evidente que uma quantidade significativa de dobramentos, ou **superespiral**, contribui para a estrutura física da molécula *in vivo*.

O **RNA** ocorre mais frequentemente em forma de fita simples. A base uracila (U) substitui a timina (T) no DNA, de modo que as bases complementares que determinam a estrutura do

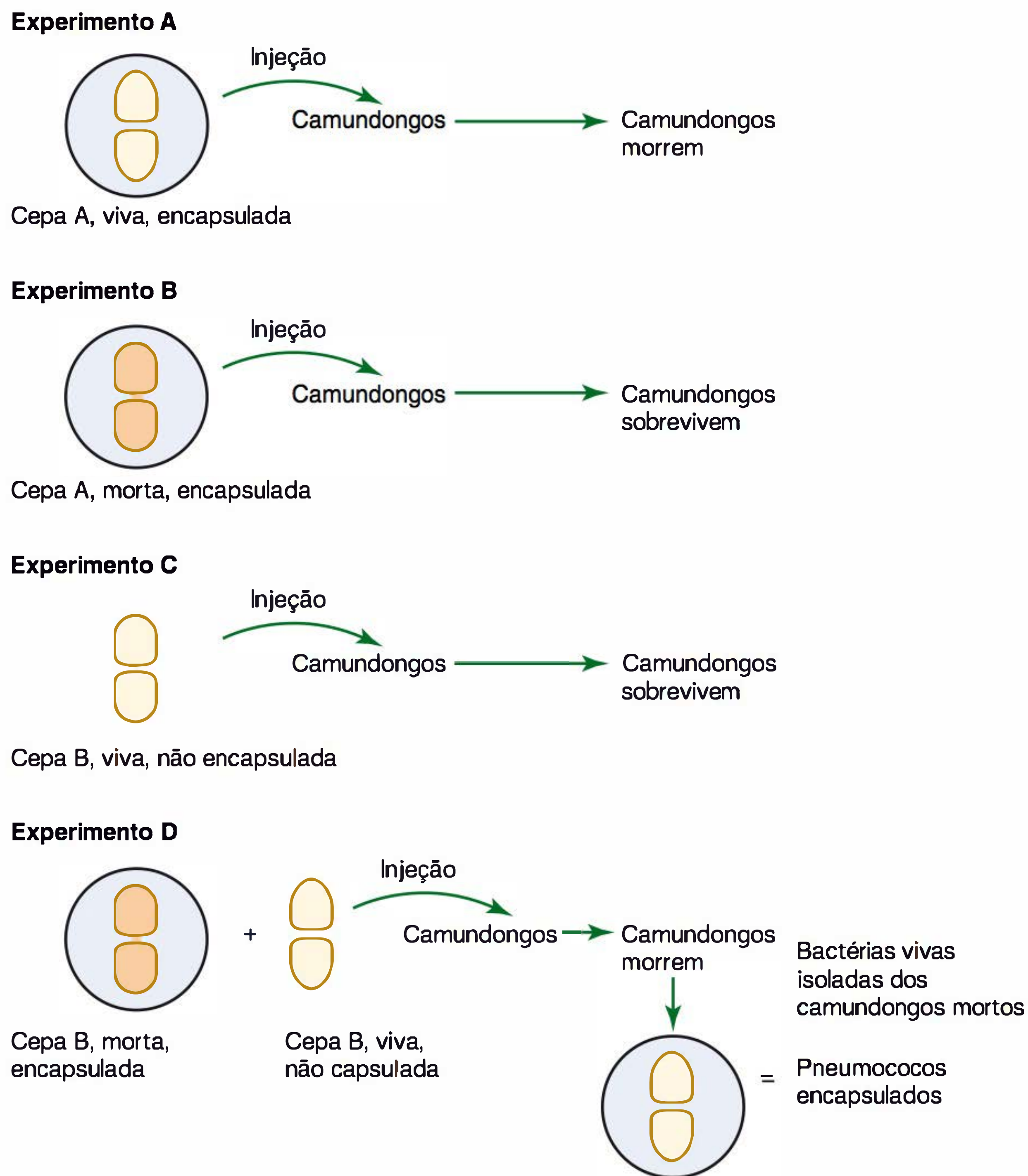


FIGURA 7.1 Experimento de Griffiths mostrando a evidência do fator transformante, posteriormente identificado como o DNA. Em uma série de experimentos, camundongos receberam injeção de *Streptococcus pneumoniae*, vivos ou mortos, encapsulados ou não encapsulados, como indicam os experimentos A a D. O experimento-chave é o D, mostrando que a bactéria encapsulada morta poderia fornecer um fator que permitiria à bactéria não encapsulada matar os camundongos. Além de fornecer a chave da importância da cápsula para a virulência do pneumococo, o experimento D também ilustra o princípio do DNA como a base fundamental da transformação genética. (Reproduzida, com autorização, de McClane and Mietzner, *Microbial Pathogenesis: A Principles-Oriented Approach*, Fence Creek Publishing, 1999.)

RNA são A-U e C-G. A estrutura global das moléculas de RNA de uma só fita é determinada pelo pareamento entre as bases dentro das fitas que formam alças, de modo que as moléculas de RNA de uma única fita assumem uma estrutura compacta capaz de expressar a informação genética contida no DNA.

A função mais geral do RNA consiste na comunicação das sequências gênicas do DNA na forma de **RNA mensageiro** (RNAm) para os **ribossomos**. Esses processos são denominados **transcrição** e **tradução**. O RNAm (também referido como RNAss+) é transcrito como RNA complementar para codificar a fita de DNA. Esse RNAm é então traduzido pelos ribossomos. Os ribossomos, que contêm **RNA ribossômico** (RNAr) e proteínas, traduzem essa mensagem na estrutura primária das proteínas via **aminoacil-RNA de transferência** (ou RNA transportador) (RNAt). O tamanho das moléculas de RNA varia desde as pequenas, que contêm menos de 100 bases, até os RNAm, capazes de transportar mensagens genéticas que se

estendem por alguns milhares de bases. Os ribossomos bacterianos contêm três tipos de RNAr, com tamanhos respectivos de 120, 1.540 e 2.900 bases, juntamente com diversas proteínas (Fig. 7.4). As moléculas correspondentes de RNAr nos ribossomos eucarióticos são um pouco maiores. A necessidade de expressão de cada gene muda em resposta às demandas fisiológicas, e as necessidades de expressão gênica flexível se refletem na rápida renovação metabólica da maioria dos RNAm. Já os RNAt e os RNAr — associados à função universalmente necessária de síntese proteica — tendem a ser estáveis e, juntos, são responsáveis por mais de 95% do RNA total em uma célula bacteriana. Comprovou-se que poucas moléculas de RNA atuam como enzimas (**ribozimas**). Por exemplo, o RNA 23S, na subunidade ribossômica 50S (Fig. 7.4), catalisa a formação da ponte peptídica durante a síntese proteica. Recentemente, uma nova classe de moléculas de RNA, chamadas **RNA de interferência** (RNAi) foi descrita em plantas.

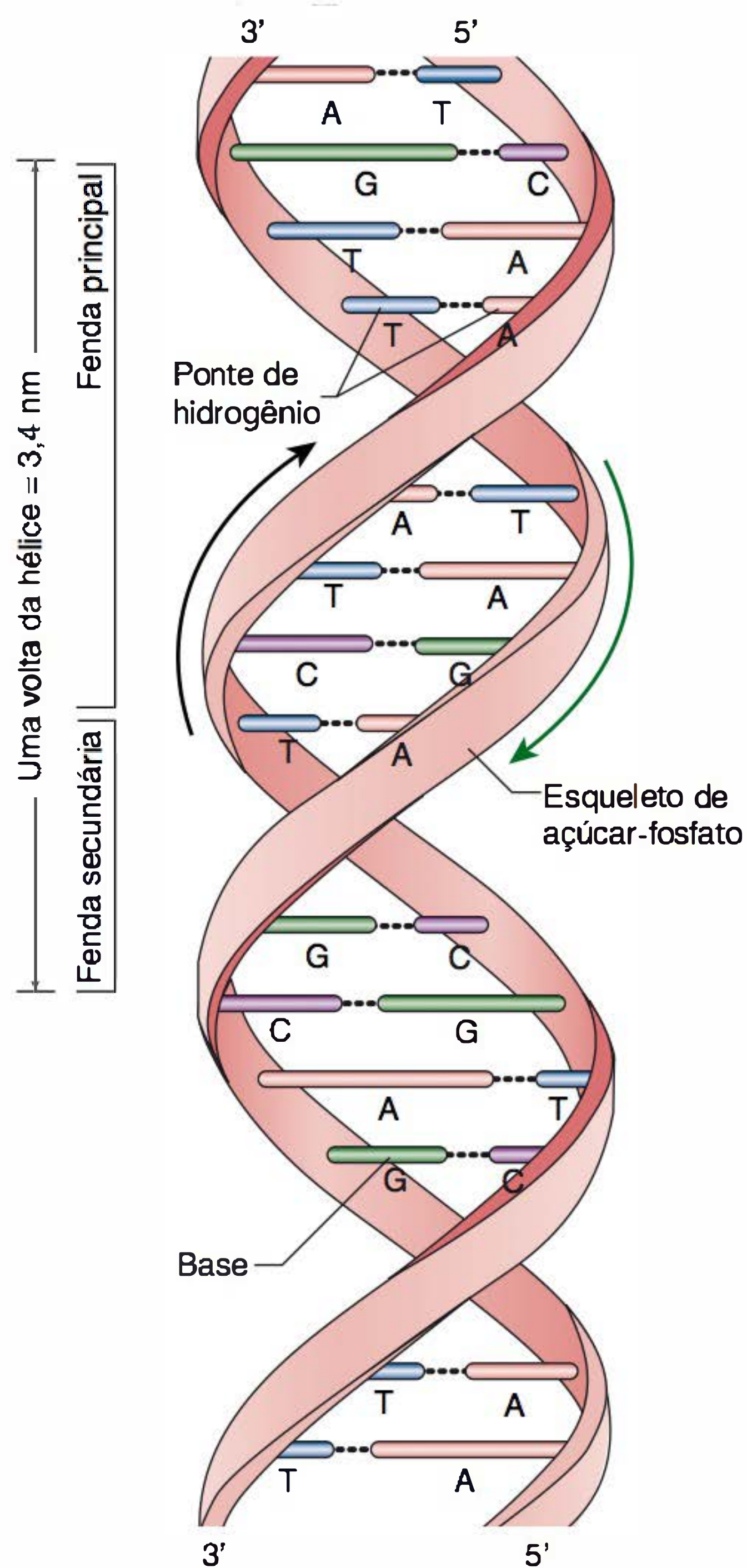


FIGURA 7.2 Desenho esquemático da estrutura do DNA segundo o modelo de Watson-Crick, mostrando o esqueleto de açúcar e fosfato helicoidal das duas fitas mantidas unidas por pontes de hidrogênio entre as bases. (Redesenhada, com autorização, de Snyder L, Champness W: *Molecular Genetics of Bacteria*, Washington, DC: ASM Press, 2nd ed. 2002.)

Os RNAi são moléculas de RNA de fita dupla, com 20 a 25 nucleotídeos, que desempenham uma variedade de papéis em biologia. Foi demonstrado que algumas atuam como reguladores pela ligação com a região terminal 5' de um RNAm, impedindo os ribossomos de traduzir a mensagem, ou pelo pareamento de bases diretamente com a fita de DNA próxima do promotor, prevenindo a transcrição.

O genoma eucariótico

O **genoma** refere-se à totalidade da informação genética contida em determinado organismo. Quase todo o genoma eucariótico está contido em dois ou mais cromossomos, separados do citoplasma pela membrana do núcleo. As células eucarióticas **diploides** contêm dois **homólogos** (cópias evolutivas divergentes) de cada cromossomo. As **mutações** ou alterações genéticas frequentemente não podem ser detectadas nas células

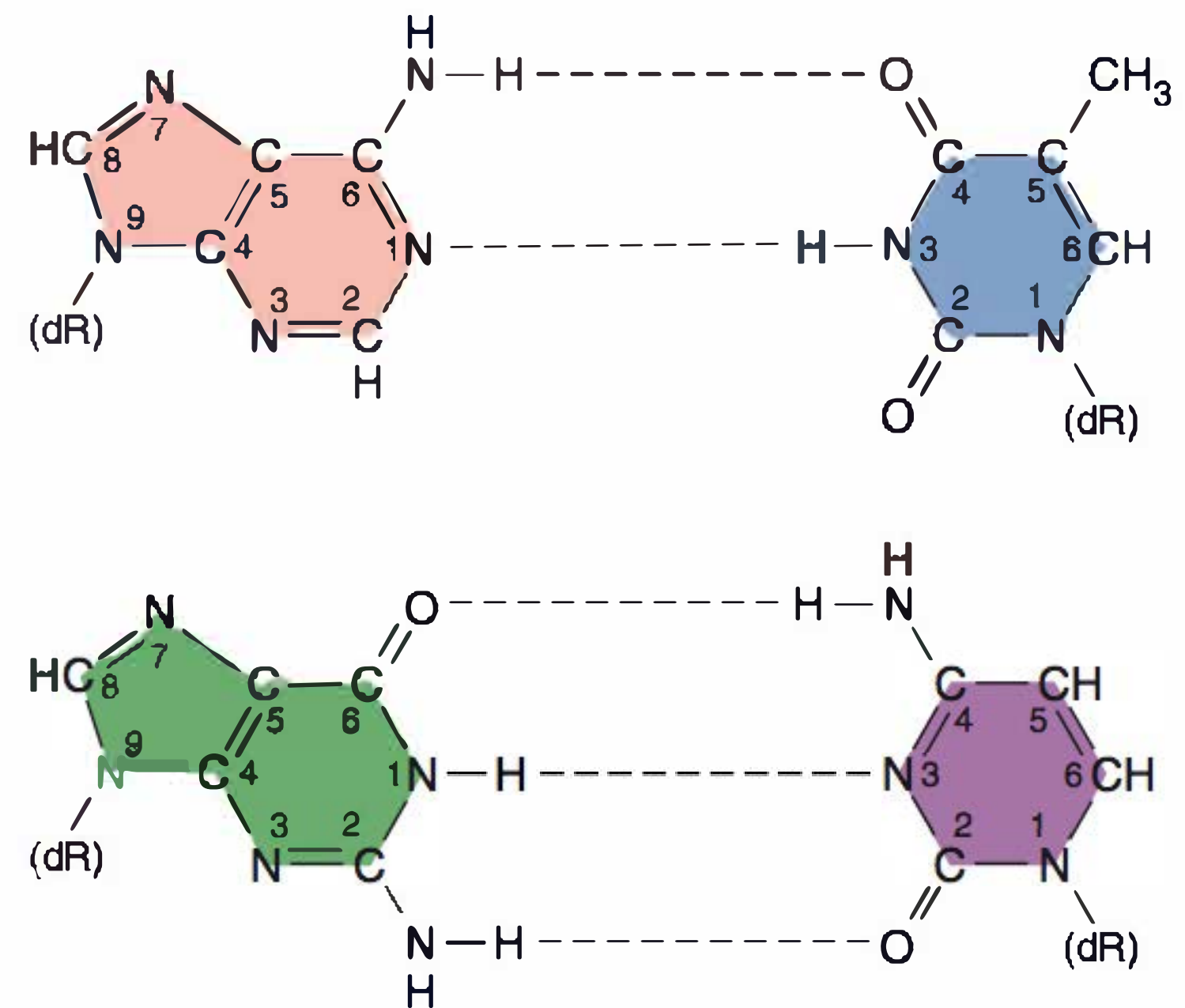


FIGURA 7.3 Pareamento normal de bases no DNA. **Em cima:** par de adenina-timina (A-T). **Embaixo:** par de guanina-citosina (G-C). As pontes de hidrogênio estão indicadas por linhas pontilhadas. Notar que o par G-C compartilha três pontes de hidrogênio, enquanto o par A-T possui somente duas pontes. Consequentemente, as interações G-C são mais fortes do que as A-T. (dR, desoxirribose do esqueleto de açúcar e fosfato do DNA.)

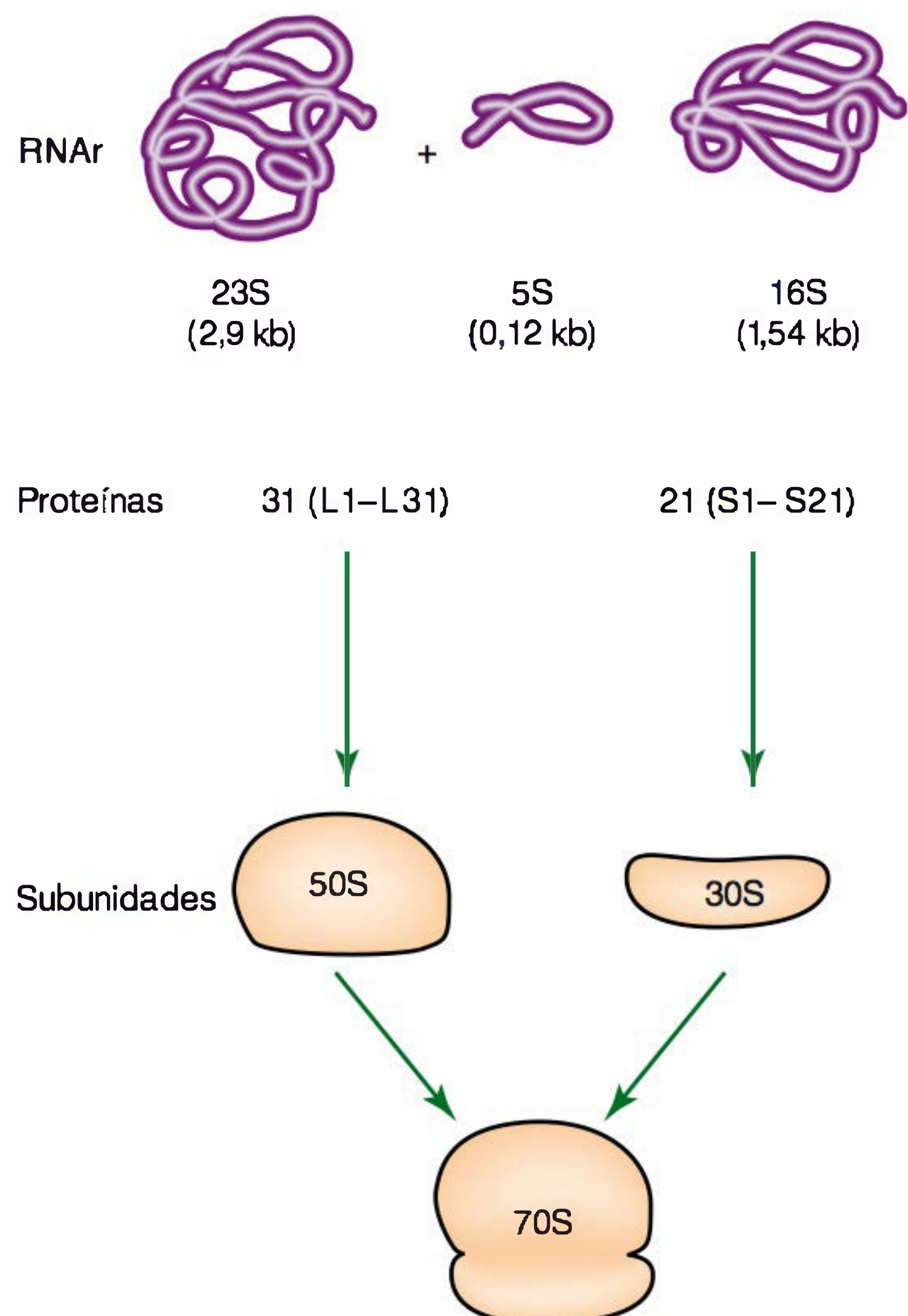


FIGURA 7.4 Composição de um ribossomo que contém uma cópia de cada um dos RNA 16S, 23S e 5S, bem como muitas proteínas. As proteínas da grande subunidade 50S são designadas como L1 a L31; as proteínas da pequena subunidade 30S são designadas como S1 a S21. (Redesenhada, com autorização, de Snyder L, Champness W: *Molecular Genetics of Bacteria*, Washington, DC: ASM Press, 2nd ed. 2002.)

diploides, visto que a contribuição de uma cópia gênica compensa as alterações na função de sua homóloga. O gene que não consegue uma expressão fenotípica na presença de seu homólogo é **recessivo**, enquanto aquele que sobrepuja o efeito de seu homólogo é **dominante**. Os efeitos das mutações podem ser mais facilmente percebidos nas células **haploides**, que contêm uma única cópia da maioria dos genes. As leveduras (eucarióticas) são frequentemente investigadas, visto que podem ser mantidas e analisadas no estado haploide.

As células eucarióticas contêm **mitocôndrias** e, no caso das plantas, **cloroplastos**. No interior de cada uma dessas organelas encontra-se uma molécula circular de DNA que contém poucos genes cuja função está relacionada com a organela em questão. Entretanto, os genes associados à função da organela encontram-se, em sua maioria, nos cromossomos eucarióticos. Muitas leveduras contêm um elemento genético adicional, um círculo de 2 μm de replicação independente que contém cerca de 6,3 kbp de DNA. Esses pequenos círculos de DNA, denominados **plasmídeos** ou **epissomas**, são frequentemente associados com a genética de procariotos. O pequeno tamanho dos plasmídeos torna-os acessíveis à manipulação genética e, após sua alteração, possibilita sua introdução nas células. Por isso, os plasmídeos são geralmente utilizados na engenharia genética.

O **DNA repetitivo**, que ocorre em grandes quantidades nas células eucarióticas, vem sendo cada vez mais identificado nos procariotos. Nos genomas eucarióticos, raramente está associado a regiões de codificação e localiza-se principalmente em regiões extragênicas. Essas repetições de sequência curta (SSR) ou sequências curtas repetidas em série (STR) ocorrem em milhares de cópias dispersas por todo o genoma. A presença de SSR e STR procarióticas está bem documentada, algumas delas exibindo polimorfismos de longo comprimento. Acredita-se que tal variabilidade seja causada por pareamento inapropriado das fitas de DNA, constituindo um pré-requisito importante para a variação de fase e adaptação bacterianas. Muitos genes eucarióticos são interrompidos por **íntrons**, sequências intermediárias de DNA ausentes no RNAm processado quando traduzido. Os íntrons têm sido observados em arqueobactérias, mas, com algumas raras exceções, não são encontrados nas eubactérias (ver Quadro 3.3).

O genoma procariótico

Os genes procarióticos são, em sua maioria, transportados no cromossomo bacteriano. Com poucas exceções, os genes bacterianos são haploides. Os dados sobre a sequência do genoma de mais de 340 genomas microbianos demonstram que a maioria (> 99%) dos genomas procarióticos consiste em uma única molécula de DNA circular contendo desde 580 kbp até mais de 5.220 kbp de DNA (Quadro 7.1). Um número pequeno de bactérias (p. ex., espécies de *Brucella melitensis*, *Burkholderia pseudomallei* e *Vibrio cholerae*) possui genomas que consistem em duas moléculas de DNA circular. Muitas bactérias contêm genes adicionais em plasmídeos, cujo tamanho varia desde vários pares de bases a 100 kbp.

Os círculos de DNA covalentemente fechados (cromossomos bacterianos e plasmídeos), que contêm a informação genética necessária à sua própria replicação, são denominados **réplicons**. Uma vez que os procariotos não contêm núcleo, a

QUADRO 7.1 Comparação dos tamanhos dos genomas em alguns procariotos, bacteriófagos e vírus

	Organismo	Tamanho (kbp)
Procariotos		
Arqueas	<i>Methanococcus jannaschii</i>	1.660
	<i>Archaeoglobus fulgidus</i>	2.180
Eubactérias	<i>Mycoplasma genitalium</i>	580
	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	820
	<i>Borrelia burgdorferi</i>	910
	<i>Chlamydia trachomatis</i>	1.040
	<i>Rickettsia prowazekii</i>	1.112
	<i>Treponema pallidum</i>	1.140
	<i>Chlamydia pneumoniae</i>	1.230
	<i>Helicobacter pylori</i>	1.670
	<i>Haemophilus influenzae</i>	1.830
	<i>Francisella tularensis</i>	1.893
	<i>Coxiella burnetii</i>	1.995
	<i>Neisseria meningitidis</i> sorogrupo A	2.180
	<i>Neisseria meningitidis</i> sorogrupo B	2.270
	<i>Brucella melitensis</i>	2.117 + 1.178
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	4.410	
<i>Escherichia coli</i>	4.640	
<i>Bacillus anthracis</i>	5.227	
<i>Burkholderia pseudomallei</i> ^a	4.126 + 3.182	
Bacteriófago	Lambda	48
Vírus	Ebola	19
	Varíola (principal)	186
	Vacinia	192
	Citomegalovírus	229

^a Organismos com dois cromossomos circulares diferentes.

membrana não separa os genes bacterianos do citoplasma, como ocorre nos eucariotos.

Algumas espécies bacterianas são eficientes para causar doença em organismos superiores, pois possuem genes específicos para determinantes patogênicos. Tais genes estão frequentemente agrupados no DNA, sendo conhecidos como **ilhas de patogenicidade**. Esses segmentos de genes podem ser bastante grandes (até 200 kbp) e codificar uma coleção de genes de virulência. As ilhas de patogenicidade (1) possuem diferentes quantidades G + C do restante do genoma; (2) estão intimamente ligadas no cromossomo a genes do tRNA; (3) são flanqueadas por repetições diretas; e (4) contêm diversos genes importantes para a patogênese, incluindo resistência a antibióticos, adesinas, invasinas e exotoxinas, bem como outros genes que podem estar envolvidos na mobilização genética.

Os genes essenciais ao crescimento bacteriano (frequentemente chamados “housekeeping”) estão localizados no cromossomo, enquanto os plasmídeos contêm genes associados a funções especializadas (Quadro 7.2). Muitos plasmídeos também codificam sequências genéticas (p. ex. aquelas que codificam para *pili* sexuais) que medeiam sua transferência de um

QUADRO 7.2 Exemplos de atividades metabólicas determinadas por plasmídeos

Organismo	Atividade
<i>Pseudomonas</i> spp.	Degradação de cânfora, tolueno, octano e ácido salicílico
<i>Bacillus stearothermophilus</i>	α -Amilase
<i>Alcaligenes eutrophus</i>	Utilização de H ₂ como fonte de energia oxidável
<i>Escherichia coli</i>	Captação e metabolismo de sacarose, captação de citrato
<i>Klebsiella</i> spp.	Fixação de nitrogênio
<i>Streptococcus</i> (grupo N)	Utilização de lactose, sistema galactose fosfotransferase, metabolismo de citrato
<i>Rhodospirillum rubrum</i>	Síntese de pigmento fotossintético
<i>Flavobacterium</i> spp.	Degradação de náilon

microrganismo para outro, bem como outros genes associados à aquisição genética ou rearranjo do DNA. Por isso, genes de origens evolutivas independentes podem ser assimilados por plasmídeos amplamente disseminados entre as populações bacterianas. A consequência desses eventos genéticos tem sido observada na rápida propagação, entre populações bacterianas, da resistência a antibióticos transmitida por plasmídeos após o uso indiscriminado de antibióticos nos hospitais.

Transpósons são elementos genéticos que contêm vários genes, inclusive aqueles necessários para sua migração de um *locus* genético para outro. Ao fazê-lo, criam **mutações de inserção**. O envolvimento de transpósons relativamente curtos (0,75 a 2,0 kbp de comprimento), conhecidos como **elementos de inserção**, produz a maioria das mutações de inserção. Esses elementos de inserção (também conhecidos como sequências de inserção [IS]) transportam unicamente os genes até as enzimas necessárias para promover sua própria transposição para outro *locus* genético, mas não pode replicar em seu próprio *locus*. Quase todas as bactérias possuem elementos de IS, e cada espécie abriga seus próprios elementos característicos. Às vezes, podem ser encontrados elementos de IS relacionados em diferentes bactérias, o que significa que em algum ponto da evolução eles cruzaram a barreira das espécies. Os plasmídeos também transportam elementos de IS importantes na formação de cepas recombinantes de alta frequência (Hfr) (ver adiante). Os transpósons complexos contêm genes para funções especializadas, como para a resistência a antibióticos, e são flanqueados por sequências de inserção. Contudo, não carregam as informações genéticas necessárias para acoplar sua própria replicação à divisão celular, sendo sua propagação dependente da sua integração física a um réplicon bacteriano. Essa associação, estimulada por enzimas, confere aos transpósons a capacidade de se reproduzirem várias vezes. Essas enzimas podem permitir que transpósons se integrem a um mesmo réplicon ou a um réplicon independente. A especificidade da sequência no local da integração é geralmente baixa. Assim, essa inserção é frequentemente aleatória, porém há uma tendência a regiões codificadoras para RNAt. Muitos

plasmídeos são transferidos entre as células bacterianas. Além disso, a inserção de transpósons nesses plasmídeos é um veículo que resulta na sua disseminação em uma população bacteriana.

O genoma viral

Os vírus são capazes de sobreviver, mas não de crescer, na ausência de uma célula hospedeira. A replicação do genoma viral depende da energia metabólica e da maquinaria macromolecular da síntese do hospedeiro. Com frequência, essa forma de parasitismo genético resulta em debilitação ou morte da célula hospedeira. Por conseguinte, a propagação bem-sucedida do vírus exige (1) uma forma estável que possibilite ao vírus sobreviver na ausência de seu hospedeiro, (2) um mecanismo de invasão de uma célula hospedeira, (3) a informação genética necessária à replicação dos componentes virais no interior da célula e (4) informações adicionais que possam ser necessárias ao acondicionamento dos componentes virais e à liberação dos vírus resultantes da célula hospedeira.

Frequentemente, são feitas distinções entre vírus associados a eucariotos e vírus associados a procariotos, sendo os últimos denominados **bacteriófagos** ou **fagos**. Com mais de 5.000 isolados com morfologia conhecida, os fagos constituem o maior dos grupos virais. Grande parte do conhecimento a respeito dos vírus — na verdade, muitos conceitos fundamentais de biologia molecular — surgiu da pesquisa sobre os bacteriófagos.

Os bacteriófagos ocorrem em mais de 140 gêneros bacterianos e em diferentes *habitats*. A molécula de ácido nucleico dos bacteriófagos é circundada por um envelope proteico. Observa-se considerável variabilidade no ácido nucleico dos fagos. Muitos fagos contêm DNA de fita dupla, outros contêm RNA de fita simples, e alguns possuem DNA de fita simples; outros, ainda, contêm RNA de fita dupla, RNA de fita simples ou DNA de fita simples. Algumas vezes, são encontradas bases incomuns, como a hidroximetilcitosina, no ácido nucleico do fago. Os bacteriófagos exibem ampla variedade de morfologias. Muitos fagos contêm estruturas especializadas semelhantes a seringas (*i. e.*, caudas), que se ligam a receptores sobre a superfície da célula e injetam o ácido nucleico para o interior de uma célula hospedeira (Fig. 7.5).

Os fagos podem ser distinguidos com base no seu modo de propagação. Os **fagos líticos** produzem muitas cópias de si mesmos à medida que matam a célula hospedeira. Entre

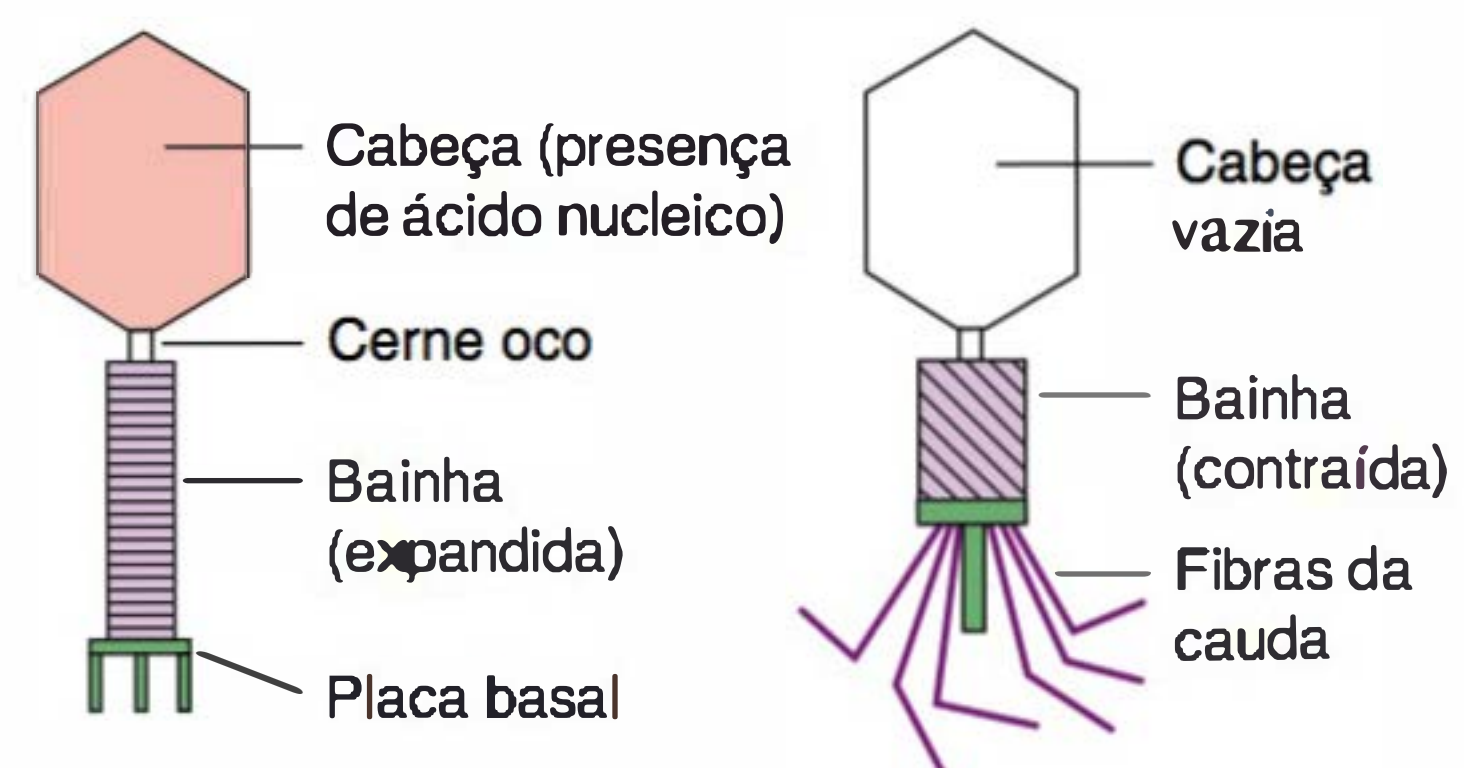


FIGURA 7.5 Ilustrações do fago T2 com e sem ácido nucleico. Note que, quando o fago contém ácido nucleico, toma uma forma diferente do que quando o ácido nucleico está ausente. Estes diagramas foram redenhados a partir de observações de microscopia eletrônica.

os fagos líticos mais extensamente estudados, os fagos T pares (p. ex., T2, T4) de *E. coli* demonstraram necessidade de expressão precisamente cronometrada dos genes virais para coordenar os eventos associados à sua formação. Os **fagos temperados** são capazes de assumir um estado de **pró-fagos** não lítico (inseridos no cromossomo bacteriano), em que a replicação do seu ácido nucleico está ligada à replicação do DNA da célula hospedeira. As bactérias que transportam pró-fagos são denominadas **lisogênicas**, visto que um sinal fisiológico pode deflagrar um ciclo lítico, resultando em morte da célula hospedeira e liberação de inúmeras cópias do fago. O fago temperado mais bem caracterizado é o λ (lambda) da *E. coli*. Os genes que determinam a resposta lítica ou lisogênica à infecção λ foram identificados, e suas complexas interações foram estudadas em detalhe.

Os **fagos filamentosos**, exemplificados pelo fago M13 da *E. coli*, que foi bem estudado, são excepcionais em vários aspectos. Seus filamentos ou fitas contêm DNA de fita simples, formando complexo com proteínas, e são expelidos de seus hospedeiros, que se mostram debilitados, mas que não são mortos pela infecção do fago. A engenharia do DNA no fago M13 proporcionou fitas simples que constituem fontes valiosas para a análise e a manipulação do DNA.

REPLICAÇÃO

O DNA de fita dupla é sintetizado por **replicação semiconservativa**. À medida que a dupla hélice original se abre, cada fita funciona como molde (*i. e.*, como fonte de informação da sequência) para a replicação do DNA. As novas fitas são sintetizadas com suas bases em ordem complementar à das fitas preexistentes. Concluída a síntese, cada molécula-filha contém uma fita original e uma fita recém-sintetizada.

DNA bacteriano

A replicação do DNA bacteriano começa em um ponto e prossegue em ambas as direções (*i. e.*, **replicação bidirecional**). No processo, as duas fitas antigas de DNA são separadas e utilizadas como modelos para a síntese de novas fitas (**replicação semiconservativa**). A estrutura em que as duas fitas são separadas e na qual ocorre a nova síntese é denominada **forquilha de replicação**. A replicação do cromossomo bacteriano é rigorosamente controlada, e o número de cada cromossomo (quando mais de um está presente) por célula em crescimento varia de 1 a 4. Alguns plasmídeos bacterianos podem apresentar até 30 cópias em uma célula bacteriana, e as mutações que provocam a redução do controle da replicação dos plasmídeos podem resultar em 10 vezes mais esse número.

A replicação do DNA bacteriano circular de fita dupla começa no *locus ori* e envolve interações com várias proteínas. Em *E. coli*, a replicação cromossômica termina em uma região denominada *ter*. A **origem (ori)** e os **locais de terminação (ter)** para replicação estão localizados em pontos opostos no DNA circular cromossômico. Os dois cromossomos-filhos são separados antes da divisão celular, de modo que cada progênie adquira um dos DNA-filhos. Isso é feito com o auxílio da recombinação e das topoisomerasas, enzimas que alteram o superenrolamento do DNA de fita dupla. (Em superespiral a

molécula do DNA enrola-se como um fio de telefone, o que acarreta um encurtamento da molécula.) As topoisomerasas atuam cortando transitoriamente uma ou ambas as fitas do DNA para relaxar o enrolamento e estender a molécula de DNA. Como as topoisomerasas bacterianas são essenciais e únicas, elas são alvo dos **antibióticos** (p. ex., quinolonas). Processos semelhantes levam à replicação do DNA de plasmídeo, exceto quanto ao fato de que, em alguns casos, a replicação é unidirecional.

Fago

Os bacteriófagos exibem considerável diversidade no que concerne à natureza de seu ácido nucleico, e essa diversidade se reflete em diferentes modos de replicação. Os fagos líticos e os temperados exibem estratégias de propagação fundamentalmente diferentes. Os fagos líticos produzem muitas cópias de si mesmos em um único surto de crescimento; os fagos temperados se estabelecem como pró-fagos, tornando-se parte de um réplicon estabelecido (cromossomo ou plasmídeo) ou formando um réplicon independente.

O DNA de fita dupla de muitos fagos líticos é linear, e o primeiro estágio de sua replicação consiste na formação de DNA circular. Esse processo depende de **extremidades coesivas**, as quais consistem em caudas de fita simples complementares de DNA que sofrem hibridização. A **ligação**, formação de uma ligação fosfodiéster entre as regiões 5' e 3' do DNA, origina o DNA fechado e circular ligado de modo covalente, que pode sofrer replicação de maneira semelhante à utilizada por outros réplicons. A clivagem dos círculos produz DNA linear, acondicionado em envelope proteico, formando fagos-filhos.

O DNA de fita simples de fagos filamentosos é convertido em uma forma replicativa circular de fita dupla. Uma fita da forma replicativa é utilizada como modelo em um processo contínuo que produz DNA de fita simples. O modelo consiste em um círculo de rotação, e o DNA de fita simples produzido é clivado e acondicionado com uma proteína para extrusão extracelular.

Os fagos de RNA de fita simples estão entre as menores partículas extracelulares que contêm informação capaz de permitir sua própria replicação. Por exemplo, o RNA do fago MS2 contém (em menos de 4.000 nucleotídeos) três genes que podem atuar como RNAm após infecção. Um gene codifica a proteína do envelope, enquanto outro codifica uma RNA-polimerase que produz uma forma replicativa de RNA de fita dupla. O RNA de fita simples, produzido a partir da forma replicativa, é o cerne de novas partículas infecciosas.

Alguns bacteriófagos temperados, exemplificados pelo fago P1 da *E. coli*, podem se estabelecer em um estado de pró-fago como plasmídeos. O DNA de fita dupla de outros bacteriófagos temperados estabelece-se como pró-fago pela sua inserção no cromossomo do hospedeiro. O local de inserção pode ser muito específico, conforme exemplifica a integração do fago λ da *E. coli* em um único *locus int* no cromossomo bacteriano. A especificidade da integração é determinada pela identidade da sequência de DNA compartilhada pelo *locus* cromossômico *int* e uma região correspondente no genoma do fago. Outros fagos temperados, como o Mu da *E. coli*, integram-se em qualquer um de uma ampla variedade de locais cromossômicos, e nesse aspecto assemelham-se aos transpósons.

Os pró-fagos contêm genes necessários à replicação lítica (também denominada replicação vegetativa), e a expressão desses genes é reprimida durante a manutenção do estado de pró-fago. Uma manifestação de repressão é que um pró-fago estabelecido frequentemente confere imunidade celular contra a infecção lítica por um fago semelhante. Uma cascata de interações moleculares deflagra a **desrepressão** (liberação da repressão), de modo que o pró-fago sofre replicação vegetativa, resultando na formação de muitas partículas infecciosas. Certos estímulos artificiais, como a luz ultravioleta (UV), podem causar a desrepressão do pró-fago. A mudança entre a lisogenia — propagação do genoma do fago com o hospedeiro — e o crescimento do fago vegetativo à custa da célula pode ser determinada, em parte, pelo estado fisiológico da célula. Uma bactéria que não se encontra em fase de replicação não irá sustentar o crescimento vegetativo do fago, porém uma célula em crescimento ativo contém energia e subunidades formadoras suficientes para sustentar a rápida replicação do fago.

TRANSFERÊNCIA DE DNA

Poder-se-ia presumir que a natureza haploide do genoma bacteriano limita a plasticidade do genoma de uma bactéria. No entanto, a ubiquidade de bactérias diversas no ambiente fornece um conjunto abundante de genes que contribui para a sua notável diversidade genética, através de mecanismos de troca de material genético. A troca genética bacteriana é exemplificada pela transferência de um fragmento relativamente pequeno de um genoma doador para uma célula receptora, seguida de recombinação genética. A recombinação genética bacteriana é um tanto diferente da fusão dos gametas observada com eucariotos. Ela exige que esse DNA doador seja replicado no microrganismo recombinante. A replicação pode ser obtida pela integração do DNA doador no cromossomo do receptor ou pelo estabelecimento do DNA do doador como réplicon independente.

Restrição e outras limitações na transferência de genes

As **enzimas de restrição** (endonucleases de restrição) proporcionam às bactérias um mecanismo para distinguir em seu próprio DNA daquele de outras fontes biológicas e hidrolisam (clivam) o DNA em locais de restrição determinados por sequências específicas de DNA que variam de 4 a 13 bases. Cada cepa bacteriana que possui um sistema de restrição tem a capacidade de mascarar esses locais de reconhecimento no seu próprio DNA ao modificá-los mediante a metilação de um resíduo de adenina ou citosina dos mesmos. Tais sistemas de modificação de restrição podem ser divididos em duas grandes classes: os sistemas tipo I, em que as atividades de restrição e modificação são combinadas em uma única proteína de inúmeras subunidades; e os sistemas tipo II, que consistem em endonucleases e metilases distintas. Uma consequência biológica direta da restrição pode consistir na clivagem do DNA doador antes de ter a oportunidade de se estabelecer como parte de um réplicon recombinante, tornando a bactéria “imune” a esse DNA.

Alguns plasmídeos exibem limitada variedade de hospedeiros e são capazes de se replicar unicamente em um grupo

estritamente relacionado de bactérias. Outros, exemplificados por alguns plasmídeos de resistência a fármacos, replicam-se em uma ampla faixa de gêneros bacterianos. Em alguns casos, dois ou mais plasmídeos podem coexistir de modo estável em uma célula, porém outros pares irão interferir na replicação ou na divisão. Se tais plasmídeos forem introduzidos na mesma célula, um deles será perdido a uma taxa maior do que o normal quando a célula sofrer divisão. Esse fenômeno é denominado **incompatibilidade dos plasmídeos**; dois plasmídeos incapazes de coexistir de modo estável pertencem ao mesmo **grupo de incompatibilidade (Inc)**, e dois plasmídeos capazes de exibir coexistência estável pertencem a grupos Inc diferentes.

Mecanismos de recombinação

O DNA doador que não transporta a informação necessária à sua própria replicação precisa recombinar-se com o DNA receptor para se estabelecer em uma cepa receptora. A recombinação pode ser **homóloga**, uma consequência da estreita semelhança nas sequências do DNA doador e do DNA receptor, ou **não homóloga**, constituindo o resultado da recombinação enzimaticamente catalisada entre sequências diferentes de DNA. A recombinação homóloga quase sempre envolve uma troca entre genes que compartilham uma ancestralidade comum. O processo exige um conjunto de genes designados *rec*. A recombinação não homóloga depende de enzimas codificadas pelo DNA integrado, sendo mais claramente exemplificada pela inserção do DNA em um receptor para formar uma cópia de um transpóson doador.

O mecanismo de recombinação mediado pelos produtos gênicos *rec* é recíproco: a introdução de uma sequência doadora em um receptor se reflete pela transferência da sequência homóloga do receptor no DNA do doador. As atenções científicas estão sendo cada vez mais dirigidas para o papel desempenhado pela **conversão de genes** — a transferência não recíproca de sequências de DNA do doador para o do receptor — na aquisição da diversidade genética.

Mecanismos de transferência de genes

A composição do DNA dos microrganismos é extraordinariamente fluida. O DNA pode ser transferido de um organismo para outro e incorporado de modo estável no receptor, alterando permanentemente sua composição. Esse processo é chamado de transferência **horizontal** de genes, para diferenciá-lo da herança de genes parentais, um processo chamado herança **vertical**. Três mecanismos principais são responsáveis pelo movimento eficiente do DNA entre as células — **conjugação**, **transdução** e **transformação**.

A **conjugação** requer o contato da célula doadora com a célula receptora para transferir apenas uma fita de DNA (Fig. 7.6). O receptor completa a estrutura do DNA de fita dupla sintetizando a fita que complementa aquela adquirida a partir do doador. Na **transdução**, o DNA do doador é transportado em um envelope de fago e transferido para o receptor pelo mecanismo utilizado na infecção por fagos. A **transformação**, que se refere à captação direta do DNA “nu” do doador pela célula receptora, pode ser natural ou forçada. A transformação forçada é induzida em laboratório, em que, após tratamento com

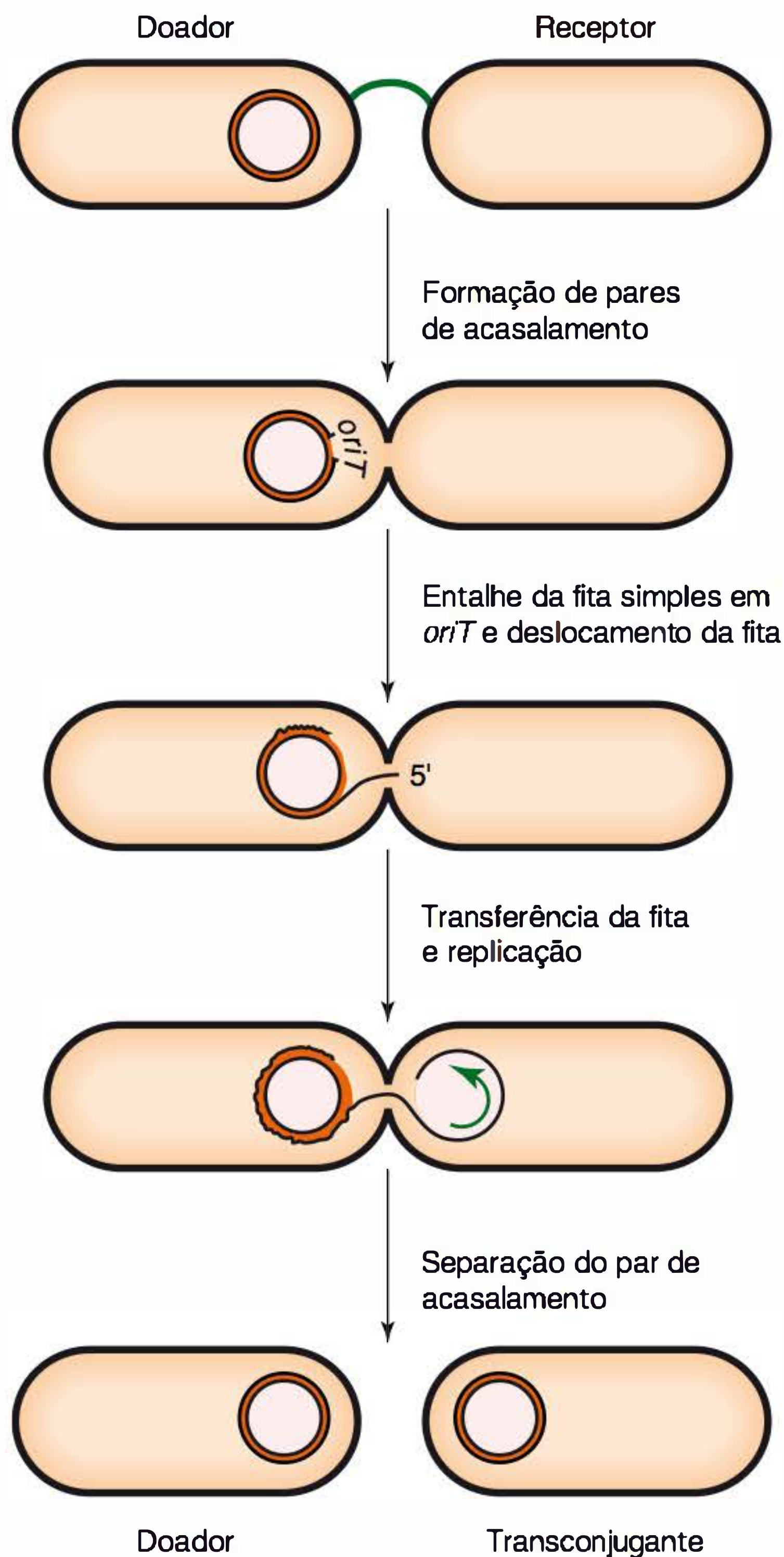


FIGURA 7.6 Mecanismo de transferência do DNA durante a conjugação. A célula doadora produz um *pilus*, codificado pelo plasmídeo, e estabelece contato com uma célula receptora potencial que não contém o plasmídeo. A retração do *pilus* determina um estreito contato entre as células, e forma-se um poro nas membranas celulares contíguas. A formação do par de acasalamento constitui o sinal para que o plasmídeo inicie a transferência a partir de um entalhe da fita simples na *oriT*. O entalhe é feito por funções *tra* codificadas pelo plasmídeo. A extremidade 5' de uma fita simples do plasmídeo é transferida para o receptor através do poro. Durante a transferência, o plasmídeo no doador é replicado, sendo a síntese do DNA iniciada pela 3' OH do entalhe *oriT*. A replicação da fita simples no receptor prossegue por um mecanismo diferente com *primers* de RNA. Nesse estágio, ambas as células contêm plasmídeos de fita dupla, e o par de acasalamento separa-se. (Redesenhada, com autorização, de Snyder L, Champness W: *Molecular Genetics of Bacteria*, Washington, DC: ASM Press, 2nd ed. 2002.)

alta concentração de sal e choque térmico, muitas bactérias tornam-se competentes para a captação dos plasmídeos extracelulares. A capacidade de forçar bactérias a incorporarem plasmídeos extracelulares por transformação é fundamental na engenharia genética.

A. Conjugação

Os plasmídeos são frequentemente transferidos por conjugação. As funções genéticas necessárias à transferência são codificadas pelos genes *tra*, transportados por plasmídeos autotransmissíveis. Alguns plasmídeos autotransmissíveis são capazes de mobilizar outros plasmídeos ou porções do cromossomo para a transferência. Em alguns casos, a mobilização é obtida pelo fato de os genes *tra* fornecerem as funções necessárias à transferência de um plasmídeo que, de outro modo, não seria transmissível (Figs. 7.7 e 7.8). Em outros casos, o plasmídeo autotransmissível integra-se ao DNA de outro réplicon e, como extensão de si próprio, transporta uma fita desse DNA para uma célula receptora.

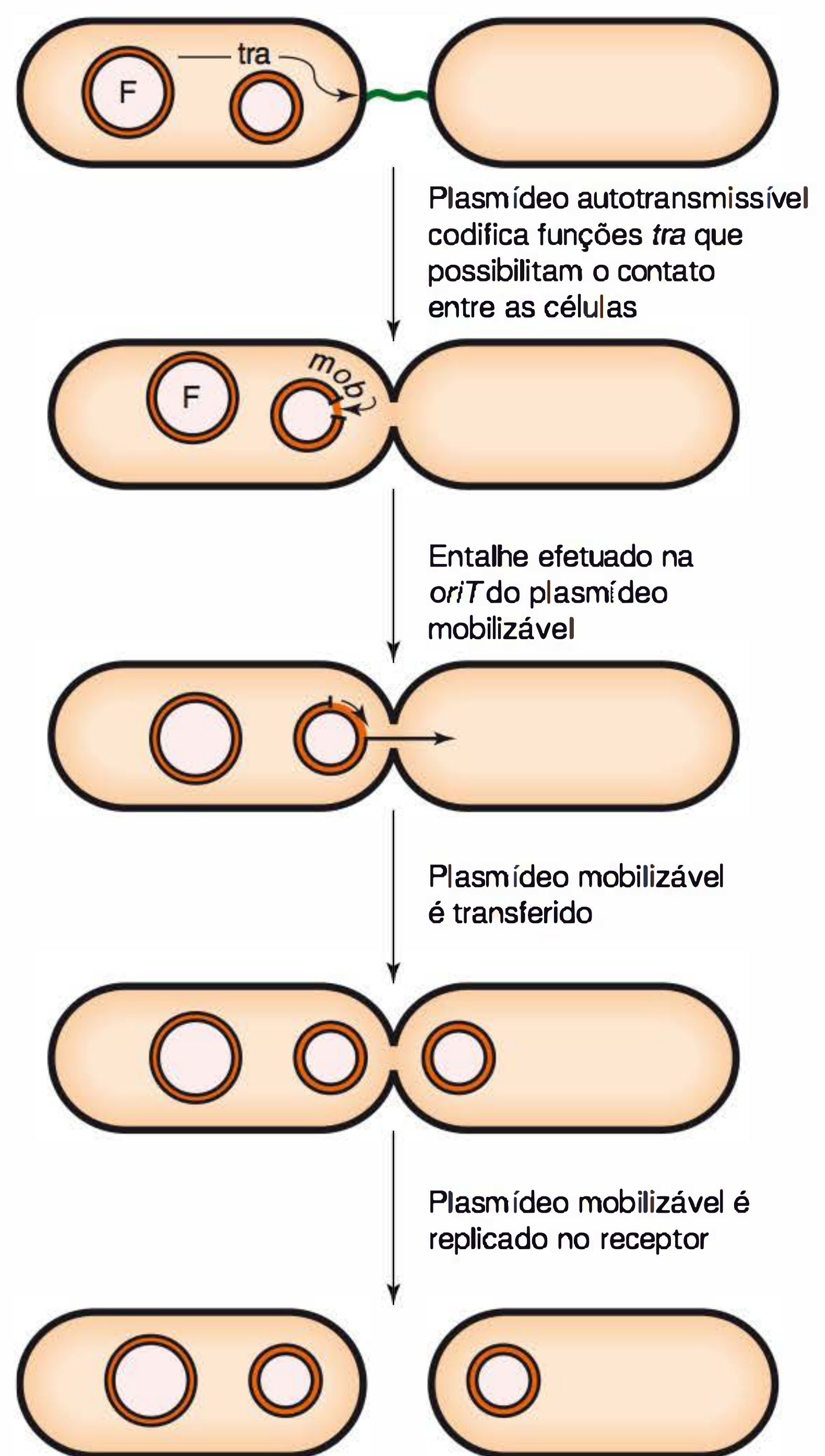


FIGURA 7.7 Mecanismo de mobilização de plasmídeos. A célula doadora transporta dois plasmídeos, um autotransmissível, F, o qual codifica as funções *tra* que promovem o contato entre as células e a transferência do plasmídeo, bem como um plasmídeo mobilizável. As funções *mob* codificadas pelo plasmídeo mobilizável efetuam um entalhe da fita simples em *oriT* na região *mob*. Em seguida, ocorrem a transferência e a replicação do plasmídeo mobilizável. O plasmídeo autotransmissível também pode ser transferido. (Redesenhada, com autorização, de Snyder L, Champness W: *Molecular Genetics of Bacteria*, Washington, DC: ASM Press, 2nd ed., 2002.)

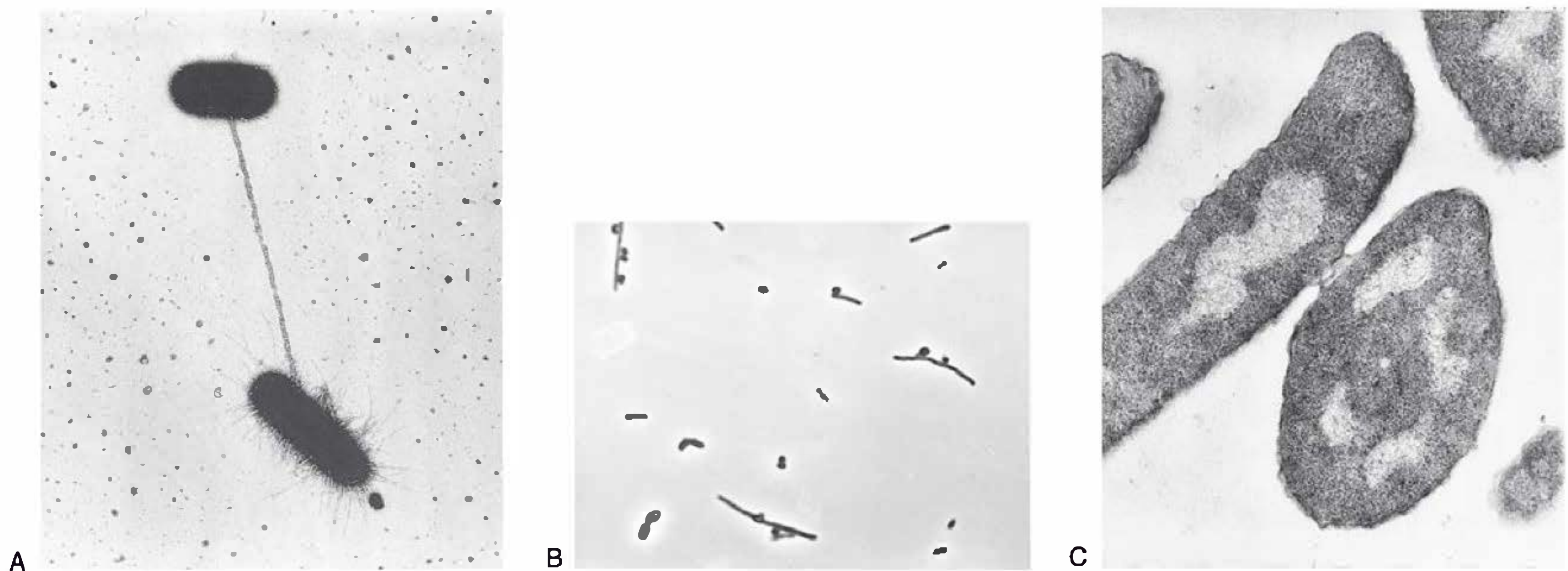


FIGURA 7.8 (A) “Célula-macho” e “célula-fêmea” unidas por um *pilus* F (*pilus* sexual). (B) Pares acasalados de células de *E. coli*. As células Hfr são alongadas. (C) Micrografia eletrônica de um corte fino de um par em acasalamento. As paredes celulares das bactérias acasaladas estão em íntimo contato na área da “ponte”. (A fotografia [A] foi cortesia de Carnahan J e Brinton C. As fotografias [B] e [C] foram reproduzidas, com autorização, de Gross JD and Caro LG: DNA transfer in bacterial conjugation. *J Mol Biol* 1966;16:269.)

A análise genética da *E. coli* progrediu enormemente com a elucidação dos fatores de **fertilidade** transportados por um plasmídeo denominado F^+ . Esse plasmídeo confere determinadas características do doador às células, como um *pilus* sexual, uma proteína de extrusão multimérica extracelular que liga as células doadoras aos microrganismos receptores que carecem do fator de fertilidade. Uma ponte entre as células possibilita que uma fita do plasmídeo F^+ , sintetizado pelo doador, passe para o receptor, onde a fita complementar de DNA é formada. O fator de fertilidade F^+ pode integrar-se em inúmeros *loci* no cromossomo das células doadoras. O fator de fertilidade integrado cria doadores de alta frequência de recombinação (Hfr) a partir dos quais o DNA cromossômico é transferido (do local de inserção) em uma direção determinada pela orientação da inserção (Fig. 7.9).

A taxa de transferência cromossômica das células Hfr é constante, e a compilação dos resultados de muitos experimentos de conjugação possibilitou a preparação de um **mapa genético** da *E. coli*, em que as distâncias entre os *loci* são medidas em número de minutos necessários para que ocorra a transferência na conjugação. Um mapa semelhante foi construído para a *Salmonella typhimurium*, uma bactéria coliforme (tipo *E. coli*) relacionada, onde a comparação entre os dois mapas mostra padrões relacionados de organização gênica entre as duas espécies bacterianas.

Procedimentos análogos com outros plasmídeos possibilitaram aos pesquisadores mapear os cromossomos circulares de membros de gêneros bacterianos distantes; assim, por exemplo, os plasmídeos de resistência a fármacos, denominados **fatores R**, podem promover a transferência cromossômica de diferentes bactérias, como espécies de *Pseudomonas*. A comparação dos mapas cromossômicos de *Pseudomonas aeruginosa* e *Pseudomonas putida* mostra que a divergência dessas duas espécies estreitamente relacionadas foi acompanhada de um número pequeno, embora significativo, de rearranjos genéticos. Os mapas da *Pseudomonas* têm pouco em comum com os mapas das bactérias coliformes biologicamente distantes.

A integração do DNA cromossômico em um plasmídeo conjugativo pode produzir um réplicon recombinante — um *prime* F (fertilidade) ou um *prime* R (resistência), dependendo do plasmídeo — no qual o DNA cromossômico integrado pode ser replicado no plasmídeo independentemente do cromossomo, o que ocorre quando o plasmídeo integrado (p. ex., F) é flanqueado por duas cópias de um elemento de IS. As bactérias que transportam cópias de genes, um conjunto completo no cromossomo e um conjunto parcial em um *prime*, são **diplóides parciais** ou **merodiplóides**, e mostram-se úteis para estudos de complementação. Com frequência, um gene do tipo selvagem complementa seu homólogo mutante, e a seleção do fenótipo do tipo selvagem pode possibilitar a manutenção de merodiplóides em laboratório. Tais cepas podem tornar possível a análise das interações entre diferentes **alelos**, isto é, variantes genéticas do mesmo gene. Com frequência, os merodiplóides são geneticamente instáveis, visto que a recombinação entre o plasmídeo e o cromossomo homólogo pode resultar em perda ou troca de alelos mutantes ou do tipo selvagem. Esse problema pode frequentemente ser evitado pela manutenção de merodiplóides em uma base genética em que o gene *recA*, necessário à recombinação entre segmentos homólogos de DNA tenha sido inativado.

Os genes homólogos de diferentes microrganismos podem ter divergido a ponto de impedir a recombinação homóloga entre eles, mas sem alterar a capacidade de um gene complementar a atividade ausente do outro. Por exemplo, é improvável que a origem genética de uma enzima necessária à biossíntese dos aminoácidos influencie a atividade catalítica no citoplasma de um hospedeiro biologicamente distante. Um merodiplóide que transporte um gene para essa enzima também transportaria genes flanqueadores provenientes do microrganismo doador. Por conseguinte, a genética microbiana convencional, baseada na seleção de plasmídeos iniciais, pode ser utilizada para isolar genes de microrganismos exigentes na *E. coli* ou na *P. aeruginosa*. A importância dessa tecnologia reside na sua capacidade de simplificar ou evitar os procedimentos relativamente dispendiosos exigidos pela engenharia genética.

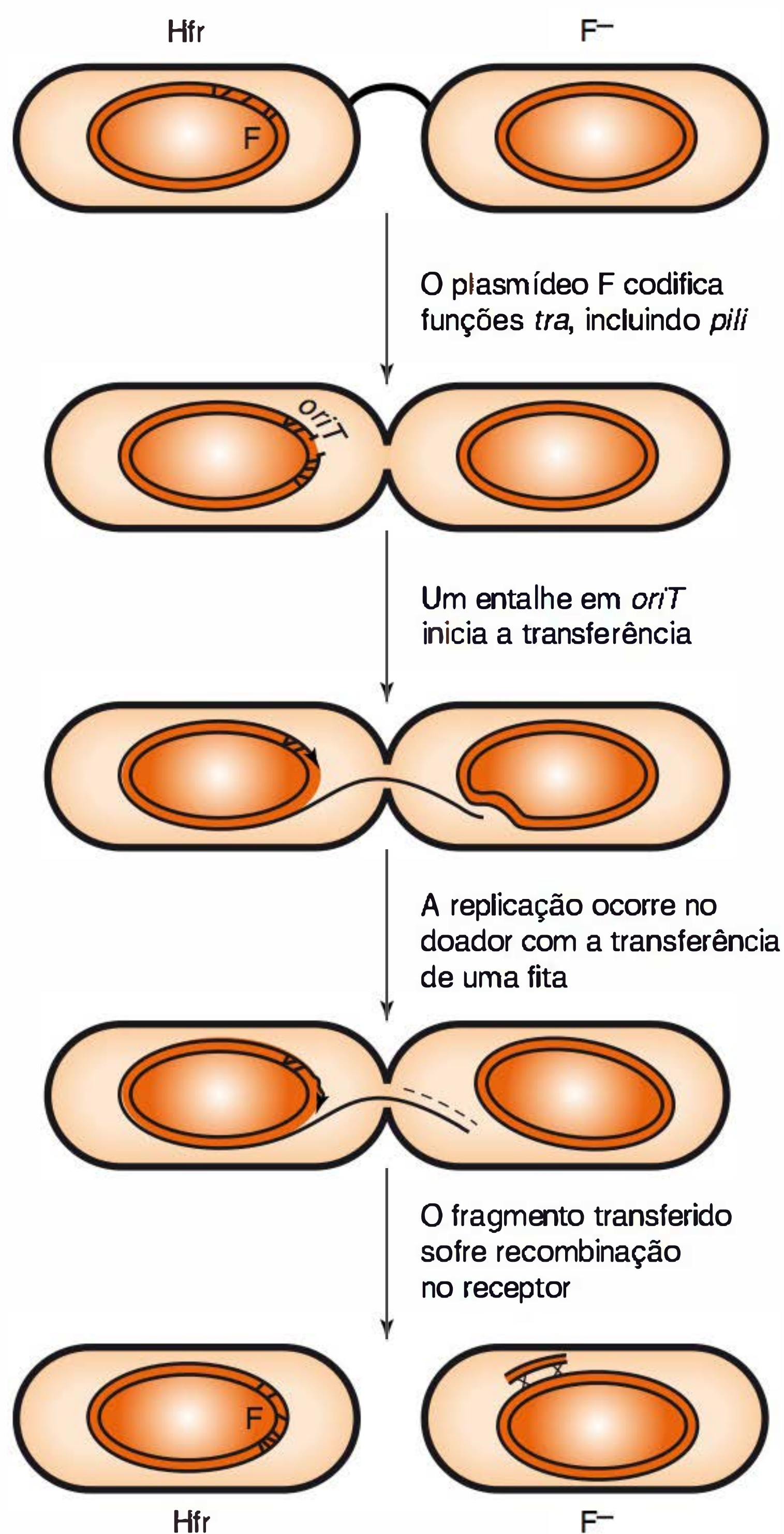


FIGURA 7.9 Transferência do DNA cromossômico por um plasmídeo integrado. A formação de pares acasalados, o entalhamento ou corte da sequência *oriT* de F e a transferência da extremidade 5' de uma fita simples de DNA do F prosseguem como na transferência do plasmídeo F. A transferência de um DNA cromossômico ligado covalentemente também ocorrerá enquanto o par acasalado for estável. A transferência cromossômica completa raramente ocorre, de modo que a célula receptora permanece F⁻ mesmo após o acasalamento. Em geral, a transferência do DNA é acompanhada de replicação no doador. Além disso, pode ocorrer alguma replicação da fita simples transferida. Uma vez no interior da célula receptora, o DNA transferido pode se recombinar com sequências homólogas no cromossomo receptor. (Redesenhada, com autorização, de Snyder L, Champness W: *Molecular Genetics of Bacteria*, Washington, DC: ASM Press 2nd ed. 2002.)

B. Transdução

A transdução é a recombinação genética mediada por fagos nas bactérias. Em termos mais simples, uma partícula transdutora pode ser considerada o ácido nucleico bacteriano em um envelope de fago. Mesmo uma população de fagos líticos pode conter algumas partículas nas quais o envelope do fago circunda o DNA proveniente da bactéria, e não do fago. Essas populações têm sido utilizadas para transferir genes de uma

bactéria para outra. Os fagos temperados são os veículos preferidos para a transferência de genes, visto que a infecção de bactérias receptoras em condições que favorecem a lisogenia minimiza a lise celular e, por isso, favorece a sobrevivência das cepas recombinantes. De fato, uma bactéria receptora, transportando um pró-fago apropriado, pode formar um repressor, tornando a célula imune a infecção lítica; tais células podem, ainda, captar o DNA bacteriano de partículas transdutoras. Em condições que favorecem o ciclo dos fagos líticos, é possível preparar misturas transdutoras transportando DNA do doador.

Em geral, o tamanho do DNA nas partículas transdutoras não ultrapassa certa porcentagem do cromossomo bacteriano, de modo que a **cotransdução** — transferência de mais de um gene de uma vez — limita-se aos genes bacterianos ligados. Esse processo é de grande valia no mapeamento dos genes situados muito próximos uns dos outros para serem colocados em ordem pelo método de transferência por conjugação.

As **ilhas de patogenicidade** são frequentemente transportadas por fagos. Por exemplo, dois fagos transportam ilhas de patogenicidade responsáveis pela conversão de uma forma benigna do *Vibrio cholerae* na forma patogênica responsável pela cólera epidêmica (ver Cap. 17). Esses fagos codificam genes para a toxina do cólera (responsável pelos sintomas) e dos *pili* bfp (*Bundle forming pili*) formadores de tufo responsáveis pela aderência.

A velocidade com que os fagos se combinam e se replicam fez com que eles se tornassem objeto central para o estudo desses processos, tendo surgido muitas generalizações acerca dos mecanismos subjacentes a partir da genética dos fagos. A capacidade dos fagos de efetuar rápidas réplicas de seu DNA torna-os valiosos para a engenharia genética. De especial valor são os fagos recombinantes elaborados por engenharia que contêm inserções de DNA de outras fontes biológicas. O DNA inserido pode ser replicado com a velocidade que caracteriza o DNA do fago e recuperado em uma forma útil para manipulação.

C. Transformação

A captação direta do DNA do doador por bactérias receptoras depende de sua **competência** para transformação. A competência natural dessa propriedade é pouco comum entre bactérias, sendo algumas dessas cepas passíveis de transformação apenas na presença de **fatores de competência** produzidos unicamente em um ponto específico do ciclo de crescimento. Outras cepas sofrem transformação natural facilmente, mostrando-se esses microrganismos promissores para a engenharia genética devido à facilidade com que incorporam o DNA modificado em seus cromossomos. Bactérias passíveis de transformação e naturalmente competentes são encontradas em diversos gêneros, como o *Bacillus subtilis*, *Haemophilus influenzae*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Neisseria meningitidis* e *Streptococcus pneumoniae*. Os fragmentos de DNA contendo genes desses microrganismos podem ser facilmente identificados com base na sua capacidade de transformar células mutantes no tipo selvagem. Tais técnicas representam um substancial avanço com relação aos procedimentos trabalhosos utilizados por Avery e seus colegas para demonstrar que o princípio de transformação do pneumococo era o DNA (ver Fig. 7.1).

A transformação genética é reconhecida como uma das forças principais na evolução microbiana. A transformação natural é um processo ativo que exige proteínas específicas produzidas pela célula receptora. Para *Neisseria* e espécies de *Haemophilus*, são necessárias sequências de DNA específicas (**sequências de captação**) para a captação do DNA. Essas sequências de captação são específicas da espécie, o que restringe a troca genética a uma única espécie. O DNA não incorporado pode ser degradado e usado como fonte de nutrientes de apoio ao crescimento microbiano.

As bactérias são, em sua maior parte, incapazes de sofrer transformação natural. Nesses casos, a transformação pode ser forçada mediante tratamento com cloreto de cálcio e choque térmico. A transformação com plasmídeos recombinantes, obtidos por engenharia genética por esse processo, constitui a pedra angular da biologia molecular moderna, visto que possibilita que o DNA de diversas fontes biológicas seja estabelecido como parte de réplicons bacterianos bem caracterizados.

MUTAÇÃO E REARRANJO DE GENES

Mutações espontâneas

Em geral, as mutações espontâneas para determinado gene em uma situação normal (gene selvagem) geralmente ocorrem a uma frequência de 10^{-6} a 10^{-8} em uma população proveniente de uma única bactéria (dependendo da espécie bacteriana e das condições usadas para identificar a mutação). As mutações consistem em **substituições, deleções, inserções e rearranjos de bases**. As substituições de bases podem surgir em decorrência do emparelhamento incorreto entre bases complementares durante a replicação. Em *E. coli*, esse processo ocorre cerca de uma vez a cada 10^{10} vezes em que o microrganismo incorpora um nucleotídeo; trata-se de um processo notavelmente raro. A ocorrência de bases não pareadas é minimizada por enzimas associadas ao **reparo de combinação imprópria**, mecanismo que essencialmente efetua a revisão de uma fita recém-sintetizada para assegurar que seja perfeitamente complementar ao seu molde. As enzimas de combinação imprópria distinguem a fita recém-sintetizada da fita preexistente com base na metilação da adenina nas sequências GATC da fita preexistente. Quando o dano ao DNA é grande, um sistema de reparo especial do DNA, a **resposta SOS**, recupera as células cujo DNA foi danificado. A resposta SOS é uma pós-replicação do sistema de reparo do DNA que possibilita que a replicação do DNA burle as lesões ou erros no DNA.

Muitas substituições de base escapam à detecção no nível fenotípico porque não alteram significativamente a função do produto gênico. Por exemplo, as **mutações de sentido errado (missense)**, que resultam na substituição de um aminoácido por outro, podem não ter efeito fenotípico discernível. As **mutações sem sentido (nonsense)** interrompem a síntese das proteínas e, por isso, resultam em uma proteína truncada no local da mutação. Os produtos gênicos das mutações sem sentido em geral são inativos.

Os **rearranjos** são o resultado de deleções que removem grandes porções ou mesmo grupos de genes. Essas grandes deleções envolvem recombinação entre sequências diretamente repetidas (p. ex., elementos de IS) e quase nunca sofrem

reversão. Outras mutações provocam a duplicação, frequentemente em série, de comprimentos comparáveis de DNA. Em geral, essas mutações são instáveis e reverterem facilmente. Outras mutações podem inverter sequências longas de DNA ou transferi-las para novos *loci*. Mapas genéticos comparativos de cepas bacterianas relacionadas têm mostrado que tais rearranjos podem ser fixados nas populações naturais. Essas observações apontam para o fato de que a separação linear de fragmentos de DNA não elimina por completo as possibilidades de interação física e química entre eles.

Mutágenos

A frequência de mutação é grandemente aumentada pela exposição das células a mutágenos. A luz ultravioleta é um **mutágeno físico** que danifica o DNA pela ligação de bases timinas vizinhas formando dímeros. Erros de sequência podem ser introduzidos durante o reparo enzimático desse dano genético. Os **mutágenos químicos** podem atuar ao alterar a estrutura química ou a estrutura física do DNA. As substâncias químicas reativas alteram a estrutura das bases no DNA. Por exemplo, o ácido nitroso (HNO_2) substitui grupos hidroxila por grupos amino. O DNA resultante apresenta atividade de modelo alterada durante os ciclos subsequentes de replicação. As **mutações por deslocamento** — introdução ou remoção de um único par de bases do DNA — são causadas por deslizamento leve das fitas de DNA, favorecido por exposição aos corantes de acridina (p. ex., laranja de acridina), que podem intercalarse entre as bases.

Em geral, os efeitos diretos dos mutágenos químicos ou físicos constituem danos ao DNA. As mutações resultantes são introduzidas pelo processo de replicação e escapam das enzimas descritas anteriormente. As mutações que modificam a atividade de replicação ou reparo dessas enzimas podem tornar uma bactéria mais suscetível a mutágenos biológicos, e são designadas como uma cepa mutadora.

Reversão e supressão

A recuperação de uma atividade perdida em consequência da mutação, denominada **reversão fenotípica**, pode ou não resultar da restauração da sequência original do DNA, como seria exigido pela **reversão genotípica**. Com frequência, uma mutação em um segundo *locus*, denominado **mutação supressora**, restaura a atividade perdida. Na **supressão intragênica**, após a mutação primária ter modificado a estrutura de uma enzima com a consequente perda de sua atividade, a ocorrência de uma segunda mutação em local diferente no gene da enzima restaura a estrutura necessária à atividade. A **supressão extragênica** é produzida por uma segunda mutação fora do gene originalmente afetado.

EXPRESSÃO GÊNICA

A enorme separação evolutiva observada entre os genomas eucarióticos e procarióticos é ilustrada quando se comparam seus mecanismos de expressão gênica, que compartilham somente um pequeno subgrupo de propriedades. Em ambos os grupos, a informação genética é codificada no DNA, transcrita

no RNAm e traduzida nos ribossomos pelo tRNA em estrutura de proteínas. Os códons de nucleotídeos triplos, utilizados na tradução, são, em geral, compartilhados, e muitas enzimas associadas à síntese das macromoléculas nos dois grupos biológicos exibem propriedades semelhantes. O mecanismo pelo qual a sequência de nucleotídeos, em determinado gene, estabelece a sequência de aminoácidos em uma proteína é muito similar em eucariotos e procariotos, como se segue:

1. A RNA polimerase forma uma única fita de polirribonucleotídeo, denominado RNA mensageiro (RNAm), utilizando o DNA como modelo; esse processo denomina-se **transcrição**. O RNAm possui uma sequência de nucleotídeos complementar a uma fita-modelo na dupla hélice de DNA (lido na direção de 3–5'). Desse modo, um RNAm é orientado na direção 5'–3'.
2. Os aminoácidos são ativados enzimaticamente e transferidos para moléculas adaptadoras específicas de RNA, denominadas RNA de transferência (RNAt). Cada molécula adaptadora possui uma tríade de bases (**anticódon**) complementar a uma tríade de bases no RNAm e, em uma das extremidades do seu aminoácido específico. A tríade de bases no RNAm é denominada **códon** para esse aminoácido.
3. O RNAm e o RNAt juntam-se na superfície do ribossomo. À medida que cada RNAt encontra sua tríade de nucleotídeos complementares no RNAm, o aminoácido que ele transporta é colocado em uma ligação peptídica com o aminoácido da molécula de RNAt anterior (vizinho). A enzima **peptidiltransferase** (na verdade, o RNA 23S, *i. e.*, uma **ribozima**) catalisa a formação da ligação peptídica. O ribossomo move-se ao longo do RNAm, com crescimento sequencial do polipeptídeo até que toda a molécula de RNAm tenha sido traduzida em uma sequência correspondente de aminoácidos. Esse processo, denominado **tradução**, é apresentado em forma de diagrama na Figura 7.10.

Em procariotos, genes associados a funções relacionadas estão normalmente agrupados em **óperons**. Uma vez que não há núcleo, a transcrição e a tradução são acopladas, o que significa que o RNAm produzido liga-se a um ribossomo e é traduzido ao mesmo tempo em que é transcrito. Esse sistema acoplado de transcrição e tradução possibilita uma resposta rápida a mudanças no ambiente. Da mesma forma, o RNAm é rapidamente revertido, passando a ter uma meia-vida da ordem de segundos a minutos.

Em eucariotos, esse tipo de agrupamento entre genes relacionados é incomum. As **sequências ativadoras** são regiões de DNA eucariótico que aumentam a transcrição, podendo estar localizadas a certa distância do gene transcrito. Os genes eucarióticos transportam **íntrons**, inserções de DNA que não são encontradas nos genes procarióticos. Os íntrons separam os **éxons**, isto é, as regiões de codificação dos genes eucarióticos. Os íntrons transcritos são removidos das transcrições eucarióticas durante o processamento do RNA por uma série de reações enzimáticas que ocorrem no núcleo. O RNAm dos eucariotos é poliadenilado no final 3', protegendo-o das exonucleases e podendo, dessa forma, atravessar a membrana nuclear para o citosol, onde os ribossomos estão localizados; nesse caso, a tradução é desacoplada da transcrição. Devido a essa poliadenilação, os RNAs eucarióticos possuem meia-vida da ordem de horas ou dias.

Os ribossomos eucarióticos e procarióticos diferem em muitos aspectos. Os ribossomos eucarióticos são maiores, apresentando coeficiente de sedimentação de 80S em comparação com o coeficiente de sedimentação de 70S dos ribossomos procarióticos. As subunidades ribossômicas 40S e 60S dos eucariotos são maiores do que as correspondentes subunidades ribossômicas 30S e 50S dos procariotos, e os ribossomos eucarióticos são relativamente ricos em proteína. Diferenças significativas são inerentes à sensibilidade das atividades ribossômicas aos antibióticos (p. ex., tetraciclina), muitos dos quais inibem seletivamente a síntese das proteínas no citoplasma procariótico, mas não no eucariótico (ver Cap. 9). Entretanto, é preciso lembrar que os ribossomos **mitocondriais** dos eucariotos assemelham-se aos dos procariotos.

Regulação da expressão gênica procariótica

Proteínas específicas, produtos de genes reguladores, determinam a expressão dos genes estruturais que codificam enzimas. A transcrição do DNA em RNAm começa no **promotor**, a sequência de DNA que se liga à RNA polimerase. O nível de expressão gênica é determinado pela capacidade do promotor de se ligar à polimerase, e a eficácia intrínseca dos promotores difere amplamente. Outros controles da expressão gênica são exercidos por proteínas reguladoras que podem se ligar a regiões do DNA próximas aos promotores.

Muitos genes estruturais procarióticos, que codificam uma série de reações metabólicas relacionadas, são agrupados em **óperons**. Essas séries contíguas de genes são expressas em forma de um único RNAm transcrito, e a expressão da transcrição pode ser regida por um único gene regulador. Por exemplo, cinco genes associados à biossíntese do triptofano estão agrupados no óperon *trp* da *E. coli*. A expressão gênica é regida por atenuação, conforme descrita adiante, e também é controlada por repressão. A ligação do aminoácido triptofano por uma **proteína repressora** fornece a este uma configuração que possibilita sua fixação ao **operador *trp***, uma curta sequência de DNA que ajuda a regular a expressão gênica. A ligação da proteína repressora ao operador impede a transcrição dos genes *trp*, uma vez que a bactéria percebe com essa ligação que já existe triptofano suficiente para seu metabolismo normal. A repressão pode ser encarada como um mecanismo de controle em curso, um enfoque tipo tudo-ou-nada para a regulação gênica. Essa forma de controle independe da atenuação, um mecanismo de sintonia fina que também é utilizado para determinar a expressão dos genes *trp*.

A **atenuação** é um mecanismo regulador de algumas rotas de biossíntese (p. ex., a via biossintética do triptofano) que controlam a eficiência da transcrição depois que ela tiver se iniciado mas antes que a síntese do RNAm dos genes do óperon ocorra, especialmente quando o produto final da via esteja estocado em pequena quantidade. Por exemplo, em condições normais de crescimento, a maior parte dos RNAm do *trp* transcritos termina antes de alcançarem os genes estruturais do óperon *trp*. Entretanto, durante os períodos de grave escassez de triptofano, o término prematuro da transcrição é abolido, possibilitando a expressão do óperon em níveis 10 vezes mais altos do que em condições normais. A explicação para este fenômeno baseia-se na sequência

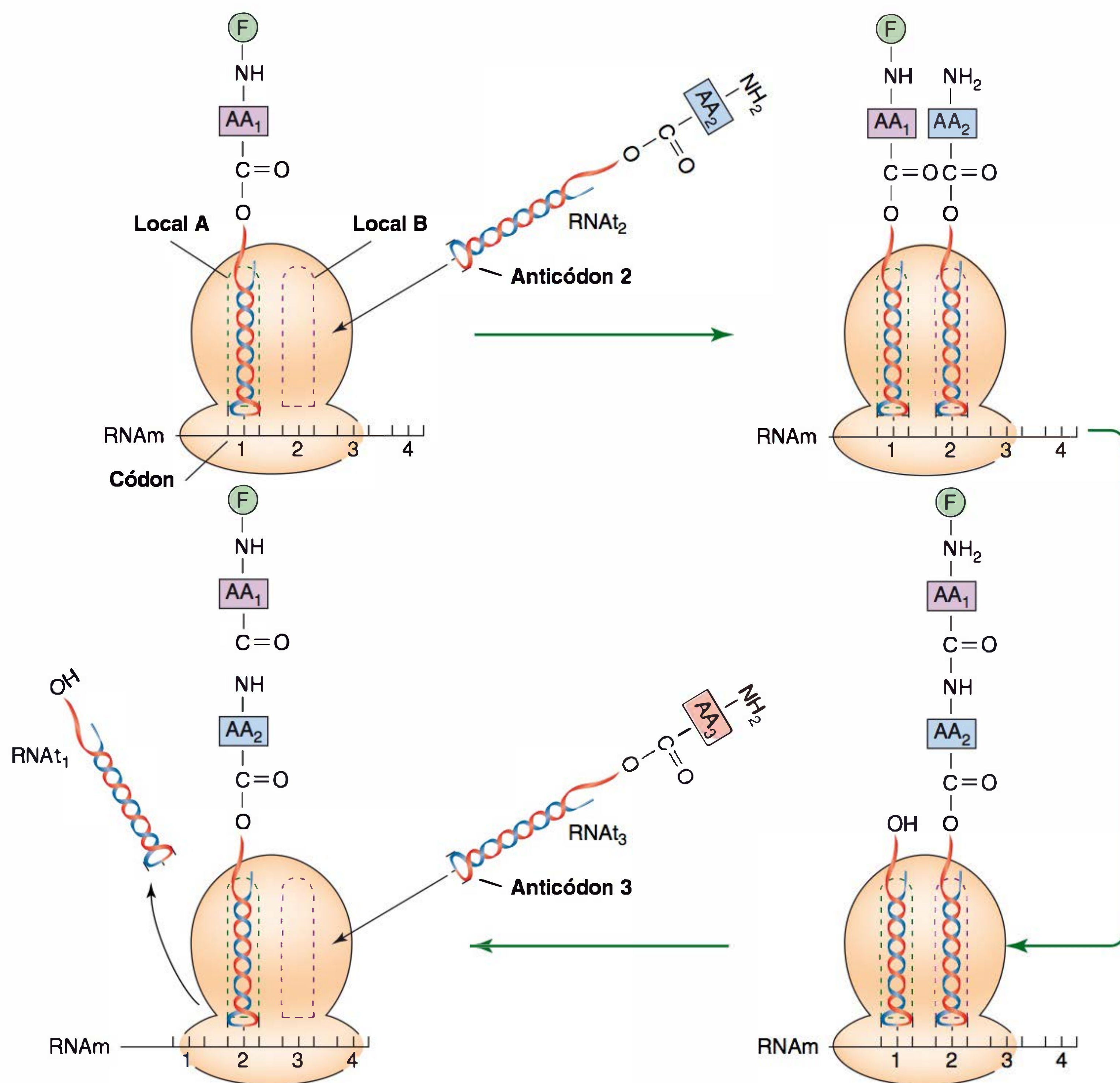


FIGURA 7.10 Quatro estágios no alongamento de uma cadeia polipeptídica sobre a superfície de um ribossomo 70S. **Em cima, à esquerda:** Molécula de RNAt transportando o anticódon complementar ao códon 1 em uma das extremidades e AA₁. Na outra, liga-se ao local A. AA₁ está ligado ao RNAt através do seu grupo carboxila; o nitrogênio amino apresenta um grupo formil (F). **Em cima, à direita:** Molécula de RNAt, transportando AA₂, liga-se ao local B; seu anticódon é complementar ao códon 2. **Embaixo, à direita:** Complexo enzimático catalisa a transferência de AA₁ para o grupo amino de AA₂, formando uma ligação peptídica. (Observe que a transferência na direção oposta é bloqueada pela formação prévia do grupo amino de AA₁.) **Embaixo, à esquerda:** O ribossomo move-se para a direita, a fim de que os locais A e B fiquem agora opostos aos códons 2 e 3; no processo, o RNAt₁ é deslocado, e o RNAt₂ move-se para o local A. O local B novamente está desocupado e pronto para aceitar o RNAt₃ transportando AA₃. (Quando o peptídeo se encontra completo e é liberado, o grupo formil é removido enzimaticamente.) (Redesenhada e reproduzida, com autorização, de Stanier RY, Doudoroff M, Adelberg EA: *The Microbial World*, 3rd ed. Copyright © 1970. Prentice-Hall, Inc., Englewood Cliffs, NJ.)

regulatória de 162 pb, situada à frente dos genes estruturais *trp* (Fig. 7.11), conhecidos como **sequência-líder** ou *trpL*. A sequência-líder *trp* pode ser transcrita no RNAm e traduzida subsequentemente em um polipeptídeo de 14 aminoácidos com dois resíduos de triptofano adjacentes, uma ocorrência muito rara. No final do *trpL* e posterior aos sinais regulatórios que controlam a tradução dos genes estruturais *trp*, encontra-se um **terminador Rho-independente**. A sequência do DNA dessa região sugere que o RNAm codificado tem alta probabilidade de formar **estruturas secundárias em forma de alça**, nomeadas **alça de pausa** (1:2), **alça de terminação** (3:4) e **alça de antiterminação** (2:3). A atenuação do operon *trp* usa a

estrutura secundária do RNAm para sentir a quantidade de triptofano na célula (como RNAt-*trp*), conforme o modelo mostrado na Figura 7.11.

A prevenção da transcrição por uma proteína repressora é denominada **controle negativo**. A forma oposta de regulação da transcrição — a iniciação da transcrição em resposta à ligação de uma **proteína ativadora** — chama-se **controle positivo**. Ambas as formas de controle são exercidas sobre a expressão do operon *lac*, genes associados à fermentação da lactose na *E. coli*. O operon contém três genes estruturais. O transporte de lactose para o interior da célula é mediado pelo produto do gene *lacY*. A β-galactosidase, a enzima que hidrolisa a lactose

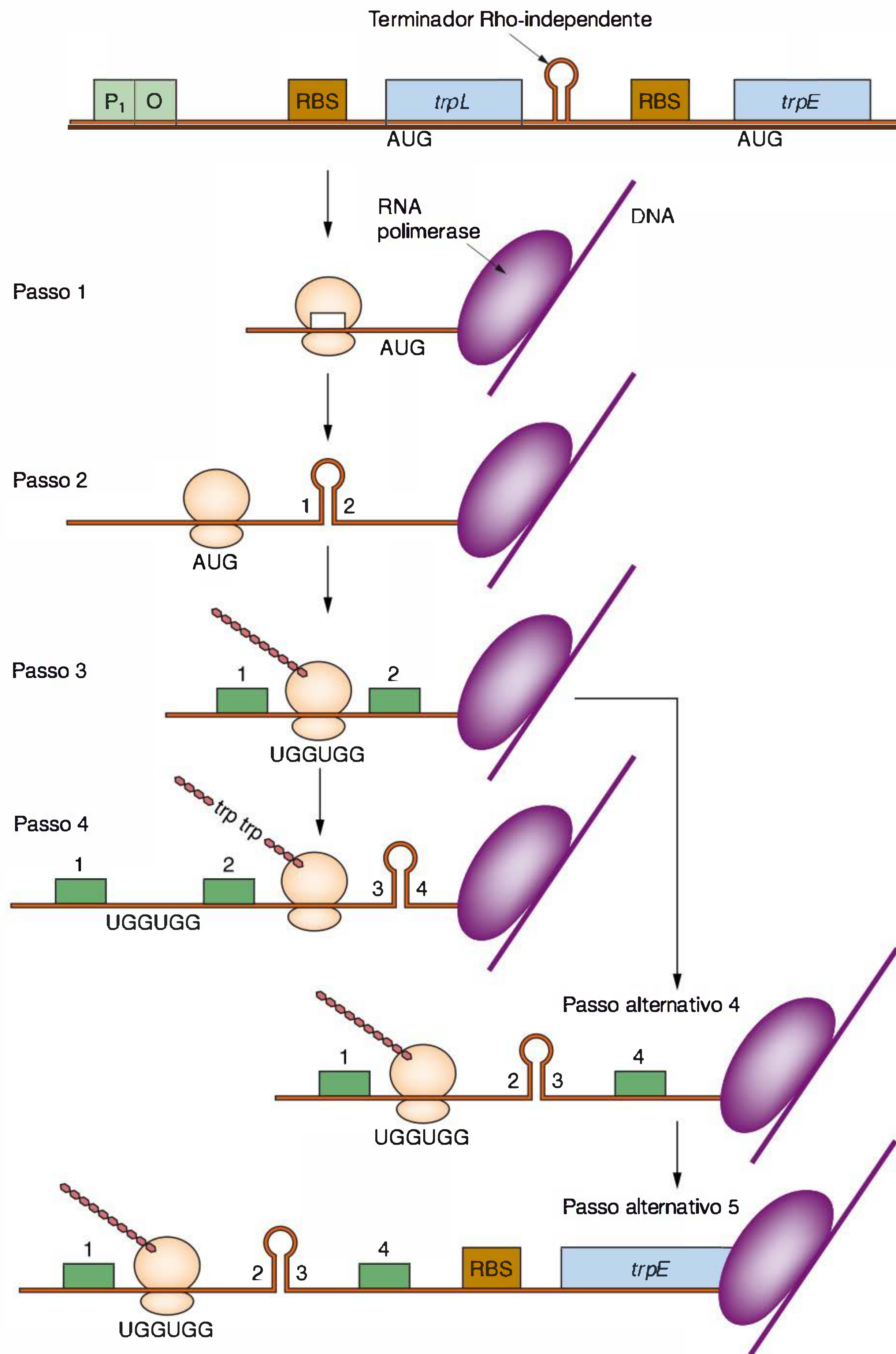


FIGURA 7.11 Predições do modelo de atenuação. (*Passo 1*) A transcrição/tradução ocorre como para qualquer gene bacteriano. (*Passo 2*) A RNA polimerase para, e ocorre a formação de uma alça na posição 1:2. (*Passo 3*) Interrupção do ribossomo na alça 1:2 e encontro de dois códons *trp*. (*Passo 4*) Se existe triptofano em quantidade suficiente, os RNAt-*trp* correspondentes serão apresentados, e os ribossomos irão traduzir *trpL*. Isso levará a uma parada da RNA polimerase no terminador Rho-independente, composto por uma alça em 3:4. (*Passo alternativo 4*) Se o triptofano é limitante (ausência de RNAt-*trp*), o ribossomo para em dois códons *trp*, enquanto a RNA polimerase continua. Forma-se uma alça na posição 2:3. (*Passo alternativo 5*) O terminador 3:4 pode não se formar, e a RNA polimerase continua a transcrição dos genes estruturais *trp*. Isso expõe o local de ligação do ribossomo (RBS) acima de *trpE*, possibilitando a tradução. (Reproduzida, com autorização, de Trun N, Trempey J: *Fundamental Bacterial Genetics*. Blackwell Science Ltd., 2004.)

em galactose e glicose, é codificada pelo gene *lacZ*. O produto do terceiro gene (*lacA*) é uma transacetilase, cuja função fisiológica ainda não foi claramente elucidada.

Como subproduto de sua função normal, a β -galactosidase produz alolactose, um isômero estrutural da lactose. A própria

lactose não influi na regulação transcricional; em vez disso, essa função é exercida pela alolactose, o **indutor** do operon *lac*, uma vez que é o metabólito que evoca mais diretamente a expressão gênica. Na ausência de alolactose, o repressor *lac*, um produto do gene *lacI* controlado independentemente, exerce

controle negativo sobre a transcrição do óperon *lac* ao ligar-se ao operador *lac*. Na presença do indutor, o repressor é liberado do operador, e ocorre a transcrição.

A expressão do óperon *lac* e de muitos outros óperons associados à geração de energia é intensificada pela ligação da **proteína de ligação do AMP cíclico** (CAP, na sigla em inglês) a uma sequência específica do DNA situada próximo ao promotor do óperon regulado. A proteína exerce controle positivo pelo aumento da atividade da RNA polimerase. O metabólito que desencadeia o controle positivo pela ligação à CAP é o 3',5'-AMP cíclico (AMPc). Esse composto, formado em células privadas de energia, atua através da CAP para aumentar a expressão das enzimas catabólicas que produzem energia metabólica.

O AMP cíclico não é o único na sua capacidade de exercer controle sobre os genes não ligados na *E. coli*. Vários genes diferentes respondem ao nucleotídeo ppGpp (em que “p” denota fosfodiéster, e “G”, guanina) como um sinal de escassez de aminoácidos, e os genes não ligados são expressos como parte da resposta SOS ao dano ao DNA. Outro conjunto de genes não ligados também atua na resposta ao choque térmico.

ENGENHARIA GENÉTICA

A engenharia é a aplicação da ciência às necessidades sociais. Nas últimas quatro décadas, a engenharia baseada na genética bacteriana transformou a biologia. É possível isolar e amplificar fragmentos específicos de DNA, e seus genes podem ser expressos em altos níveis. A especificidade de nucleotídeos necessária à clivagem por enzimas de restrição possibilita a ligação (ou incorporação) de fragmentos que contenham genes ou partes de genes em plasmídeos (“vetores”), que podem, por sua vez, ser usados para transformar células bacterianas. As colônias bacterianas, ou **clones** que transportam genes específicos, podem ser identificadas por **hibridização** do DNA ou do RNA com **sondas** marcadas (semelhante ao que se vê na Fig. 3.4). Ou então, os produtos proteicos codificados pelos genes podem ser reconhecidos pela atividade enzimática ou por meio de técnicas imunológicas. Estes últimos procedimentos têm sido facilitados pela notável seletividade com que os **anticorpos monoclonais** (Cap. 8) se ligam a determinantes antigênicos específicos nas proteínas. Assim, as técnicas de engenharia genética podem ser utilizadas para isolar praticamente qualquer gene, e muitos deles podem ser expressos como uma propriedade reconhecível bioquimicamente, que pode ser estudada ou explorada.

Os genes isolados podem ser utilizados para uma variedade de propósitos. A **mutagênese sítio-dirigida** para o local pode identificar e alterar a sequência do DNA de um gene. Em seguida, resíduos de nucleotídeos essenciais à função do gene podem ser determinados e, se for desejável, alterados. Pelas técnicas de hibridização, o DNA pode ser utilizado como sonda para reconhecer os ácidos nucleicos correspondentes à sequência complementar de seu próprio DNA. Por exemplo, um vírus latente em um tecido animal pode ser detectado com uma sonda de DNA, mesmo na ausência de uma infecção viral evidente. Os produtos proteicos de genes virais isolados mostram-se muito promissores para uso como vacinas, visto que podem ser preparados sem os genes que codificam a

replicação do ácido nucleico viral. Além disso, certas proteínas que desempenham funções úteis, como a insulina, podem ser preparadas em grandes quantidades a partir de bactérias que expressam genes clonados.

Preparação de fragmentos de DNA com enzimas de restrição

A diversidade genética das bactérias reflete-se na sua extensa variedade de **enzimas de restrição** disponíveis, que exibem considerável seletividade, que possibilita o reconhecimento de regiões específicas do DNA para clivagem. As sequências de DNA reconhecidas pelas enzimas de restrição são predominantemente palindrômicas (repetições de sequências invertidas). Uma sequência palindrômica típica, reconhecida pela enzima de restrição frequentemente utilizada *EcoRI*, é GAATTC; a repetição invertida, inerente à complementaridade dos pares de bases G-C e A-T, resulta na sequência 5' TTC, refletida como AAG na fita 3'.

O comprimento dos fragmentos de DNA produzidos por enzimas de restrição varia enormemente, devido à individualidade das sequências de DNA. O comprimento médio do fragmento de DNA é determinado, em grande parte, pelo número de bases específicas reconhecidas por uma enzima. As enzimas de restrição reconhecem, em sua maioria, 4, 6 ou 8 sequências de bases; entretanto, outras enzimas de restrição reconhecem 10, 11, 12 ou 15 sequências de bases. O reconhecimento de quatro bases produz fragmentos com comprimento médio de 250 pares de bases (pb) e, por conseguinte, é geralmente útil para a análise ou manipulação de fragmentos de genes. Genes completos são frequentemente abrangidos por enzimas de restrição que reconhecem 6 bases e produzem fragmentos com tamanho médio de cerca de 4 kbp. As enzimas de restrição que reconhecem 8 bases produzem fragmentos com tamanho típico de 64 kbp e mostraram-se úteis para a análise de grandes regiões genéticas. As enzimas de restrição que reconhecem mais de 10 bases são úteis à construção de um mapa físico e tipagem molecular por eletroforese em gel em campo pulsado (Pulsed-Field Gel Electrophoresis — PFGE).

Separação física de fragmentos de DNA de diferentes tamanhos

Grande parte da simplicidade subjacente às técnicas de engenharia genética reside no fato de que a **eletroforese em gel** possibilita a separação de fragmentos de DNA de acordo com seu tamanho (Fig. 7.12): quanto menor o fragmento, mais rápida a velocidade de sua migração. A velocidade global de migração e a faixa de tamanho ótima para separação são determinadas pela natureza química do gel e pela quantidade de ligações cruzadas. Os géis com grande quantidade de ligações cruzadas otimizam a separação de pequenos fragmentos de DNA. O corante **brômeto de etídio** forma um complexo fluorescente brilhante ao ligar-se ao DNA, possibilitando que pequenas quantidades de fragmentos separados de DNA possam ser visualizadas nos géis (Fig. 7.12A). Fragmentos específicos de DNA podem ser reconhecidos pelo uso de sondas contendo sequências complementares (Figs. 7.12B e C).

A **eletroforese em gel em campo pulsado** possibilita a separação de fragmentos de DNA contendo até 100 kbp que

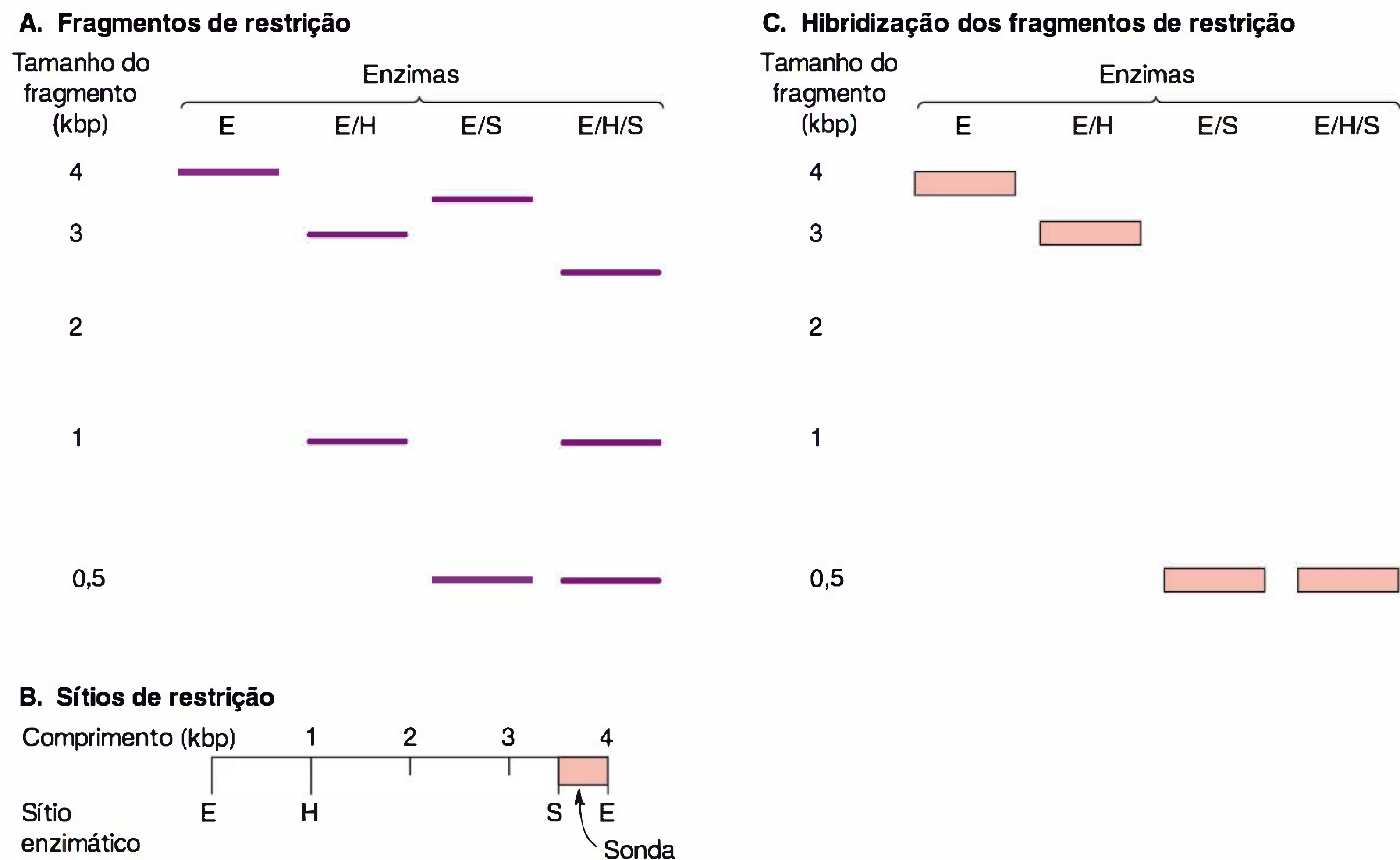


FIGURA 7.12 (A). Separação de fragmentos de DNA, com base no seu tamanho, por eletroforese em gel. Os fragmentos menores migram mais rapidamente que os fragmentos grandes, e, dentro de uma faixa determinada pelas propriedades do gel, a distância de migração é aproximadamente proporcional ao logaritmo do tamanho do fragmento. Os fragmentos de DNA podem ser visualizados com base na sua fluorescência após coloração. (B) O tamanho dos fragmentos de restrição é determinado pelo espaço onde ficam os locais de restrição no DNA. Neste exemplo, um fragmento de 4,0 quilobases de pares (kbp), formado pela enzima de restrição *EcoRI* (E), contém sítios para as enzimas de restrição *HindIII* (H) e *SmaI* (S), em posições que correspondem a 1,0 e 3,5 kbp. O modelo eletroforético em A revela que a enzima de restrição E não corta o fragmento de 4,0 kbp (primeira coluna); a clivagem com a enzima de restrição H produz fragmentos de 3,0 a 1,0 kbp (segunda coluna); a clivagem com a enzima de restrição S produz fragmentos de 3,5 a 0,5 kbp (terceira coluna); a clivagem com H e S forma fragmentos de 2,5 1,0 e 0,5 kbp (quarta coluna). O fragmento de 0,5 kbp, situado entre os locais S e E, foi selecionado como sonda para determinar o DNA com sequências de hibridização (conforme ilustrado em C). (C) Identificação de fragmentos hibridizados. Os fragmentos de restrição foram separados como em A. O procedimento de hibridização revela os fragmentos que hibridizaram com a sonda de 0,5 kbp e inclui o fragmento de 4,0 kbp, formado pela enzima de restrição E, o fragmento de 3,0 kbp situado entre os locais E e H, bem como o fragmento de 0,5 kbp, situado entre os locais S e H.

são separados em géis de poliacrilamida de alta resolução. A caracterização desses fragmentos grandes possibilitou a construção de um mapa físico para os cromossomos a partir de várias espécies bacterianas e tem sido inestimável na tipagem de isolados bacterianos associados a surtos de doenças infecciosas.

Clonagem dos fragmentos de restrição do DNA

Muitas enzimas de restrição clivam assimetricamente o DNA, produzindo fragmentos com **extremidades coesivas (aderentes)** que podem hibridizar entre si. Esse DNA pode ser utilizado como doador com receptores de plasmídeos para formar plasmídeos recombinantes geneticamente modificados. Por exemplo, a clivagem do DNA com *EcoRI* produz DNA contendo a sequência final 5' AATT e sequência final 3' complementar TTAA (Fig. 7.13). A clivagem de um plasmídeo (porção circular de DNA) com a mesma enzima de restrição produz um fragmento linear com extremidades coesivas idênticas entre si. A remoção enzimática dos grupos fosfato livres dessas

extremidades assegura que eles não serão ligados para formar o plasmídeo circular original. A ligação na presença de outros fragmentos de DNA contendo grupos fosfato livres produz **plasmídeos recombinantes**, que contêm fragmentos de DNA como inserções no DNA circular fechado por ligações covalentes. Os plasmídeos devem encontrar-se na forma circular para sofrer replicação em um hospedeiro bacteriano.

Os plasmídeos recombinantes podem ser introduzidos em um hospedeiro bacteriano, frequentemente a *E. coli*, por transformação. Alternativamente, a **eletroporação** é um processo desenvolvido para a introdução do DNA em bactérias, com o uso de um gradiente elétrico. As células transformadas podem ser selecionadas com base em um ou mais fatores de resistência a fármacos codificados por genes do plasmídeo. A população bacteriana resultante contém uma **biblioteca** de plasmídeos recombinantes contendo vários fragmentos de restrição inseridos clonados, derivados do DNA doador. Técnicas de hibridização podem ser utilizadas para identificar colônias bacterianas contendo fragmentos específicos de DNA, ou, se o plasmídeo expressa o gene inserido, as colônias podem ser verificadas quanto ao produto gênico (Fig. 7.14).

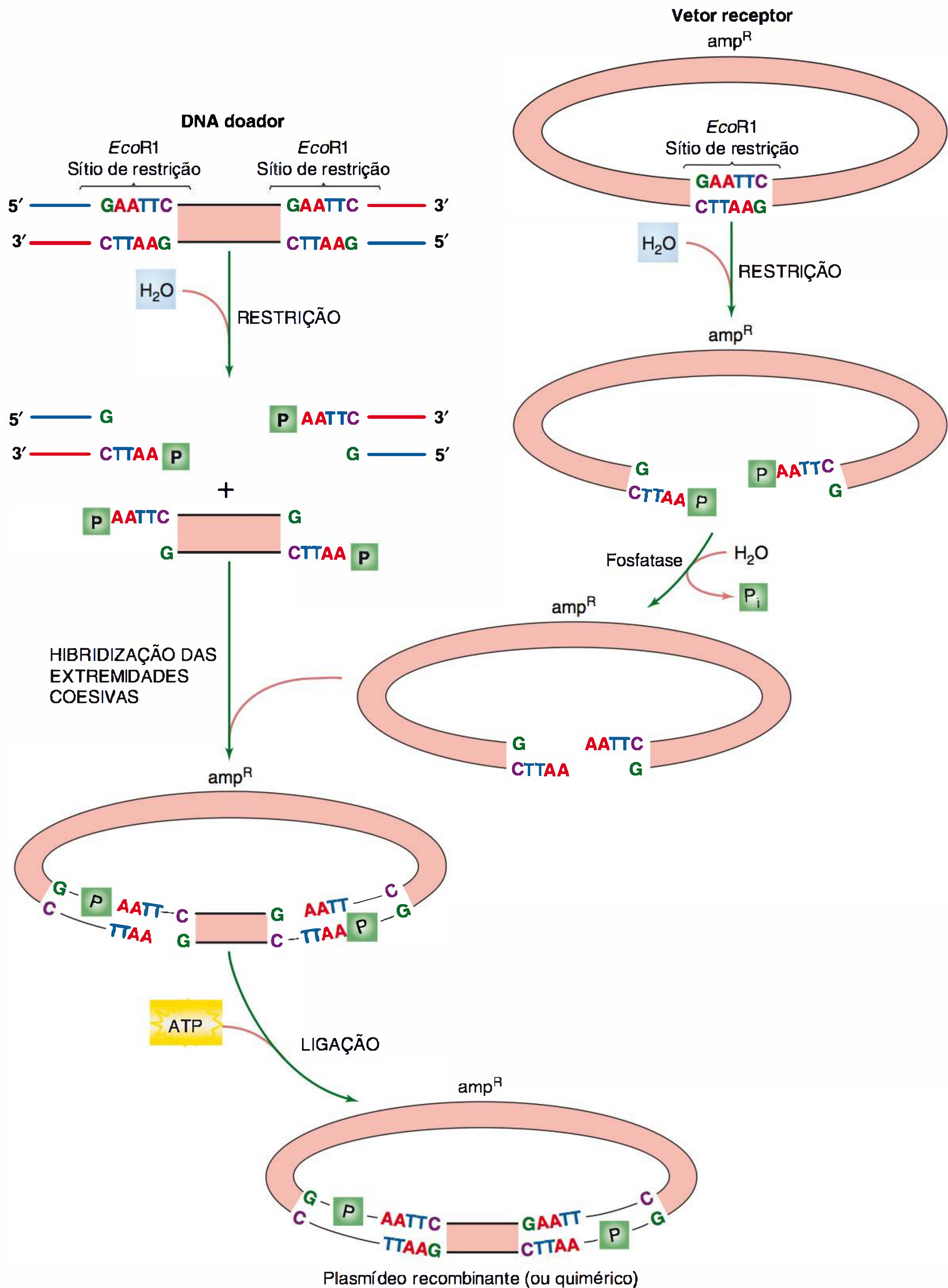


FIGURA 7.13 Formação de um plasmídeo recombinante ou quimérico a partir do DNA de doador e de um vetor receptor. O vetor, um plasmídeo que transporta um local de restrição *EcoRI*, é clivado pela enzima e preparado para ligação pela remoção dos grupos fosfato terminais. Essa etapa impede a ligação das extremidades coesivas do plasmídeo na ausência de uma inserção. O DNA do doador é tratado com a mesma enzima de restrição, e formam-se círculos fechados por ligações covalentes. Pode-se utilizar um marcador de resistência a fármacos, indicado por amp^R no plasmídeo, para se selecionarem os plasmídeos recombinantes após sua transformação dentro da *Escherichia coli*. As enzimas da bactéria hospedeira completam a ligação covalente do DNA circular e intermedeiam sua replicação.

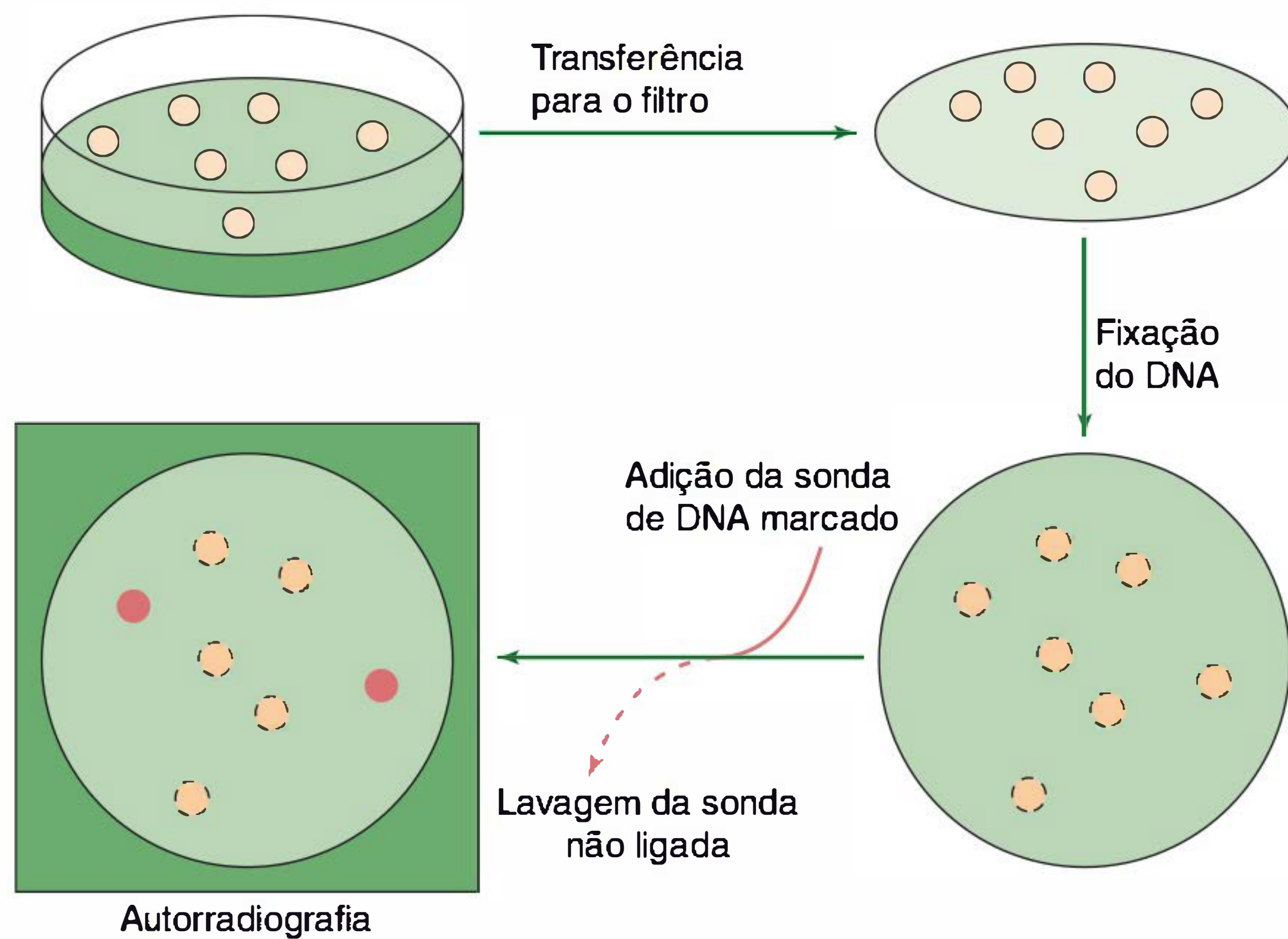


FIGURA 7.14 Uso de sondas para a identificação de clones que contenham um fragmento específico de DNA. As colônias podem ser transferidas para um filtro e tratadas para que as células sofram lise e o DNA possa ser aderido ao filtro. Em seguida, o filtro pode ser tratado com uma solução contendo uma sonda de DNA adequadamente marcada, a qual hibridiza especificamente com os clones desejados. A autorradiografia subsequente do filtro identifica esses clones (círculos escuros). Como alternativa, pode-se efetuar uma sondagem dos clones com anticorpos para determinar se sintetizaram um produto proteico específico.

CARACTERIZAÇÃO DO DNA CLONADO

Mapeamento de restrição

A manipulação do DNA clonado exige o conhecimento da sequência dos ácidos nucleicos. A preparação de um **mapa de restrição** constitui a primeira etapa para se adquirir esse conhecimento. Um mapa de restrição é construído, de modo muito semelhante a um quebra-cabeça, a partir de fragmentos produzidos por **digestões únicas**, as quais são preparadas com enzimas de restrição individuais, e por **digestões duplas**, obtidas com pares de enzimas de restrição. Os mapas de restrição também constituem a etapa inicial para o sequenciamento do DNA, uma vez que identificam fragmentos que fornecerão **subclones** (fragmentos relativamente pequenos de DNA) que podem ser objeto de análise mais rigorosa, podendo envolver o sequenciamento do DNA. Além disso, os mapas de restrição fornecem informações básicas altamente específicas que possibilitam que fragmentos de DNA, identificados em função do seu tamanho, sejam associados a funções gênicas específicas.

Sequenciamento do DNA

O sequenciamento do DNA exhibe a estrutura dos genes, possibilitando aos pesquisadores deduzir a sequência de aminoácidos dos produtos gênicos. Tal informação possibilita a manipulação dos genes para compreensão ou alteração de suas funções. Além disso, a análise da sequência do DNA revela regiões reguladoras que controlam a expressão gênica e “pontos quentes” (*hot-spots*) genéticos particularmente suscetíveis à mutação. A comparação das sequências do DNA revela relações evolutivas que formam uma base para a classificação não ambígua dos

microrganismos e vírus. Essas comparações podem facilitar a identificação de regiões conservadas, que podem ser especialmente úteis como sondas de hibridização específicas na detecção dos microrganismos ou vírus em amostras clínicas.

Os dois métodos geralmente empregados na determinação da sequência do DNA são a **técnica de Maxam-Gilbert**, que se baseia na suscetibilidade química relativa de diferentes ligações nucleotídicas, e o **método de Sanger (terminação didesoxi)**, que interrompe o alongamento das sequências do DNA pela incorporação de didesoxinucleotídeos nas sequências. Ambas as técnicas produzem um conjunto de oligonucleotídeos que se iniciam a partir de uma única origem e acarretam a separação sobre um gel de sequenciamento de fitas de DNA, diferenciando-se entre si pelo aumento de um único nucleotídeo. O gel de sequenciamento (poliacrilamida) separa as fitas que diferem no seu comprimento a partir de uma a algumas centenas de nucleotídeos e revela sequências de DNA de comprimento variável.

Quatro colunas paralelas no mesmo gel revelam o comprimento relativo do filamento ou fitas submetidos à interrupção didesoxi na adenina, na citidina, na guanidina e na timidina. A comparação das quatro colunas contendo misturas de reação que diferem apenas no método de interrupção da cadeia possibilita que se determine a sequência do DNA pelo método de Sanger (Fig. 7.15). A relativa simplicidade do método de Sanger levou a seu uso mais generalizado; entretanto, a técnica de Maxam-Gilbert é amplamente utilizada, uma vez que pode expor regiões do DNA protegidas por proteínas de ligação específicas contra modificações químicas.

A determinação da sequência do DNA é enormemente facilitada pela manipulação genética do bacteriófago M13 da *E. coli*, que contém DNA de fita simples. A forma replicativa do DNA do fago consiste em um círculo fechado por ligações

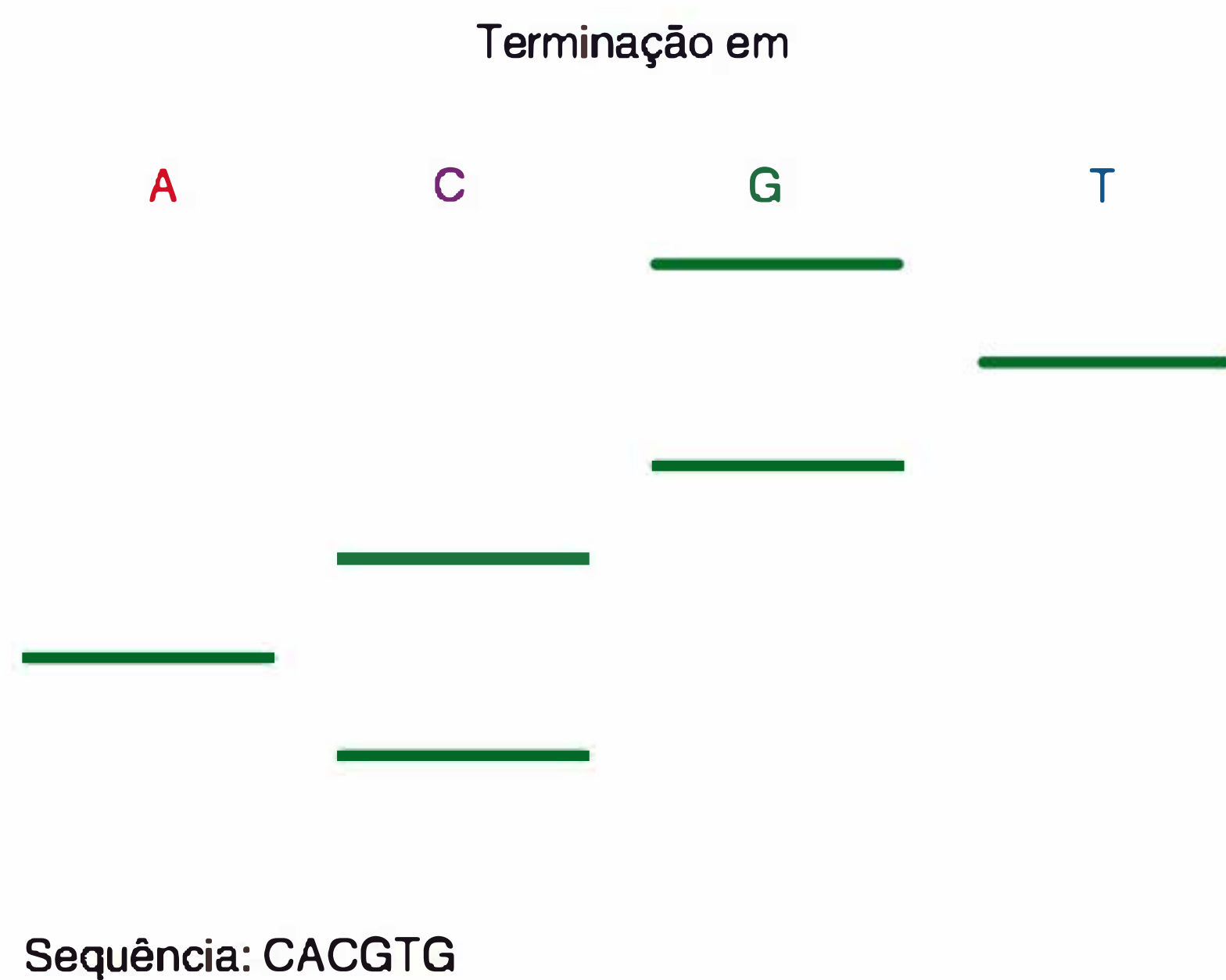


FIGURA 7.15 Determinação de uma sequência de DNA pelo método de Sanger (terminadores de cadeia ou método didesoxi). O alongamento enzimático do DNA é interrompido pela inclusão de análogos didesoxi dos trinucleotídeos correspondentes a A, C, G e T separadamente, em misturas de reações paralelas. Os grupos resultantes de filamento alongados interrompidos são separados sob um gel de sequenciamento, e a sequência pode ser deduzida por observação da base correspondente a cada aumento do comprimento da cadeia. O gel de sequenciamento é lido a partir da extremidade superior; cada banda corresponde ao aumento de uma base.

covalentes do DNA de fita dupla manipulado por engenharia genética para conter um local de clonagem múltipla que permite a integração de fragmentos específicos de DNA previamente identificados por mapeamento de restrição. As bactérias infectadas com a forma replicativa secretam fagos modificados que contêm, no interior de seu revestimento proteico, DNA de fita simples que inclui a sequência inserida. Esse DNA serve de **molde** para as reações de alongamento. A origem do alongamento é determinada por um **primer** (sequência iniciadora) de DNA, que pode ser sintetizado por máquinas altamente automatizadas para a **síntese química dos oligonucleotídeos**. Essas máquinas, que são capazes de produzir fitas de DNA contendo 75 ou mais oligonucleotídeos em uma sequência predeterminada, são essenciais para determinar o sequenciamento e para modificação do DNA por mutagênese sítio-dirigida.

Os oligonucleotídeos quimicamente sintetizados podem servir como *primers* para a PCR, procedimento que possibilita a amplificação e o sequenciamento do DNA situado entre os *primers*. Por isso, em muitos casos o DNA não precisa ser clonado para ser sequenciado ou ficar disponível para engenharia genética.

O estudo da biologia foi radicalmente modificado pelo desenvolvimento da tecnologia que possibilita a determinação da sequência e a análise de genomas completos, desde os de vírus, microrganismos procarióticos unicelulares e eucarióticos até os de seres humanos. Isso tem sido facilitado pelo procedimento conhecido como **tiro de espingarda** (*shotgunning*), em que o DNA é rompido em fragmentos aleatórios menores para se criar uma “biblioteca” de fragmentos. Esses fragmentos desordenados têm a sua sequência determinada por sequenciadores de DNA automáticos, e são reunidos na ordem correta pelo uso de um poderoso *software*. Um número suficiente de

fragmentos é sequenciado para assegurar uma cobertura adequada do genoma, de modo que, quando forem reunidos, a maior parte do genoma esteja representada sem que haja um número excessivo de lacunas. (Para obter isso, o genoma completo é coberto 5 a 8 vezes, deixando cerca de 0,1% do DNA total sem sequenciamento.) Depois que os fragmentos aleatórios são reunidos por áreas de sequência superpostas, as lacunas remanescentes podem ser identificadas e fechadas. Um avançado processamento dos dados permite a anotação dos dados da sequência, em que supostas regiões de codificação, óperons e sequências reguladoras são identificados. Até o momento, foram sequenciados os genomas de vários microrganismos importantes. A análise contínua dos dados das sequências obtidas a partir de patógenos humanos importantes, combinada com estudos de patogênese molecular, facilitará nossa compreensão de como esses microrganismos causam doenças e, em última instância, possibilitará o desenvolvimento de vacinas e melhores estratégias terapêuticas.

MUTAGÊNESE SÍTIO-DIRIGIDA

A síntese química dos oligonucleotídeos permite aos pesquisadores efetuar a introdução controlada de substituições de bases em uma sequência de DNA. A substituição específica pode ser utilizada para explorar o efeito de uma mutação predeterminada sobre a expressão do gene, examinar a contribuição de um aminoácido substituído na função das proteínas ou — com base em informações prévias sobre resíduos essenciais para função — inativar um gene. Os oligonucleotídeos de fitas simples que contêm a mutação específica são sintetizados quimicamente e hibridizados com DNA de bacteriófago de fita simples, a qual transporta a sequência do tipo selvagem em forma de inserção (Fig. 7.16). O DNA de fita dupla parcialmente resultante é convertido enzimaticamente na forma replicativa de filamento duplo ou fita dupla. Esse DNA, que contém a sequência do tipo selvagem em uma das fitas e a sequência mutante na outra, é utilizado para infectar um hospedeiro bacteriano por transformação. A replicação resulta em segregação do DNA do tipo selvagem e mutante, e o gene mutante de fita dupla pode ser isolado e subsequentemente clonado a partir da forma replicativa do fago.

ANÁLISE COM DNA CLONADO: SONDAS DE HIBRIDIZAÇÃO

As sondas de hibridização (*Southern blotting*, Fig. 3.4) são utilizadas rotineiramente na clonagem do DNA. A sequência dos aminoácidos de uma proteína pode ser utilizada para se deduzir a sequência do DNA, a partir da qual uma sonda pode ser construída e empregada para detectar uma colônia bacteriana contendo o gene clonado. O **DNA complementar**, ou **DNAc**, codificado pelo RNAm, pode ser utilizado para detectar o gene que codificou esse RNAm. A hibridização do DNA em RNA por **Northern blots** pode fornecer informações quantitativas sobre a síntese do RNA. Sequências específicas de DNA nos fragmentos de restrição separados sobre géis podem ser reveladas por **Southern blots**, método que utiliza a hibridização do DNA em DNA. Tais manchas (*blots*) podem ser empregadas para a detecção de fragmentos de restrição superpostos. A clonagem desses

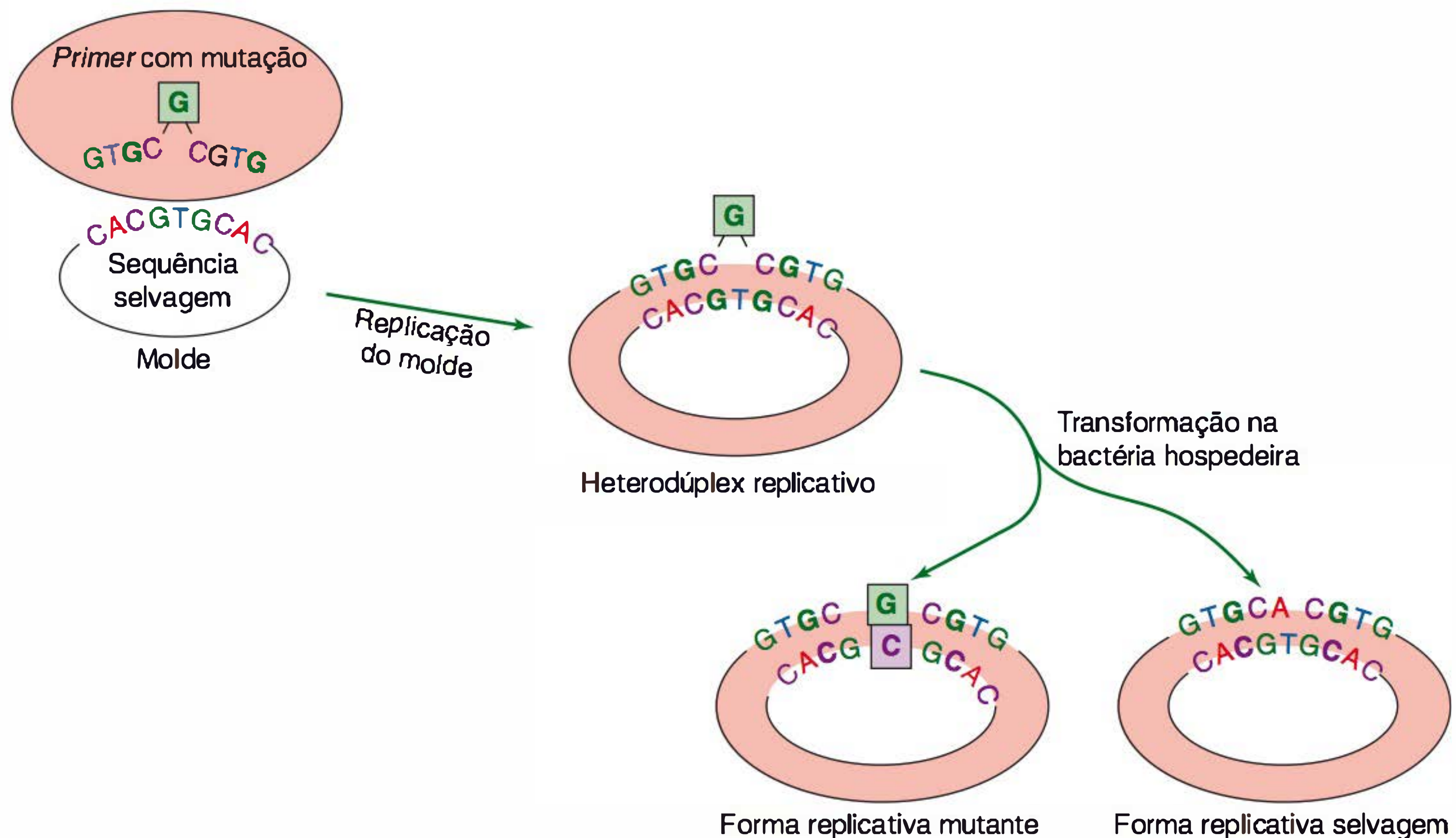


FIGURA 7.16 Mutagênese sítio-dirigida. Um *primer* quimicamente sintetizado, contendo a mutação G (no quadrado), é hibridizado com uma sequência do tipo selvagem inserida no DNA de um fago de fita simples. Reações de polimerização são utilizadas para formar o heterodúplex de fita dupla, transportando a mutação em uma das fitas. A introdução do heterodúplex em uma bactéria hospedeira, seguida de segregação, produz cepas de derivação que transportam formas replicativas com a inserção do tipo selvagem ou uma inserção que adquiriu a mutação quimicamente produzida.

fragmentos possibilita o isolamento de regiões flangeadoras de DNA por uma técnica conhecida como **migração cromossômica**. Com o **Western blot**, outra técnica de detecção utilizada com frequência, anticorpos são usados para detectar genes clonados pela ligação a seus produtos proteicos.

As sondas podem ser utilizadas em uma ampla variedade de procedimentos analíticos. Algumas regiões do DNA humano exibem substancial variabilidade na distribuição dos locais de restrição. Essa variabilidade é denominada **polimorfismo do comprimento dos fragmentos de restrição**, ou **RFLP**, sigla da expressão em inglês. As sondas dos oligonucleotídeos que hibridizam com fragmentos de DNA do RFLP podem ser utilizadas para identificar o doador humano do DNA de uma pequena amostra. Por conseguinte, a técnica mostra-se valiosa para a ciência forense. As aplicações do RFLP em medicina incluem a identificação de regiões genéticas estreitamente ligadas a genes humanos com disfunções acopladas a doenças genéticas. Essa informação tem sido e continuará sendo valiosa no **aconselhamento genético**.

As sondas de DNA oferecem a promessa de técnicas para a rápida identificação de microrganismos exigentes em amostras clínicas, que dificilmente crescem em um laboratório de microbiologia. Além disso, extensões de tal técnica oferecem oportunidade para a identificação rápida e direta de agentes patogênicos em tecidos infectados. *Kits* para a identificação de muitos patógenos bacterianos e virais estão disponíveis comercialmente.

A aplicação de sondas diagnósticas de DNA exige uma avaliação (1) das próprias sondas, (2) dos sistemas empregados para detecção das sondas, (3) dos alvos (o DNA com o qual as sondas hibridizam) e (4) das condições de hibridização. As sondas podem consistir em fragmentos de restrição relativamente grandes, provenientes de DNA clonado ou de

oligonucleotídeos que correspondem a uma região específica do DNA. As sondas maiores podem proporcionar maior exatidão, visto que são menos sensíveis a alterações de uma única base no DNA-alvo. Já as reações de hibridização ocorrem mais rapidamente com sondas pequenas, podendo ser planejadas contra regiões conservadas do DNA nas quais a ocorrência de substituições de bases é improvável. A amplificação de um alvo por PCR, seguida da detecção do produto amplificado após hibridização com uma sonda, tem-se mostrado mais sensível do que os métodos de detecção direta.

Recentemente, ocorreram melhorias significativas nos métodos de diagnóstico molecular, especialmente entre os que usam tecnologias de amplificação dos ácidos nucleicos, tais como a PCR. Vários instrumentos comerciais que combinam a amplificação por PCR de um alvo de DNA com a detecção dos amplicons no mesmo recipiente fechado tornaram-se disponíveis. Por meio desta tecnologia, conhecida como **PCR em tempo real**, os amplicons da reação provocada pela PCR podem ser detectados em tempo real. Atualmente, o “tempo real” refere-se à detecção de amplicons após cada ciclo de PCR. Os formatos das sondas de detecção envolvem a detecção de fluoróforos. Os resultados são semiquantitativos e podem ser obtidos em um tempo consideravelmente menor do que os alcançados pelos testes convencionais de PCR.

MANIPULAÇÃO DO DNA CLONADO

As técnicas de engenharia genética permitem a separação e a expressão totalmente independentes de genes associados a patógenos. As vacinas preparadas com genes manipulados por engenharia genética oferecem medidas de segurança previamente

inatingíveis. Por exemplo, pode-se preparar uma vacina contra uma proteína do envelope viral produzida na ausência de quaisquer genes associados às funções de replicação do vírus; assim, a inoculação dessa vacina não estaria associada a risco algum de introdução de vírus funcionais. As dificuldades potenciais no desenvolvimento dessas vacinas decorrem da facilidade com que as mutações virais podem produzir variantes genéticas não reconhecidas pelo sistema imunológico de defesa de um indivíduo vacinado. Finalmente, hoje (e no futuro) as vacinas contêm uma variedade de proteínas que antecipam a resposta genética de patógenos.

Cepas recombinantes no meio ambiente

Os maiores avanços científicos têm, algumas vezes, provocado reações adversas do público, de modo que é prudente considerar as possíveis consequências da engenharia genética. A preocupação mais imediata está relacionada com patógenos conhecidos que sofreram modificação genética relativamente leve, os quais têm sido e devem ser investigados em laboratórios especialmente preparados para abrigá-los. A necessidade de contenção diminui após a separação dos genes envolvidos em funções específicas, como o envelope proteico, dos genes associados à replicação ou à toxicidade de determinado patógeno. Na maioria das vezes, devem ser observadas as precauções padronizadas associadas aos laboratórios de microbiologia, a fim de criar hábitos valiosos a serem empregados quando um patógeno potencial entra no laboratório.

São exceções interessantes a essa regra geral os microrganismos manipulados por engenharia genética que podem proporcionar benefício social se forem introduzidos no meio ambiente. Muitos provêm de bactérias não patogênicas de ocorrência natural, com uma frequência de até $10^5/g$ do solo. As evidências disponíveis sugerem que a predação e a competição eliminam rapidamente as cepas bacterianas obtidas por engenharia genética após sua introdução no meio ambiente. Por conseguinte, o principal desafio parece ser, em condições ideais, a manutenção dos microrganismos biologicamente benéficos obtidos por engenharia genética no meio ambiente em vez da sua eliminação. Entretanto, isto não ocorre sem uma consequência social. Entre os exemplos de microrganismos obtidos por engenharia genética estão as cepas de *Pseudomonas* que produzem uma proteína que favorece a formação de cristais de gelo. O valor desses microrganismos do tipo selvagem é apreciado por proprietários de pistas de esqui que deliberadamente introduziram as bactérias no meio ambiente sem suscitar qualquer preocupação do público. Um efeito colateral prejudicial da introdução desses microrganismos é que os cristais de gelo assim produzidos podem afetar safras sensíveis, tais como as de alface durante estações em que podem ocorrer geadas. Bactérias mutantes que não formam cristais de gelo foram elaboradas por microbiologistas que esperavam que os microrganismos mutantes pudessem proteger as plantações de alface, ocupando temporariamente os nichos normalmente habitados pelas cepas formadoras de gelo; entretanto, as tentativas de utilizar microrganismos mutantes em estudos de campo foram alvo de protestos significativos, e os estudos só foram conduzidos após adiamentos legais prolongados e dispendiosos. Os precedentes legais que surgiram desses procedimentos, e mais recentemente, de aplicações correlacionadas estabelecerão

diretrizes para o uso progressivo e benéfico das técnicas de engenharia genética, facilitando a determinação de situações em que se justifica extrema cautela.

OBJETIVOS

1. Descrever a estrutura básica de um nucleotídeo, dos pares de base e da estrutura linear e tridimensional da dupla fita do DNA.
2. Compreender as diferenças entre o RNA e o DNA com relação a sua estrutura, complexidade e tamanhos relativos.
3. Conhecer as funções do RNA (RNAm, RNAr e RNAt) e das ribozimas.
4. Ser capaz de detalhar as diferenças básicas entre o cromossomo procariótico e o eucariótico.
5. Explicar os termos associados à recombinação bacteriana, transpósons, conjugação, transdução e transformação.
6. Descrever os mecanismos de mutação bacteriana e rearranjo genético.
7. Ser capaz de compreender os fundamentos pelos quais os genes bacterianos são transcritos, incluindo os conceitos de transcrição acoplada e tradução, ativador, repressor e atenuação.
8. Compreender as diferenças entre os ribossomos procarióticos e eucarióticos e descrever as etapas da tradução ribossomal procariótica.
9. Compreender o conceito de engenharia genética e discutir sobre as importantes ferramentas envolvidas nesse processo (p. ex., enzimas de restrição, ligação, clonagem e expressão).
10. Descrever as ferramentas envolvidas na caracterização do DNA (mapeamento de restrição, sequenciamento, mutagênese, hibridização e outros métodos de detecção).
11. Ser capaz de avaliar os benefícios e os possíveis aspectos negativos da recombinação bacteriana no ambiente.

QUESTÕES DE REVISÃO

1. As mutações em bactérias podem ocorrer por qual dos seguintes mecanismos?
 - (A) Substituição de bases
 - (B) Deleções
 - (C) Inserções
 - (D) Rearranjos
 - (E) Todas as alternativas anteriores
2. A forma de troca genética na qual o DNA doado é introduzido no receptor por um vírus bacteriano é a
 - (A) Transformação
 - (B) Conjugação
 - (C) Transfecção
 - (D) Transdução
 - (E) Transferência horizontal
3. A forma de troca genética em bactérias mais suscetíveis à atividade de desoxirribonuclease durante o processo de captação do DNA é a
 - (A) Transformação
 - (B) Conjugação
 - (C) Transfecção
 - (D) Transdução
 - (E) Todas as alternativas anteriores

4. Qual a replicação em que o elemento requer integração física com o réplicon bacteriano?
- (A) Bacteriófago de DNA de fita simples
 (B) Bacteriófago de DNA de fita dupla
 (C) Bacteriófago de RNA de fita simples
 (D) Plasmídeo
 (E) Transpóson
5. A formação de um cruzamento durante o processo de conjugação na *Escherichia coli* requer
- (A) A lise do doador
 (B) Um *pilus* sexual
 (C) A transferência das duas fitas do DNA
 (D) Uma endonuclease de restrição
 (E) A integração de um transpóson

Respostas

1. E 3. A 5. B
 2. D 4. E

REFERÊNCIAS

- Alberts B et al.: *Molecular Biology of the Cell*, 4th ed. Garland, 2002.
- Ausubel FM. et al.: *Current Protocols in Molecular Biology*. Wiley, 1987.
- Avery O, Mcleod C, McCarty M. Studies on the chemical nature of the substance inducing transformation of pneumococcal types: Induction of transformation by a desoxyribonucleic acid fraction isolated from pneumococcus type III. *J Exp Med* 1944;79(2):137.
- Bushman F: *Lateral DNA Transfer. Mechanisms and Consequences*. Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2002.
- Charlebois RL (editor): *Organization of the Prokaryotic Genome*. American Society for Microbiology, 1999.
- Condon C: RNA processing and degradation in *Bacillus subtilis*. *Microbiol Mol Biol Rev* 2003;67:157.
- Drlica K, Riley M (editors): *The Bacterial Chromosome*. American Society for Microbiology, 1990.
- Fraser CM, Read TD, Nelson KE (editors): *Microbial Genomes*. Humana Press, 2004.
- Grohmann E, Muuth G, Espinosa M: Conjugative plasmid transfer in gram-positive bacteria. *Microbiol Mol Biol Rev* 2003;67:277.
- Hatfull GF: Bacteriophage genomics. *Curr Opin Microbiol* 2008; 5:447.
- Koonin EV, Makarova KS, Aravind L: Horizontal gene transfer in prokaryotes: Quantification and classification. *Annu Rev Microbiol* 2001;55:709.
- Kornberg A, Baker T: *DNA Replication*, 2nd ed. Freeman, 1992.
- Lengler JW, Drews G, Schlegel HG (editors): *Biology of the Prokaryotes*. Blackwell Science, 1999.
- Liebert CA, Hall RM, Summers AO: Transposon Tn21, flagship of the floating genome. *Microbiol Mol Biol Rev* 1999;63:507.
- Murray NE: Type I restriction systems: Sophisticated molecular machines (a legacy of Bertani and Weigle). *Microbiol Mol Biol Rev* 2000;64:412.
- Ptashne M: *A Genetic Switch: Phage Lambda and Higher Organisms*, 2nd ed. Blackwell, 1992.
- Rawlings DE, Tietze E: Comparative biology of IncQ and IncQ-like plasmids. *Microbiol Mol Biol Rev* 2001;65:481.
- Reischl U, Witter C, Cockerill F (editors): *Rapid Cycle Real-Time PCR—Methods and Applications*. Springer, 2001.
- Rhodus V, Van Dyk TK, Gross C, LaRossa RA: Impact of genomic technologies on studies of bacterial gene expression. *Annu Rev Microbiol* 2002;56:599.
- Riley MA, Wertz JE: Bacteriocins: Evolution, ecology, and application. *Annu Rev Microbiol* 2002;56:117.
- Sambrook J, Russell NO: *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 3rd ed. Cold Spring Harbor Laboratory, 2001.
- Singleton P, Sainsbury D: *A Dictionary of Microbiology and Molecular Biology*, 3rd ed. Wiley, 2002.
- Snyder L, Champness W: *Molecular Genetics of Bacteria*. ASM Press, 1997.
- Trun N, Trempey J: *Fundamental Bacterial Genetics*. Blackwell Science Ltd, 2004.
- van Belkum A, Scherer S, van Alphen L, Verbrugh H: Short-sequence DNA repeats in prokaryotic genomes. *Microbiol Mol Biol Rev* 1998;62:275.
- Zimmer C, Störl K, Störl J: Microbial DNA topoisomerases and their inhibition by antibiotics. *J Basic Microbiol* 1990;30:209–224.



Imunologia

8

INTRODUÇÃO

A difícil função do sistema imunológico é garantir proteção. Ele serve como um sistema de defesa do hospedeiro contra doenças infecciosas e contra antígenos externos (*nonsel*). Para atingir esse objetivo, o sistema imune apresenta um mecanismo de resposta rápida e específica, além de uma grande adaptabilidade e de uma intrincada rede regulatória e de memória imunológica.

Nas últimas décadas, grandes progressos foram alcançados no campo da imunologia, tendo como consequência avanços significativos não somente no campo da pesquisa básica, mas também na área de diagnóstico e clínico. Esses avanços permitiram melhor compreensão de como o sistema imunológico funciona, e sobre variedade de distúrbios imunológicos, tais como doenças infecciosas, alergias, doenças autoimunes, imunodeficiências, câncer e transplantes. Essas informações proporcionaram um melhor diagnóstico, novas estratégias de tratamento e melhorias na conduta clínica de pacientes com esses distúrbios.

Este capítulo apresenta os princípios básicos da imunologia, em particular ao que se refere à resposta contra infecção. Discussões mais detalhadas sobre vários aspectos do sistema imunológico estão disponíveis na seção de referência.

A resposta imune

Quando o sistema imunológico defende o hospedeiro contra um determinado patógeno, ele usa diferentes mecanismos de reconhecimento, visando de forma eficiente eliminar o patógeno invasor ou seus fatores de virulência. A resposta gerada contra um patógeno em potencial é denominada resposta imune.

A primeira linha de defesa contra o patógeno invasor é denominada **resposta imune inata**. Essa resposta é inespecífica e é, rapidamente, mobilizada para o sítio inicial da infecção, porém não produz memória imunológica. Já o segundo sistema de defesa é denominado **resposta imune adaptativa** e é específica, podendo conferir imunidade protetora contra uma reinfeção pelo mesmo patógeno. A resposta adaptativa pode, especificamente, reconhecer e destruir um patógeno, uma vez que os linfócitos apresentam receptores celulares específicos para o reconhecimento antigênico, além de produzirem anticorpos específicos contra os antígenos. Uma proteína produzida em resposta a um patógeno específico é denominada anticorpo, e uma substância que induz a produção de anticorpos é denominada antígeno. Em resumo, a resposta imune inata é efetiva e crítica na eliminação da maioria dos patógenos. Contudo, se esse mecanismo inicial falhar, a resposta imune adaptativa inicia uma resposta mais específica e direcionada ao patógeno invasor. Assim, ambos os sistemas interagem e colaboram entre si para alcançar o objetivo final de destruir o patógeno.

IMUNIDADE INATA

A imunidade inata é uma resposta imediata contra um patógeno que não confere proteção duradora ou memória imunológica. É um sistema de defesa inespecífico, que inclui barreiras contra agentes infecciosos, tais como a pele (epitélio) e mucosas. Também é composta por vários componentes importantes da resposta imune adaptativa incluindo macrófagos, células NK (*natural killer*, células matadoras naturais), receptores do tipo toll (*Toll-like receptors* — TLRs), citocinas e o sistema complemento.

Barreiras fisiológicas

A. Pele

Poucos microrganismos são capazes de penetrar através da pele íntegra, mas muitos podem penetrar pelas glândulas sudoríparas ou sebáceas e pelos folículos pilosos, estabelecendo-se nesses locais. As secreções sudoríparas e sebáceas — em virtude de seu pH ácido e da presença de certas substâncias químicas (particularmente ácidos graxos) — têm propriedades antimicrobianas que tendem a eliminar os microrganismos patogênicos. A lisozima, uma enzima que desestabiliza as paredes celulares de algumas bactérias, é encontrada na pele e pode ajudar a proteger o hospedeiro contra esses microrganismos. Também está presente na lágrima, bem como nas secreções respiratórias e cervicais. Além disso, a pele produz uma variedade de agentes antimicrobianos, incluindo a proteína com atividade antibacteriana denominada psoriasina*. Assim, tanto a pele quanto esses agentes antimicrobianos fornecem uma barreira fisiológica contra a entrada de patógenos.

B. Mucosas

A superfície das vias respiratórias é recoberta por uma película de muco constantemente impelida para cima por células ciliadas em direção aos orifícios naturais. As bactérias tendem a aderir a essa película. Além disso, tanto o muco quanto a lágrima contêm lisozima e outras substâncias dotadas de propriedades antimicrobianas. Para alguns microrganismos, a primeira etapa no processo infeccioso consiste na sua fixação a células epiteliais superficiais através de proteínas adesivas da superfície bacteriana (p. ex., os *pili* dos gonococos e *Escherichia coli*). Se essas células possuírem anticorpos IgA em sua superfície — um mecanismo de resistência do hospedeiro —, a fixação do microrganismo poderá ser impedida. (O microrganismo pode vencer tal mecanismo de resistência ao degradar o anticorpo com uma protease.)

Quando determinado microrganismo penetra no corpo através das mucosas, tende a ser capturado por fagócitos e transportado em vasos linfáticos regionais para os linfonodos. Os fagócitos atuam como barreiras contra a disseminação posterior de grandes números de bactérias. O aparelho mucociliar para a remoção de bactérias nas vias respiratórias é auxiliado por macrófagos pulmonares. Os mecanismos protetores especiais, encontrados nas vias respiratórias, incluem os pelos das narinas e o reflexo da tosse, que impede a aspiração.

No trato gastrointestinal (GI), existem diversos sistemas que atuam para inativar as bactérias: a saliva contém inúmeras enzimas hidrolíticas; a acidez do estômago destrói muitas bactérias ingeridas (p. ex., *Vibrio cholerae*); e o intestino delgado possui muitas enzimas proteolíticas e macrófagos ativos, que destroem microrganismos no intestino delgado.

É preciso lembrar que a maioria das mucosas do organismo possui a microbiota normal e constante, que se opõe ao estabelecimento de microrganismos patogênicos (interferência

* N. de R.T. Os peptídeos antimicrobianos presentes na pele (defensinas: HNPI3, catelicidinas: LL37, lisozimas, ubiquitina e psoriasinas) têm importante papel, como efeito na imunidade inata, principalmente nas reações de defesa do neonato devido a sua imaturidade imunológica.

bacteriana ou efeito de barreira), desempenhando, assim, importantes funções fisiológicas. Por exemplo, na vagina da mulher adulta, o pH ácido é mantido por lactobacilos normais, inibindo, desse modo, o estabelecimento de leveduras, anaeróbios e bactérias gram-negativas.

Mecanismos da imunidade inata

Embora a resposta imune inata não estabeleça uma imunidade direcionada e protetora, dependente do reconhecimento específico de determinado patógeno, ela fornece uma poderosa linha de defesa. Esse sistema apresenta diferentes tipos celulares, como os leucócitos polimorfonucleares neutrofílicos (*polymorphonuclear neutrophilic leukocytes* [PMNs]), macrófagos e células NK, que são a primeira linha de defesa contra os microrganismos. A interação dessas células com os patógenos desencadeia a liberação de diferentes citocinas, quimiocinas e a ativação das proteínas do sistema complementar. Muitas dessas citocinas pró-inflamatórias, como interleucina-1 (*interleukin-1* [IL-1]), fator de necrose tumoral α (*tumor necrosis factor- α* [TNF- α]), IL-6 e interferon-gama (IFN- γ), são induzidas via interação com moléculas de TLRs, iniciando assim uma resposta contra os patógenos invasores.

A. Sensores microbianos

Quando um patógeno entra em contato com a pele é confrontado com os macrófagos e outras células fagocíticas, que possuem "sensores microbianos". Há três principais grupos de sensores microbianos: (1) TLRs, (2) NOD-like receptors (*Nucleotide-binding oligomerization domain receptors*, receptores de domínio de oligomerização ligador de nucleotídeo) e (3) RIG-1-like helicases (*retinoic acid-inducible gene 1-like helicases*, helicases do tipo RIG-1 [gene induzível por ácido retinóico-1]) e MDA-5 (*Melanoma differentiation-associated protein 5* [proteína associada à diferenciação do melanoma 5]). Entre esses três grupos de sensores, os TLRs são os mais estudados e conhecidos. Os TLRs são uma importante família de receptores de reconhecimento-padrão conservados evolutivamente (*Pattern Recognition Receptors* [PRRs]), que reconhecem diferentes padrões moleculares associados a patógenos (*pathogen-associated molecular patterns* [PAMPs]), sendo a principal linha de defesa contra uma variedade de microrganismos e desempenhando assim, um papel crítico no início da resposta imune inata. Os TLRs são proteínas transmembranas do tipo I constituídas por um domínio extracelular, uma única α -hélice transmembrana e um domínio citoplasmático. O reconhecimento dos padrões microbianos pelos TLRs leva a uma cascata de transdução de sinais, que resulta em uma rápida e intensa resposta inflamatória marcada por ativação celular e liberação de citocinas.

Até o momento, 10 moléculas de TLRs humanas foram identificadas, sendo que cada uma dessas moléculas reconhece um único grupo de moléculas microbianas. Por exemplo, TLR2 reconhece vários ligantes (p. ex., ácido teicoico) expressados por bactérias gram-positivas, enquanto TLR3 se liga a RNA de fita dupla na replicação viral. O TLR1 e o TLR6 reconhecem múltiplos peptídeos diacil (p. ex., *Mycoplasma*). Já o TLR4 é específico para lipopolissacarídeo (LPS) de bactérias gram-negativas. O TLR5, por outro lado, é capaz de reconhecer

flagelina bacteriana e o TLR7 e TLR8 interagem com RNA de fita simples viral. O TLR9 é responsável pelo reconhecimento do DNA bacteriano. Em relação ao TLR10, sua função permanece desconhecida. Outra grande família de receptores da resposta inata são os receptores do tipo NOD, que estão localizados no citoplasma e servem como sensores intracelulares para produtos microbianos. Eles ativam a via do fator nuclear potenciador da cadeia leve *kappa* das células ativadas B (*Nuclear factor kappa beta* [NF- κ B]). O terceiro grupo de sensores microbianos é constituído pelas helicases do tipo RIG-1 e pelo MDA-5, sendo sensores citoplasmáticos para o RNA de fita simples viral. O reconhecimento do RNA de fita simples por esses sensores desencadeia a produção de interferon do tipo 1 (IFN-1), que são inibidores altamente eficazes da replicação viral.

B. Fagocitose

Durante o processo infeccioso, o número de células fagocíticas circulantes, frequentemente, aumenta. As funções principais dessas células fagocíticas incluem **quimiotaxia**, **migração**, **ingestão** (fagocitose) e **destruição microbiana**. Os microrganismos e outros antígenos exógenos que entram através da barreira epitelial nos linfonodos, pulmão ou circulação sanguínea são englobados por uma variedade de células fagocíticas.

Os fagócitos do sistema imune consistem em (1) **monócitos e macrófagos**; (2) **granulócitos**, incluindo **polimorfonucleares (PMNs)**, **eosinófilos** e **basófilos**; e (3) **células dendríticas**. Os **monócitos** são pequenos leucócitos, que circulam na corrente sanguínea e que se diferenciam em **macrófagos**, os quais estão presentes na maioria dos tecidos. Por exemplo, eles são denominados células de Kupffer no fígado e células microgliais no tecido nervoso. Os macrófagos são células críticas na fagocitose e na destruição de patógenos, no processamento e apresentação de antígenos e na regulação da resposta imunológica, pela produção de citocinas e quimiocinas.

Os **granulócitos** são leucócitos que contêm grânulos densamente corados. Os **PMNs** apresentam uma meia-vida curta e são importantes células fagocitárias, que destroem patógenos presentes em vesículas intracelulares. Os **eosinófilos** e **basófilos** são menos abundantes, mas importantes na defesa contra parasitos. Essas células apresentam grânulos que contêm enzimas e proteínas tóxicas, que são liberadas durante a ativação dessas células. As **células dendríticas** também são células fagocitárias, porém sua principal função é a ativação de linfócitos T, durante a resposta imune adaptativa, funcionando como células apresentadoras de antígeno (*antigen presenting cells* [APCs]) e na produção de citocinas regulatórias.

Os elementos-chave na eficiência da imunidade inata são a rapidez, a inespecificidade e a curta duração da resposta. Essas características são a marca registrada do processo fagocitário. A fagocitose é um processo em que a célula fagocitária, especialmente os PMNs, reconhecem, englobam e destroem os patógenos fagocitados. É um processo realizado em várias etapas, que se inicia com o rolamento dos PMNs ao longo das paredes do capilares venulares. Caso o patógeno invada os tecidos, os PMNs migram para o sítio infeccioso, sendo esse processo dependente da liberação de sinais quimiotáticos produzidos pelas células do hospedeiro ou pelo próprio patógeno. Uma das substâncias quimiotáticas é a IL8, potente quimiocina que atrai os PMNs. Na etapa inicial da migração, os PMNs se aderem a

células endoteliais por meio de moléculas de adesão, tais como as P-selectinas. Os PMNs são atraídos por essas quimiocinas e migram da circulação para os tecidos, através do endotélio, em que o patógeno invasor é reconhecido, fagocitado pela formação de uma vesícula endocítica denominada de fagossomo e, finalmente, destruído no interior do fagócito.

Há vários mecanismos antibacterianos usados pelos fagócitos. Por exemplo: (1) acidificação do fagossomo. O pH do fagossomo é entre 3,5 a 4,0, produzindo, assim, um ambiente bactericida; (2) produtos tóxicos derivados do oxigênio molecular, incluindo superóxido (O_2^-), peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e radicais hidroxila (OH^-); (3) óxidos de nitrogênio com o óxido nítrico (NO); e (4) peptídeos antimicrobianos. Os macrófagos produzem catelicidinas e peptídeos derivados de elastase, enquanto os PMNs são ricos em α -defensina, β -defensinas, catelicidinas e lactoferrinas. Todos esses mecanismos são utilizados pelos fagócitos para destruir os patógenos. Quando os PMNs completam a sua função, entram em apoptose.

Como mencionado anteriormente, a fagocitose ocorre sem a necessidade da presença de anticorpos. Contudo, esse processo é mais eficiente na presença dessas imunoglobulinas, que recobrem a superfície das bactérias e facilitam sua ingestão pelos fagócitos. Esse processo é denominado de opsonização, podendo ocorrer por três mecanismos: (1) o anticorpo em si pode atuar como opsonina; (2) o anticorpo ligado ao antígeno pode ativar o complemento através da via clássica, produzindo opsonina (C3b); e (3) pode haver a produção da opsonina C3b através da via alternativa (Fig. 8.8). Os macrófagos possuem receptores em suas membranas para a porção Fc do anticorpo e para o componente C3b do complemento, que ajudam a fagocitose de partículas recobertas por anticorpos.

C. Células matadoras naturais — células NK

As células NK são linfócitos grandes granulares morfologicamente relacionados com as células T, representando cerca de 10 a 15% dos leucócitos na circulação sanguínea. As células NK contribuem para a imunidade inata, fornecendo proteção contra infecções virais e outros patógenos intracelulares. Essas células apresentam a capacidade de reconhecer e destruir células infectadas e tumorais. As células NK possuem dois tipos de receptores de superfície: (1) receptores do tipo lectina de células NK (*lectin-like NK cell receptors*), que se ligam a proteínas e não a carboidratos e (2) receptores matadores do tipo imunoglobulina (*Killer immunoglobulin-like receptors* [KIRs]), que reconhecem moléculas do complexo de histocompatibilidade principal classe I (*major histocompatibility complex* [MHC]), o antígeno leucocitário humano B (*human leukocyte antigen B* [HLA-B]) e o HLA-C. Esses receptores apresentam tanto características de ativação quanto de inibição. As células NK podem lisar células-alvo que sofreram transformação maligna e desempenhar um papel na vigilância imunológica contra o estabelecimento de tumores. Elas têm a capacidade de destruir as células infectadas por vírus com níveis alterados de moléculas MHC de classe I. A ação lítica das células NK é intensificada pela presença de altos níveis de granzimas e perforinas. Além disso, quando a produção de anticorpos é iniciada durante a resposta imune adaptativa, células NK exercem um papel crítico na **citotoxicidade celular dependente de**

anticorpo (*antibody-dependent cellular cytotoxicity* [ADCC]). Nesse processo, anticorpos específicos se ligam à superfície da célula-alvo, enquanto as células NK expressam receptores para fração Fc dos anticorpos aderidos. Após essa ligação, as granzimas e perforinas são liberadas, promovendo a lise da célula-alvo. Essa propriedade permite que as células NK inibam a replicação viral ou de outros patógenos intracelulares. Essas células e o sistema de interferon (IFN) interagem entre si e são parte integral da resposta imune inata. As células NK são fontes primárias de IFN- γ , uma potente citocina antiviral e imunorreguladora. A atividade lítica das células NK também é aumentada por IFN do tipo 1, IFN- α e IFN- β , que são induzidas durante a infecção viral. Finalmente, a molécula de MHC classe I, que medeia a morte celular pelas células NK, é estimulada por IFNs.

D. Complemento

O sistema complemento é outro componente-chave da resposta imune inata. É formado por 30 proteínas encontradas no soro ou na membrana de determinadas células. Esse sistema promove a destruição do microrganismo invasor mediada, por lise, através da formação de poros em sua membrana celular ou por opsonização, resultando em melhor fagocitose pelos PMNs ou pelos macrófagos. Há três vias para ativação do complemento: clássica, alternativa e lectínica. Mesmo tendo diferentes mecanismos de ativação, essas três vias podem resultar em lise do agente invasor, após uma cascata de reações bioquímicas desencadeada durante sua ativação. Outra consequência da ativação do complemento é a liberação de fragmentos que podem interagir diretamente com linfócitos T e B. Durante esses eventos, os linfócitos produzem e liberam diferentes citocinas pró-inflamatórias. Por exemplo, a via alternativa é importante como primeira linha de defesa contra a infecção por microrganismos. Conforme ilustra a Figura 8.8, essa via pode ser ativada na superfície do microrganismo, ocorrendo na ausência de anticorpos. As proteínas do complemento exibem várias propriedades antimicrobianas que contribuem para a defesa do hospedeiro, como opsonização, lise de bactérias e amplifi-

cação das respostas inflamatórias por meio das anafilatoxinas C5a e C3a.

Contudo, alguns microrganismos desenvolveram mecanismos para interferir no sistema do complemento e, dessa maneira, escapar da resposta imunológica, como, por exemplo, o vírus vacínia, que codifica uma proteína solúvel que funciona como uma proteína reguladora do complemento, bloqueando ambas as vias principais de ativação do complemento pela ligação a C3b e C4b.

E. Mediadores de inflamação: citocinas

Qualquer lesão de um tecido, como a que ocorre após o estabelecimento e a multiplicação de microrganismos, induz uma resposta inflamatória. A resposta imunológica inata dos macrófagos consiste na liberação de **citocinas**, como a IL1 e o TNF α . Os outros mediadores liberados pelos macrófagos ativados são as prostaglandinas e os leucotrienos. Esses mediadores de inflamação começam a induzir alterações nos vasos sanguíneos locais. Essa ação começa com a dilatação das arteríolas e dos capilares locais, a partir dos quais ocorre o extravasamento do plasma. Há acúmulo de líquido de edema na área da lesão e a fibrina forma uma rede, causando a oclusão dos vasos linfáticos e limitando assim a disseminação dos microrganismos. Outro efeito dos mediadores consiste em induzir alterações na expressão de várias moléculas de adesão, sobre as células endoteliais e os leucócitos. As moléculas de adesão, como as selectinas e as integrinas, permitem a fixação dos leucócitos às células endoteliais dos vasos sanguíneos, promovendo, assim, seu movimento através da parede do vaso. Por conseguinte, os PMNs aderem às paredes e, em seguida, migram para fora dos capilares (extravasamento), em direção ao agente irritante. Essa migração (**quimiotaxia**) é estimulada por substâncias existentes no exsudato inflamatório, inclusive alguns polipeptídeos pequenos, denominados **quimiocinas**. As quimiocinas, que pertencem à família das citocinas, estimulam a mobilização de PMNs e são sintetizadas por diferentes tipos celulares, incluindo os macrófagos e as células endoteliais. A IL8 é um exemplo de quimiocina (Quadro 8.2). Essas quimiocinas atuam,

QUADRO 8.1 Propriedades das imunoglobulinas humanas

	IgG	IgA	IgM	IgD	IgE
Símbolo da cadeia pesada	γ	α	μ	δ	ϵ
Valência	2	4 ^a	5	2	2
Massa molecular (daltons)	143.000-160.000	159.000-447.000 ^a	900.000	177.000-185.000	150
Concentração sérica (mg/mL) (adulto)	8 a 16	1,4 a 4,0	0,4 a 2,0	0,03	Traços
Meia-vida sérica (dias)	21 ^b	7	7	2	2
Porcentagem do total de imunoglobulinas no soro	80	15	5	0,2	0,002
Ativação do complemento	Sim (+)	Não	Sim (++)	Não	Não
Transferência para o feto via placenta ^c	+	-	-	-	-

^a Em secreções, por exemplo, saliva, leite e lágrima, bem como em secreções dos tratos respiratório, intestinal e genital, a IgA, geralmente, é encontrada como dímero ou tetrâmero, e no soro ela existe principalmente como um monômero.

^b Subclasses 1, 2, 4. Subclasse 3 apresenta meia-vida de 7 dias.

^c Principalmente, os isotipos IgG1 e IgG3, porém todos os isotipos já foram detectados.

principalmente, no recrutamento de monócitos e neutrófilos do sangue circulante para os locais de infecção. Os fagócitos ingerem os microrganismos e começam a digestão intracelular. Em seguida, o pH da área inflamada torna-se mais ácido e as proteases celulares induzem a lise dos leucócitos. Grandes macrófagos mononucleares chegam ao local e ingerem restos leucocitários, bem como microrganismos, preparando o caminho para a resolução do processo inflamatório local.

A febre constitui a manifestação sistêmica mais comum da resposta inflamatória, representando um sintoma essencial de doença infecciosa.

O regulador final da temperatura corporal é o centro termorregulador localizado no hipotálamo. Entre as substâncias capazes de induzir febre (pirogênicos), destacam-se as endotoxinas das bactérias gram-negativas e as citocinas liberadas das células linfóides, como a IL1.

Diversos ativadores podem atuar sobre os fagócitos mononucleares e outras células, induzindo a liberação de IL1. Entre esses ativadores, destacam-se os micróbios e seus produtos; as toxinas (inclusive as endotoxinas), os complexos antígeno-anticorpo, os processos inflamatórios entre outros. A IL1 é transportada pela corrente sanguínea até o centro termorregulador no hipotálamo, em que são iniciadas as respostas fisiológicas que resultam em febre (p. ex., aumento da produção de calor, redução da perda de calor). Os outros efeitos da IL1 são mencionados adiante.

Os interferons (IFNs) são citocinas críticas que exercem um papel-chave na defesa contra infecções virais e diferentes microrganismos intracelulares, como o *Toxoplasma gondii*. Embora essas moléculas tenham sido identificadas, na década de 1957, como proteínas antivirais, somente hoje elas são reconhecidas como proteínas imunorreguladoras fundamentais capazes de alterar vários processos celulares, tais como crescimento celular, diferenciação, transcrição e tradução gênica. A família dos IFNs consiste em três grupos: Os IFNs do tipo I, que compreendem diferentes genes e primariamente incluem o IFN- α e IFN- β ; os IFNs do tipo II, que consistem em um único gene codificando para a síntese do IFN- γ ; e o IFN- λ , que é o terceiro grupo recentemente descoberto. A infecção viral desencadeia a produção dos IFNs do tipo I, geralmente via TLR-3, 7 ou 9. O IFN- γ é produzido por células NK ativadas na resposta imune inata e por células T, sensibilizadas na resposta imune específica. Além disso, citocinas com a IL-2 e IL-12 também desencadeiam a produção de IFN- γ pelas células T.

O sistema IFN consiste em uma série de eventos, que resultam na proteção da célula e no bloqueio da replicação viral. Os IFNs se ligam aos seus receptores celulares e ativam os transdutores e tradutores de sinais da família JAK (*quinase Janus*) e da família STAT (*signal transducer and activator of transcription* [transdutores de sinal e ativadores da transcrição]). Esse processo desencadeia a ativação de genes responsáveis pela transcrição dos IFNs. Além disso, alguns desses genes iniciam a produção de proteínas inibidoras da replicação viral. Os diferentes IFNs apresentam múltiplas e redundantes funções biológicas, como atividade antiviral, antiproliferativa e imunorregulatória (Quadro 8.2). Contudo, funções não redundantes e específicas também existem. Por exemplo, IFN- β é usado com sucesso no tratamento de pacientes com esclerose múltipla, enquanto o IFN- γ parece exacerbar os sintomas da doença. Essas potentes funções dos IFNs e os avanços da

biotecnologia têm sido de grande relevância na clínica médica. De fato, muitos IFNs foram aprovados pela U.S Food and Drug Administration (FDA), para o tratamento de infecções, neoplasias, doenças autoimunes e imunodeficiências. Em adição, as citocinas e os derivados do ácido araquidônico, como as prostaglandinas e os leucotrienos, são mediadores da resposta inflamatória. Os fármacos que inibem a síntese das prostaglandinas (ao bloquear a enzima ciclo-oxigenase) atuam como anti-inflamatórios.

IMUNIDADE ESPECÍFICA

A resposta imune adaptativa pode ser mediada por anticorpos (humoral), de base celular (celular) ou ambos. Ao contrário da resposta inata, a resposta adaptativa é altamente específica, apresenta memória imunológica e responde de forma rápida e intensa a uma segunda exposição ao mesmo antígeno. Uma visão mais detalhada dos componentes da resposta imune adaptativa é apresentada a seguir.

Bases celulares da resposta imune adaptativa

Durante o desenvolvimento embrionário, os precursores das células sanguíneas (células-tronco hematopoiéticas) são encontrados no fígado e em outros tecidos fetais; na vida pós-natal, as células-tronco localizam-se na medula óssea. No fígado e na medula óssea, as células-tronco podem diferenciar-se em células mielóides ou células da série linfóide. As células progenitoras linfóides evoluem em duas populações principais de linfócitos: as células B e as células T.

As células B são linfócitos que se desenvolvem na medula óssea dos mamíferos. Nas aves, desenvolvem-se na bolsa de Fabricius, um apêndice do intestino. As células B fazem rearranjo de seus genes de imunoglobulinas e expressam um único receptor para o antígeno em sua superfície celular. Nessa etapa, migram para um órgão linfóide secundário (p. ex., o baço) e podem ser ativadas pelo contato com um antígeno, transformando-se em plasmócitos secretores de anticorpos.

As células T são linfócitos oriundos da medula óssea na forma de células precursoras, que migram para o timo, onde se diferenciam e amadurecem. Após o rearranjo do TCR e as seleções positivas e negativas*, estas células se diferenciam em subclasses, com funções específicas (células T CD4⁺ e células T

* N. de R.T. No microambiente especializado do timo, as células T sofrem dois tipos de seleção: positiva e negativa, as quais verificam as interações do TCR com os peptídeos próprios, associados às moléculas do MHC próprias na superfície das células tímicas. Na seleção positiva, as células T, cujos receptores e correceptores reconhecem moléculas de MHC próprias nas células epiteliais do córtex tímico, continuam sua maturação. Já na seleção negativa, as células apresentadoras de antígenos profissionais, principalmente as células dendríticas e os macrófagos derivados da medula óssea, deletam as células T, cujos receptores reconhecem complexos peptídeo próprio-MHC próprio. Isso assegura a autotolerância por meio da criação de um repertório de células T maduras que não reage com os complexos peptídeo-MHC das células normais próprias. As células T maduras, que sobrevivem à seleção, saem do timo para o sangue e circulam através dos órgãos linfóides periféricos, em que encontram o antígeno específico, são ativadas e se diferenciam em células T efetoras de diferentes tipos.

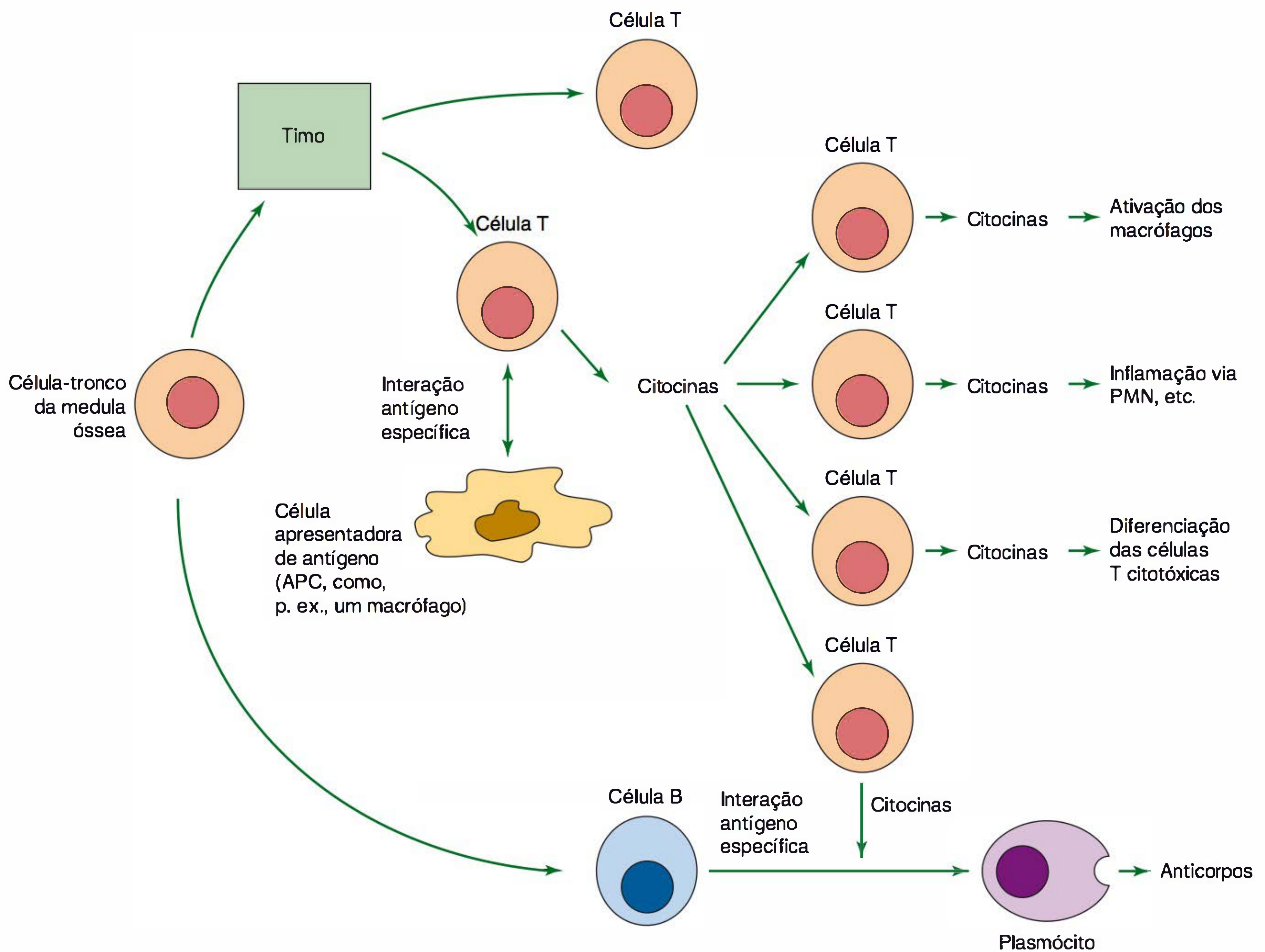


FIGURA 8.1 Diagrama esquemático das interações celulares na resposta imunológica.

CD8⁺). A Figura 8.1 apresenta uma visão geral da diferenciação e das interações dos linfócitos. Os dois braços da resposta imune, a resposta de base celular e a mediada por anticorpos, se desenvolvem concomitantemente.

No braço **mediado por anticorpos**, os linfócitos T auxiliares (CD4) reconhecem os antígenos do patógeno em complexo com proteínas MHC da classe II, sobre a superfície de uma célula apresentadora de antígeno (macrófago ou célula B) e, em seguida, produzem citocinas que ativam a expressão de anticorpos pelas células B, que se ligam especificamente ao antígeno. As células B sofrem proliferação clonal e diferenciam-se para formar plasmócitos que, em seguida, produzem imunoglobulinas específicas (anticorpos). As principais funções de defesa dos anticorpos no hospedeiro são a neutralização de toxinas e vírus, ADCC e a opsonização do patógeno, que ajuda a sua captação pelas células fagocíticas. A defesa mediada por anticorpos é importante contra os patógenos que produzem toxinas (p. ex., *Clostridium tetani*), ou possuem cápsulas de polissacarídeos que interferem na fagocitose (p. ex., pneumococos). Aplica-se principalmente a patógenos extracelulares e suas toxinas.

No braço **mediado pelas células**, o complexo antígeno-MHC da classe II é reconhecido pelos linfócitos T auxiliares

(CD4), enquanto o complexo antígeno-MHC da classe I é reconhecido pelos linfócitos T citotóxicos (CD8). Cada classe de células T produz citocinas, as quais se tornam ativadas e sofrem expansão por proliferação clonal.

A atividade das células T **auxiliares (CD4)**, além de estimular a produção de anticorpos pelas células B, promove o desenvolvimento da hipersensibilidade tardia e, portanto, atua também na defesa contra agentes intracelulares, como as bactérias intracelulares (p. ex., micobactérias), fungos, protozoários e alguns vírus. A atividade das células T **citotóxicas (CD8)** é principalmente orientada para a destruição de células em enxertos teciduais (transplantes), células tumorais ou células infectadas por vírus. Assim, o resultado efetivo, das duas imunidades em conjunto (humoral e celular), possibilita que um indivíduo, na maioria das vezes, resista a diferentes patógenos e antígenos externos em seu organismo.

Antígenos

Um antígeno é uma substância de diferentes naturezas capaz de induzir uma resposta imune, com a produção de anticorpos específicos. Diferentes características determinam sua imunogenicidade:

1. **Natureza externa (diferença do próprio “self”):** em geral, as moléculas reconhecidas como “próprias” (*self*) não são imunogênicas; para haver imunogenicidade, as moléculas devem ser reconhecidas como “não próprias” (*non self*).
2. **Tamanho molecular:** os imunógenos mais potentes geralmente são grandes proteínas. Em geral, as moléculas com massa molecular inferior a 10.000 dáltons são fracamente imunogênicas. Enquanto as moléculas muito pequenas (p. ex., aminoácidos) não são imunogênicas. Determinadas moléculas pequenas (p. ex., **haptenos**) só se tornam imunogênicas, quando ligadas a uma proteína transportadora.
3. **Complexidades química e estrutural:** é necessário haver certo grau de complexidade química — por exemplo, os homopolímeros dos aminoácidos são menos imunogênicos que os heteropolímeros que contêm dois ou três aminoácidos diferentes.
4. **Constituição genética do hospedeiro:** dois animais da mesma espécie podem responder de modo diferente ao mesmo antígeno, devido à diferente composição dos genes da resposta imunológica, como, por exemplo, diferentes alelos de MHC.
5. **Dosagem, via de administração e momento de administração do antígeno:** como o grau da resposta imunológica depende da quantidade administrada de antígeno, a resposta imunológica pode ser otimizada ao se definir cuidadosamente a dosagem (inclusive o número de doses), a via de administração e o momento de sua administração (inclusive os intervalos entre as doses).

É possível aumentar a imunogenicidade de uma substância ao misturá-la com um **adjuvante**. Os adjuvantes são substâncias que estimulam a resposta imunológica, como, por exemplo, ao facilitar a captação nas células apresentadoras de antígeno.

Moléculas de reconhecimento antigênico

Para que o sistema imunológico responda a antígenos não próprios, isto é, externos, foi necessário o desenvolvimento de um sistema de reconhecimento capaz de distinguir com precisão o antígeno próprio do não próprio. A próxima seção deste capítulo trata das moléculas utilizadas para o reconhecimento dos antígenos estranhos (não próprios). Em primeiro lugar, é feita uma revisão da estrutura molecular do complexo de histocompatibilidade principal (*major histocompatibility complex* [MHC]) para a apresentação antigênica, seguida por uma visão geral da estrutura e função dos anticorpos. Finalmente, é apresentada uma discussão sobre alguns receptores de antígenos ligados à membrana (p. ex., o receptor de antígeno para as células B [imunoglobulina de membrana, “*surface membrane immunoglobulin*, SmIg”] e o receptor de antígeno para as células T [receptor de célula T, *T cell receptor*, TCR]).

O complexo principal de histocompatibilidade

O complexo principal de histocompatibilidade (MHC) foi detectado, pela primeira vez, como o *locus* que codifica as moléculas de glicoproteína (antígenos de transplante) responsáveis pela rápida rejeição de enxertos de tecidos transplantados entre indivíduos geneticamente não idênticos. Na atualidade,

sabe-se que as moléculas MHC ligam-se a antígenos peptídicos, apresentando-os às células T. Por conseguinte, tais antígenos de transplante desencadeiam o reconhecimento antigênico mediado pelo TCR. Nesse aspecto, o TCR difere do anticorpo. As moléculas do anticorpo interagem diretamente com o antígeno; o TCR só reconhece os peptídeos antigênicos apresentados por moléculas MHC presentes na APC. Embora o TCR seja específico a um determinado antígeno, é necessária a apresentação dele por uma molécula do MHC própria. O TCR também é específico para a molécula MHC. Caso o antígeno seja apresentado por outra forma alélica da molécula MHC *in vitro* (normalmente, apenas em situação experimental), não haverá reconhecimento pelo TCR. Esse fenômeno é conhecido como restrição do MHC.

Nos seres humanos, o MHC é um conjunto de genes extensamente estudado, que se localiza no cromossomo 6. Entre os inúmeros genes importantes do MHC humano, também conhecidos como antígenos leucocitários humanos (*human leukocyte antigens* [HLA]), há os que codificam as proteínas MHC das classes I, II e III. Conforme indica o Quadro 8.3, as proteínas da classe I são codificadas pelos genes HLA-A, HLA-B e HLA-C. Essas proteínas são constituídas de duas cadeias: (1) uma glicoproteína transmembrana com MM de 45.000 dáltons, associada, de forma não covalente, a (2) um polipeptídeo não codificado pelo MHC, com MM de 12.000 dáltons, conhecido como β_2 -microglobulina. As moléculas da classe I são encontradas em praticamente todas as células nucleadas do corpo, com exceção das células da retina e do cérebro.

As proteínas da classe II são codificadas pela região HLA-D. Conforme indica o Quadro 8.3, existem três famílias principais: as moléculas codificadas por DP, DQ e DR. Esse *locus* mantém o controle da capacidade de resposta imunológica e diferentes formas alélicas de tais genes, que conferem notáveis diferenças na capacidade de deflagrar uma resposta imunológica contra determinado antígeno.

As proteínas codificadas pelo *locus* HLA-D são constituídas de duas glicoproteínas transmembrana, associadas de modo não covalente, com MM de cerca de 33.000 e 29.000 dáltons. Diferentemente das proteínas da classe I, têm distribuição tecidual restrita e são encontradas principalmente em macrófagos, células dendríticas, células B e outras APCs. Contudo, sua expressão em outras células, como células endoteliais e epiteliais, pode ser induzida pelo IFN- γ .

O *locus* MHC da classe II também inclui genes que codificam proteínas envolvidas no processamento do antígeno, como, por exemplo, os transportadores associados ao processamento de antígenos (*transporters associated with antigen processing* [TAP]) (Fig. 8.2). O *locus* MHC da classe III codifica proteínas do complemento e várias citocinas.

Os genes do MHC exibem notável variabilidade genética. O MHC é **poligênico**, visto que existem vários genes para cada classe de molécula. O MHC também é **polimórfico**. Por conseguinte, existe um grande número de alelos na população para cada um dos genes. Cada indivíduo herda dos pais um conjunto restrito de alelos. Os conjuntos de genes MHC tendem a ser herdados como bloco ou **haplótipo**, por ser relativamente rara a ocorrência de eventos de relação cruzada nesse *locus*.

Muito se sabe acerca da organização estrutural e da sequência dos genes e das proteínas do MHC. Entretanto, talvez a informação mais importante tenha sido obtida da análise

QUADRO 8.2 Algumas citocinas importantes: Produção e Função

Família das citocinas	Principal fonte celular	Algumas funções biológicas
Interferons		
Alfa	Leucócitos	Antiviral, imunorreguladora (aumenta a expressão de MHC I e ativa NK), antiproliferativa
Beta	Fibroblastos, células epiteliais	Antiviral, imunorreguladora (aumenta a expressão de MHC I e ativa NK), antiproliferativa
Gama	Células T e células NK	Antiviral, imunorreguladora (aumenta a expressão de MHC I, II e ativa macrófagos), antiproliferativa
TNF		
Alfa	Macrófagos e linfócitos	Ativa macrófagos e células citotóxicas, induz caquexia e a produção de proteínas de fase aguda e citocinas (IL-1, IL6)
Beta	Células T	Ativa macrófagos e induz a produção de citocinas (IL-1, IL6)
Interleucinas		
IL-1	Diferentes tipos celulares: macrófagos e células dendríticas	Induz inflamação, febre e sepse, induz liberação de TNF- α .
IL-2	Células T	Induz proliferação e maturação de células T
IL-6	Diferentes tipos celulares	Ativa células B, mediador de reação de fase aguda
IL-10	Células T, monócitos/macrófagos	Inibe a produção de IFN- γ e de IL-12
IL-11	Células estromais da medula óssea, células mesenquimais	Efeito sinérgico sobre a hematopoiese e a trombopoiese, efeito citoprotetor em células epiteliais, induz imunossupressão
IL-12	Células do estroma de medula óssea	Induz a produção de IFN- γ , TNF- α e IL-2 por células T e NK
IL-15	Células T, astrócitos, micróglia, fibroblastos, células epiteliais	Atividade biológica semelhante a IL-2, induz proliferação de células mononucleares de sangue periférico e maturação de células NK (IL-1, IFN- γ , TNF- α)
IL-17 (6 membros) (IL-17 A-F)	Células Th17	Estimula células epiteliais, endoteliais e fibroblastos a produzir IL-6, IL-8, G-CSF e ICAM-1
IL-23	Macrófagos, células dendríticas	Similar a IL-12 (induz IFN- γ), ajuda na diferenciação de células T CD4 ⁺ em Th17
Fatores de crescimento		
M-CSF (fator de estimulação das colônias de macrófagos)	Monócitos	Proliferação células precursoras de macrófagos
G-CSF (fator de estimulação das colônias de granulócitos)	Macrófagos	Proliferação, diferenciação e ativação de neutrófilos
GM-CSF (fator de estimulação das colônias de granulócitos e macrófagos)	Células T, macrófagos	Proliferação células precursoras de granulócitos e de macrófagos
SCF (Fator de célula-tronco)	Células estromais de medula óssea, fibroblastos, células hepáticas fetais	Proliferação e diferenciação de células linfoides e mieloides
TGF- β (fator de transformação de crescimento beta)	Diversas células	Atividade anti-inflamatória, diferenciação de células T em células T _{regs} , na presença de IL-6 diferencia células T CD4 ⁺ em Th17
VEGF-A (fator de crescimento endotelial vascular A)	Diversas células	Estimulação da vasculogênese e da angiogênese
Quimiocinas		
IL-8 (CXCL8)	Diversas células	Ativação de neutrófilos e quimiotaxia
Rantes (CCL5)	Diversas células	Quimiotático para células T, monócitos, eosinófilos e basófilos
CXCL9, CXCL10, CXCL11	Diversas células	Quimiotático para células Th1 (célula T CXR3 positivo) e induzida por IFNs
Moléculas de adesão		
ICAM-1 (molécula de adesão intercelular-1)	Células endoteliais	Adesão e migração
VCAM-1 (molécula de adesão celular vascular-1)	Leucócitos	Adesão e migração
E-selectina	Células endoteliais	Adesão e migração

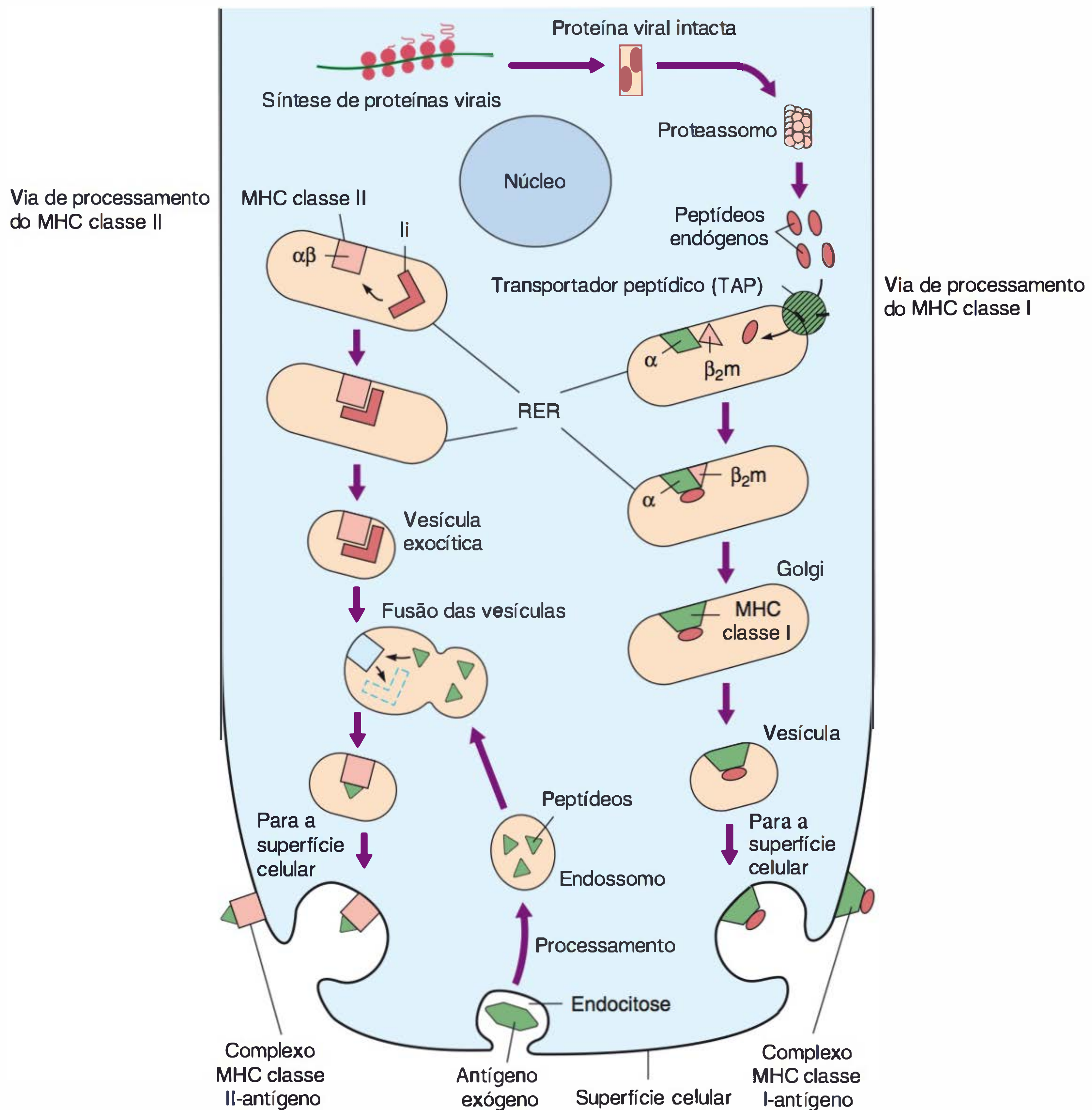


FIGURA 8.2 Vias de processamento antigênico. (MHC classe I e classe II). (Modificada e reproduzida, com autorização, de Parslow TG et al. [editores]: *Medical Immunology*, 10th ed. McGraw-Hill, 2001. © The McGraw-Hill Companies, Inc.)

radiográfica dos cristais de proteínas MHC. Esses elegantes estudos ajudaram a explicar a função das proteínas MHC. A análise radiográfica (Fig. 8.3) mostra que os domínios da molécula MHC da classe I, mais afastados da membrana, são constituídos de duas hélices α paralelas, acima de uma plataforma criada por uma lâmina β pregueada. Sem dúvida, toda a estrutura assemelha-se a uma fenda, cujo, os lados são formados pelas hélices α , tendo como soalho as lâminas β . A análise radiográfica também mostrou que a fenda era ocupada por um peptídeo. Em essência, portanto, o receptor de células T situa-se diante do antígeno peptídico ligado em uma fenda formada pela proteína MHC. A Figura 8.4A mostra um diagrama simplificado dessa interação.

As proteínas do MHC exibem ampla especificidade para os antígenos peptídicos e muitos peptídeos podem ser apresentados por qualquer alelo MHC (com ligação de um peptídeo de cada vez). As hélices α que formam a fenda de ligação

constituem o local dos resíduos de aminoácidos polimórficos nas proteínas MHC (*i.e.*, os que variam entre alelos). Isso significa que diferentes alelos podem ligar-se a diferentes antígenos peptídicos e apresentá-los. Por todos esses motivos, o polimorfismo MHC exerce importante efeito no reconhecimento dos antígenos.

A análise da função das células T, em que concerne à interação com moléculas MHC, revela que os antígenos peptídicos associados a moléculas MHC da classe I são reconhecidos por linfócitos T citotóxicos CD8-positivos, enquanto os antígenos peptídicos associados às moléculas MHC da classe II são reconhecidos por células T auxiliares CD4-positivas.

Processamento e apresentação antigênica

O processamento e a apresentação do antígeno significam a maneira pela qual os antígenos se associam às próprias

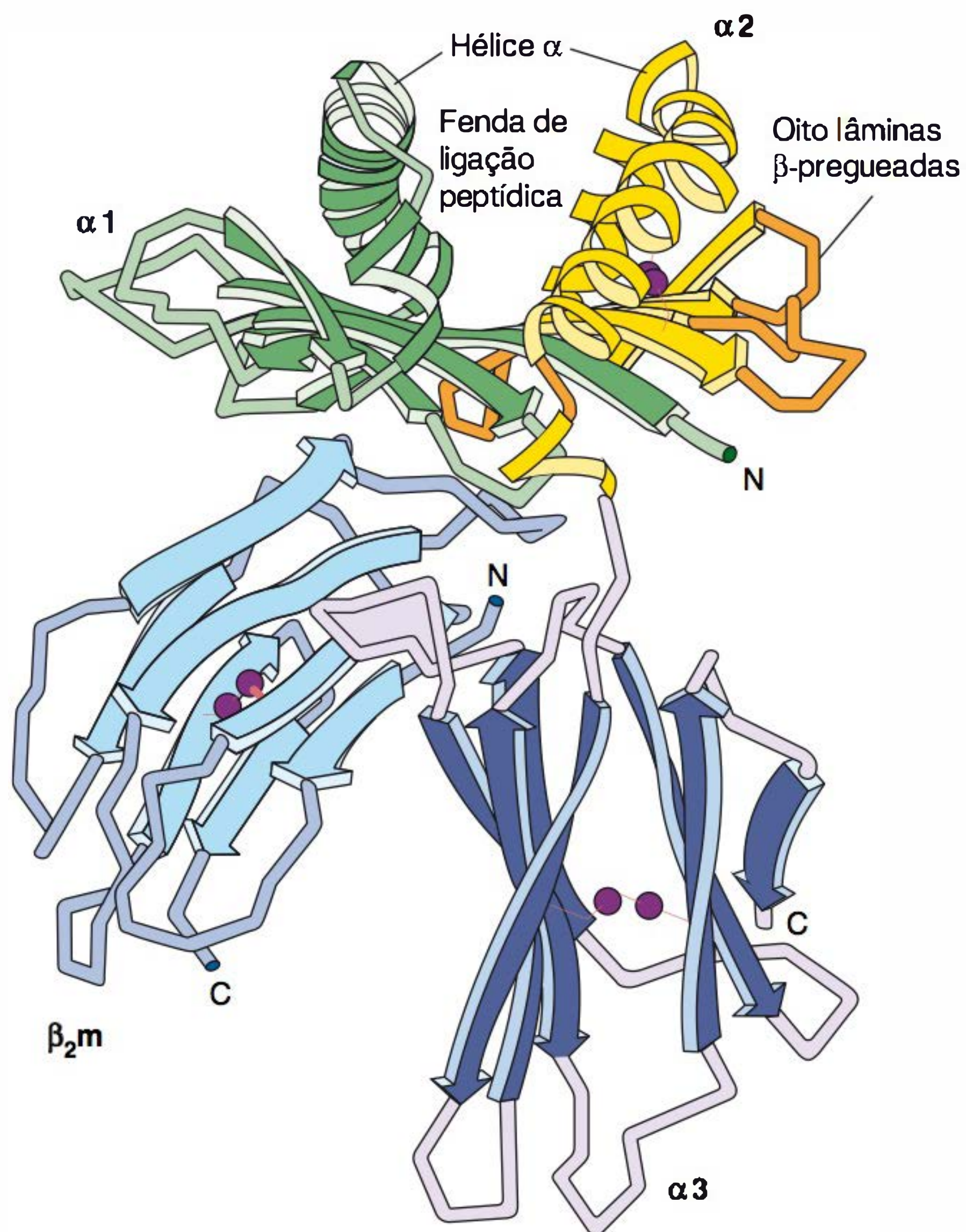


FIGURA 8.3 Diagrama estrutural da molécula de HLA de classe I. (Reproduzida, com autorização, de Bjorkman PJ et al. Structure of the human class I histocompatibility antigen, HLA-A2. Nature 1987; 329:506)

moléculas do MHC para a apresentação de células T com receptores apropriados. As proteínas de antígenos exógenos, como as bactérias, são internalizadas por vesículas endocíticas no interior das APCs, como os vários tipos de células dendríticas e os macrófagos. Em seguida, conforme ilustra a Figura 8.2, são expostas a proteases celulares existentes nas vesículas intracelulares. São produzidos peptídeos de cerca de 10 a 30 resíduos

de aminoácidos em vesículas endossômicas. As vesículas endossômicas então se fundem com vesículas exocíticas contendo moléculas MHC da classe II.

Como outras glicoproteínas da membrana, as moléculas MHC da classe II são sintetizadas no retículo endoplasmático rugoso e, em seguida, processadas através do aparelho de Golgi. Um terceiro polipeptídeo, a **cadeia invariante (Ii)**, protege o local de ligação do dímero $\alpha\beta$ da classe II, até que o pH reduzido do compartimento criado, após a fusão com uma vesícula endossômica, provoque a dissociação da cadeia Ii. Depois, o complexo MHC da classe II-antígeno peptídico é transportado até a superfície celular para sua exibição e reconhecimento por um receptor de células T de uma célula T CD4. As células T CD4 podem agora ativar outras células T e B.

A interação dos antígenos endógenos, no interior de uma célula infectada por um vírus e as moléculas de MHC classe I, está ilustrada na Figura 8.2. Resumidamente, as proteínas citosólicas são degradadas por um complexo proteolítico conhecido como **proteassomo**. Os peptídeos citosólicos têm acesso a moléculas MHC da classe I, nascentes no retículo endoplasmático rugoso através de sistemas transportadores de peptídeo TAPs. Os genes do TAP também são codificados no MHC. No interior do lúmen do retículo endoplasmático, os antígenos peptídicos com comprimento de cerca de 8 a 10 resíduos formam complexos com proteínas MHC da classe I nascentes e cooperam com a β_2 -microglobulina para criar um complexo antígeno-peptídeo MHC da classe I estável e totalmente dobrado, transportado, em seguida, até a superfície celular para exibição e reconhecimento por células T citotóxicas.

O sulco de ligação da molécula da classe I é mais limitado do que o da molécula da classe II, e, por essa razão, são encontrados peptídeos mais curtos nas moléculas da classe I do que nas moléculas MHC da classe II. Uma vez que as células T citotóxicas reconheçam o peptídeo antigênico via molécula MHC classe I, elas podem destruir as células infectadas por um vírus.

Diversos vírus tentam vencer a resposta imunológica ao interferir nas vias de processamento dos antígenos. Por exemplo, a proteína Tat do HIV é capaz de inibir a expressão das moléculas MHC da classe I. Uma proteína do herpes-vírus liga-se a TAPs, impedindo o transporte dos peptídeos virais para o

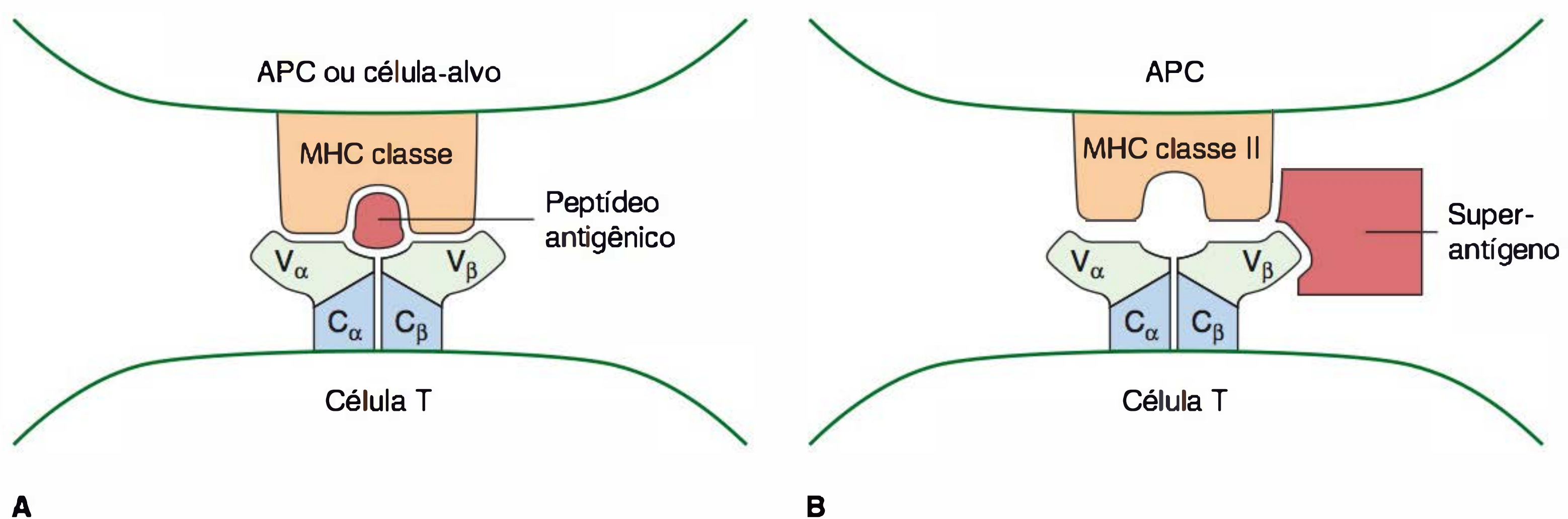


FIGURA 8.4 Ligação do antígeno ao MHC e ao receptor de célula T. (A) um modelo de interação entre o peptídeo antigênico, o MHC e o TCR, é mostrado. As regiões V_α e V_β do TCR interagem com as hélices α , que formam o sítio de ligação ao peptídeo do MHC. (B) um modelo de interação entre um superantígeno, o MHC e o TCR, é mostrado. O superantígeno interage com a região V_β do TCR e com a região externa do sítio de ligação ao antígeno da molécula de MHC classe II. (Adaptada, com autorização, do Stites DG et al. [editores]: *Medical Immunology*, 9th ed. McGraw-Hill, 1997. © The McGraw-Hill Companies, Inc.)

retículo endoplasmático, em que estão sendo sintetizadas moléculas da classe I. Uma consequência de tais mecanismos inibitórios é o não reconhecimento das células infectadas pelos linfócitos citotóxicos.

Alguns **superantígenos** são capazes de ligar-se a moléculas MHC fora da fenda de ligação de peptídeo. Uma das consequências é que, enquanto um peptídeo em complexo com uma molécula MHC, normalmente, irá estimular apenas uma pequena porcentagem das células T no indivíduo, os superantígenos produzem a ativação inespecífica de até 10% das células T. São exemplos de superantígenos certas toxinas bacterianas, como as enterotoxinas estafilocócicas, a toxina da síndrome do choque tóxico e a exocitose A pirogênica de estreptococos do grupo A. Esses antígenos ligam-se à parte “externa” da proteína MHC e ao receptor de células T (Fig. 8.4B). Eles se mostram ativos em concentrações muito baixas (10^{-9} mol/L) e fazem com que as células T, que expressam sequências V β particulares, sejam estimuladas, liberando grandes quantidades de citocinas, como a IL1 e o TNF. A liberação de grandes quantidades de citocinas (tempestade de citocinas [*cytokine storm*]), em decorrência da estimulação de um grande número de linfócitos T, é o que explica em grande parte a patogênese das doenças causadas por microrganismos que expressam superantígenos.

A compreensão mais detalhada dos mecanismos de processamento antigênico ajudou a elucidar as funções das células T em diferentes etapas da resposta imune, como, por exemplo, a falta de resposta das células T a carboidratos, que pode ser explicada, em parte, pela incapacidade desses antígenos em se encaixarem, com grande afinidade ao sítio de ligação ao antígeno do TCR. Já, a necessidade de antígenos proteicos passarem por um processo proteolítico, seria devido a essas células somente reconhecerem determinantes antigênicos lineares. Assim, o tipo do MHC que irá apresentar o antígeno dependerá da natureza do próprio antígeno e como ele é processado do interior da APC.

Células B e anticorpos

A imunidade humoral é mediada por anticorpos que são produzidos pelas células B do sistema imunológico. Cada indivíduo apresenta grande grupo de linfócitos B diferentes ($\sim 10^{11}$), com uma vida útil de dias ou semanas. São encontrados na medula óssea, nos linfonodos e nos tecidos linfóides, associados a mucosas (*mucosa associated lymphoid tissue* [MALT]), (p. ex., tecido linfoide associado ao intestino [GALT], tonsilas e apêndice).

A. Receptor antigênico em célula B

As células B expressam uma única molécula de imunoglobulina ($\sim 10^5$ cópias por célula) em sua superfície. Essa imunoglobulina funciona como receptor para célula B (*B-cell receptors* [BCRs]) a um único antígeno específico. Logo, cada célula B responde a somente um antígeno ou a grupos de antígenos molecularmente semelhantes. Todas as células B imaturas expressam imunoglobulinas da classe IgM ou IgD. Essas células também expressam, em sua superfície, receptores para fração Fc de imunoglobulinas e para diversas moléculas do sistema complemento.

Um antígeno interage com o clone do linfócito B, que expressa o BCR que melhor se ajusta a ele. Com a ligação do antígeno ao BCR, a célula B entra em mitose (**expansão clonal**).

Esse clone se diferencia em plasmócito, que começa a secretar anticorpos. Uma vez que cada indivíduo pode apresentar 10^{11} moléculas de anticorpos diferentes, há um sítio de ligação na superfície da célula B, para praticamente qualquer determinante antigênico.

O passo inicial na produção de anticorpos se inicia com a ligação do antígeno à molécula BCR na superfície da célula B, que é seguida por diferentes etapas: (1) o complexo antígeno-BCR é internalizado pela célula B e o antígeno é degradado em pequenas moléculas, que são expressas na superfície celular via molécula de MHC classe II. (2) O complexo peptídeo-MHC classe II na célula B é reconhecido pela célula T CD4 específica para o antígeno apresentado. Essas células T, geralmente, já interagiram previamente com células dendríticas e se tornaram ativadas em resposta ao mesmo patógeno. Além disso, a interação das células B com as células T ocorre devido à migração dos antígenos nas áreas de fronteira desses dois tipos celulares nos órgãos linfóides secundários. (3) Quimiocinas como a CXCL13 e seu receptor (CXCR5) exercem um papel importante nessa interação. (4) O ligante de CD40 (CD40L) na superfície das células T se ligam ao CD40 expressado na superfície das células B (molécula coestimulatória) e a célula T produz diferentes citocinas, tais como IL-4, IL-5, e IL-6, que induzem a proliferação das células B. (5) Finalmente, as células B ativadas migram para os folículos e se proliferam, formando os centros germinativos, em que ocorre a hipermutação somática e a troca de classe da molécula de anticorpo. As células B nesses centros germinativos se diferenciam em plasmócitos produtores de anticorpos e em células B de memória. Detalhes sobre esse processo podem ser encontrados em Murphy et al. (2011).

Deve-se ressaltar que alguns antígenos bacterianos podem estimular diretamente a produção de anticorpos, e não necessitam de ajuda das células T para a ativação das células B. Esses antígenos são, geralmente, polissacarídeos e lipopolissacarídeos, sendo denominados antígenos timo independentes e induzindo uma resposta de célula B, com limitada troca de classe e sem indução de memória imunológica.

B. Estrutura do anticorpo e função efetora

Os anticorpos são imunoglobulinas, que reagem especificamente com o antígeno que induziu a sua produção. Eles correspondem a cerca de 20% das proteínas plasmáticas. Os anticorpos produzidos em um animal em resposta a um único antígeno são heterogêneos, pois são formados a partir de diferentes clones, cada um expressando um anticorpo capaz de interagir com um determinante antigênico diferente (**anticorpos policlonais**). As imunoglobulinas produzidas a partir de um único clone, como, por exemplo, uma célula plasmática tumoral (mieloma), são homogêneas e denominados **anticorpos monoclonais**. Os anticorpos monoclonais podem ser produzidos a partir da fusão de uma célula de mieloma com um linfócito produtor de anticorpos. Tal **hibridoma** pode produzir uma quantidade ilimitada de anticorpos monoclonais *in vitro*. O estudo dos anticorpos monoclonais forneceu importantes informações sobre a estrutura e a função dos anticorpos.

As moléculas de imunoglobulinas (Ig) compartilham características estruturais em comum, por exemplo, todas as imunoglobulinas são compostas de uma cadeia polipeptídica leve e pesada. Os termos, leve e pesado referem-se ao peso molecular

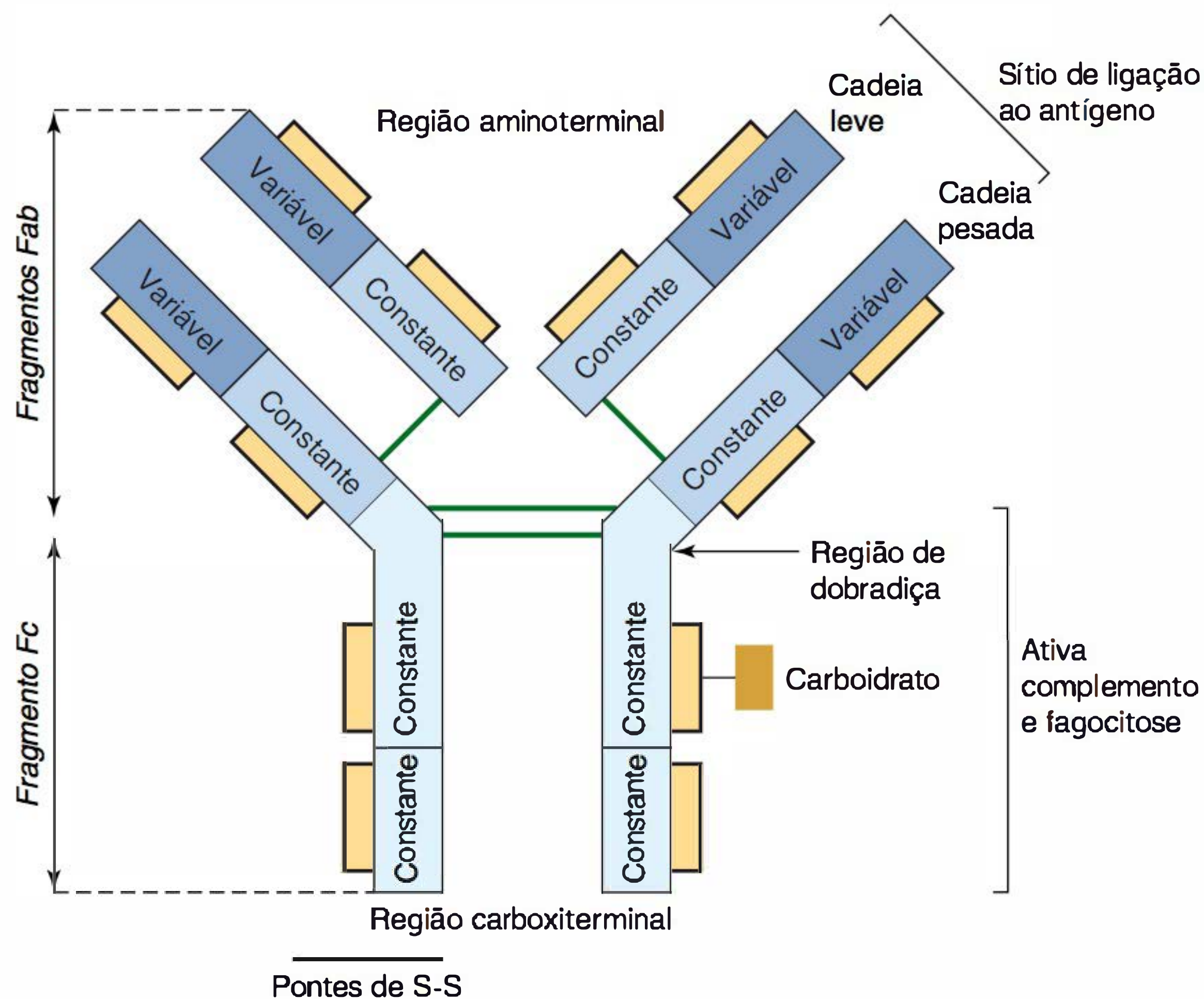


FIGURA 8.5 Representação esquemática de uma molécula de IgG, indicando as regiões constantes e variadas das cadeias leves e pesadas. O fragmento Fab contém o sítio de ligação ao antígeno e o fragmento Fc é região cristalizável.

— isto é, as cadeias leves têm massa molecular de cerca de 25.000 dáltons, enquanto as cadeias pesadas têm massa molecular de aproximadamente 50.000 dáltons. Cada molécula Ig consiste em duas **cadeias leves (L)** e duas idênticas **cadeias pesadas (H)** ligadas por pontes dissulfeto. As cadeias leves pertencem a um de dois tipos: κ (capa) ou λ (lambda); a classificação baseia-se nas diferenças de aminoácidos observadas em regiões constantes (Fig. 8.5). Ambos os tipos ocorrem em todas as classes de imunoglobulinas (IgG, IgM, IgA, IgE e IgD), mas qualquer molécula de imunoglobulina contém apenas um tipo de cadeia L. A porção aminoterminal de cada cadeia L contém parte do local de ligação do antígeno. As **cadeias pesadas (heavy, H)** são diferentes para cada uma das cinco classes de imunoglobulinas e denominam-se γ (gama), μ (mu), α (alfa), δ (delta) e ϵ (épsilon) (Quadro 8.3). A porção aminoterminal de cada cadeia H participa no local de ligação do antígeno; a outra porção carboxiterminal forma o fragmento Fc (Fig. 8.5), que

exerce várias atividades biológicas (p. ex., ativação do complemento e ligação dos receptores de superfície celular).

Assim, uma molécula de anticorpo sempre consiste em cadeias H e L idênticas. A molécula de anticorpo mais simples tem a forma de um Y (Fig. 8.5) e consiste em quatro cadeias polipeptídicas: duas cadeias H e duas L. As quatro cadeias estão ligadas de modo covalente por ligações dissulfeto.

Se uma molécula de anticorpo for tratada com uma enzima proteolítica (p. ex., papaína), ocorrerá a ruptura das ligações peptídicas na **região da dobradiça**. Essa ruptura produz dois fragmentos Fab idênticos, que mantêm o sítio de ligação do antígeno, e um fragmento Fc, envolvido na transferência placentária, na fixação do complemento, na ligação a várias células e em outras atividades biológicas.

As cadeias L e H são subdivididas em **regiões variáveis** e **regiões constantes**. As regiões são constituídas de segmentos repetidos dobrados tridimensionalmente, denominados

QUADRO 8.3 Características importantes de alguns produtos gênicos do MHC humano classe I e classe II

	Classe I	Classe II
Locí genéticos (lista parcial)	HLA-A, HLA-B e HLA-C	HLA-DP, HLA-DQ e HLA-DR
Composição polipeptídica	MM de 45.000 + β_2M (MM de 12.000)	Cadeia α (MM de 33.000), cadeia β (MM de 29.000), cadeia li (MM de 30.000)
Distribuição celular	A maioria das células somáticas nucleadas com exceção das células neurológicas e da retina	Células apresentadoras de antígenos (macrófagos, células B, etc.), células T humanas ativadas por IFN- γ
Apresentação de antígenos peptídicos para	Células T CD8	Células T CD4
Tamanho do peptídeo ligado	8 a 10 aminoácidos	10 a 30 ou mais aminoácidos

domínios, cuja estrutura foi determinada com alta resolução por cristalografia de raios X.

A cadeia L consiste em um domínio variável (V_L) e um domínio constante (C_L). A maioria das cadeias H consiste em um domínio variável (V_H) e três ou mais domínios constantes (C_H). Cada domínio possui cerca de 110 aminoácidos de comprimento. As regiões variáveis são responsáveis pela ligação do antígeno, enquanto as regiões constantes respondem pelas funções biológicas descritas adiante.

No interior das regiões variáveis das cadeias L e H encontram-se sub-regiões, que consistem em sequências de aminoácidos extremamente variáveis (**hipervariáveis**), que formam o local de ligação do antígeno. As regiões hipervariáveis formam a área da molécula do anticorpo complementar em estrutura ao determinante antigênico ou epítipo, e, por isso, também são conhecidas como regiões de determinantes da complementaridade (*complementarity-determining regions* [CDR]). Apenas 5 a 10 aminoácidos em cada região hipervariável constituem o local de ligação do antígeno. A ligação do antígeno não é covalente e envolve forças de Van der Waals, forças eletrostáticas e outras forças fracas, bem como pontes de hidrogênio e outras ligações.

Classes das imunoglobulinas

A. IgG

Cada molécula de IgG consiste em duas cadeias L e duas cadeias H ligadas por pontes de dissulfeto (forma molecular H_2L_2). Como possui dois sítios idênticos de ligação do antígeno, é denominada divalente. Existem quatro subclasses de IgG (IgG1, IgG2, IgG3 e IgG4), com base em as diferenças das sequências de aminoácidos da região constante da cadeia pesada, o número e localização das pontes de dissulfeto. A IgG1 representa 65% da IgG total. A IgG2 é dirigida contra antígenos

polissacarídicos e pode representar uma importante defesa do hospedeiro contra as bactérias encapsuladas. A IgG3 é mais efetiva como ativador de complemento, em virtude de sua região de dobradiça mais rígida, enquanto a IgG4 não ativa complemento devido a sua estrutura mais compacta.

A IgG é o anticorpo predominante nas respostas secundárias e constitui uma importante defesa contra as bactérias e os vírus. Trata-se do único anticorpo que atravessa a placenta, sendo, por isso, a imunoglobulina mais abundante nos recém-nascidos. Esta classe também media o processo de opsonização por meio da ligação do complexo antígeno-anticorpo aos receptores Fc na superfície dos macrófagos e de outros tipos celulares.

B. IgM

É a principal imunoglobulina produzida no início da resposta imunológica *primária*. A IgM é encontrada na superfície de praticamente todas as células B não comprometidas. É constituída de cinco unidades H_2L_2 (cada qual semelhante a uma unidade da IgG) e uma molécula da cadeia J (junção) (Figura 8.6). O pentâmero (MM de 900.000 dáltons) possui um total de 10 locais idênticos de ligação de antígeno e, portanto, uma valência de 10. Trata-se da imunoglobulina mais eficiente nas reações de aglutinação, fixação do complemento e outras reações antígeno-anticorpo, e é também importante na defesa contra as bactérias e os vírus. Pode ser produzida por um feto que esteja sofrendo uma infecção. Como a sua interação com determinado antígeno pode envolver os 10 sítios de ligação, é, entre todas as imunoglobulinas, a que apresenta maior avidéz. Além disso, a presença de IgM no soro pode ser útil no diagnóstico de diferentes doenças infecciosas, uma vez que essa classe de imunoglobulina não atravessa a barreira placentária. Assim, sua presença no feto ou neonato é uma evidência de infecção ativa e intrauterina.

C. IgA

Consiste na principal imunoglobulina encontrada em secreções como o leite, a saliva e a lágrima, bem como nas secreções das vias respiratórias e dos tratos intestinal e genital. Protege as mucosas contra o ataque de bactérias e vírus.

Cada molécula de IgA secretora consiste em duas unidades H_2L_2 , bem como em uma molécula da cadeia J e uma molécula de componente secretor. O componente secretor é uma proteína derivada da clivagem do receptor poli-Ig, que liga dímeros da IgA e facilita o seu transporte por meio das células epiteliais da mucosa. Existe certa quantidade de IgA no soro em forma de monômero H_2L_2 . Há pelo menos duas subclasses, IgA1 e IgA2. Algumas bactérias (p. ex., neissérias) são capazes de destruir a IgA1 ao produzirem uma protease e, por conseguinte, podem vencer a resistência mediada por anticorpos nas superfícies das mucosas.

D. IgE

A região Fc da IgE liga-se a um receptor sobre a superfície dos mastócitos, basófilos e eosinófilos. A IgE ligada atua como receptor para o antígeno que estimulou sua produção, e o complexo antígeno-anticorpo resultante desencadeia respostas alérgicas do tipo imediato (anafilático) por meio da liberação de mediadores.

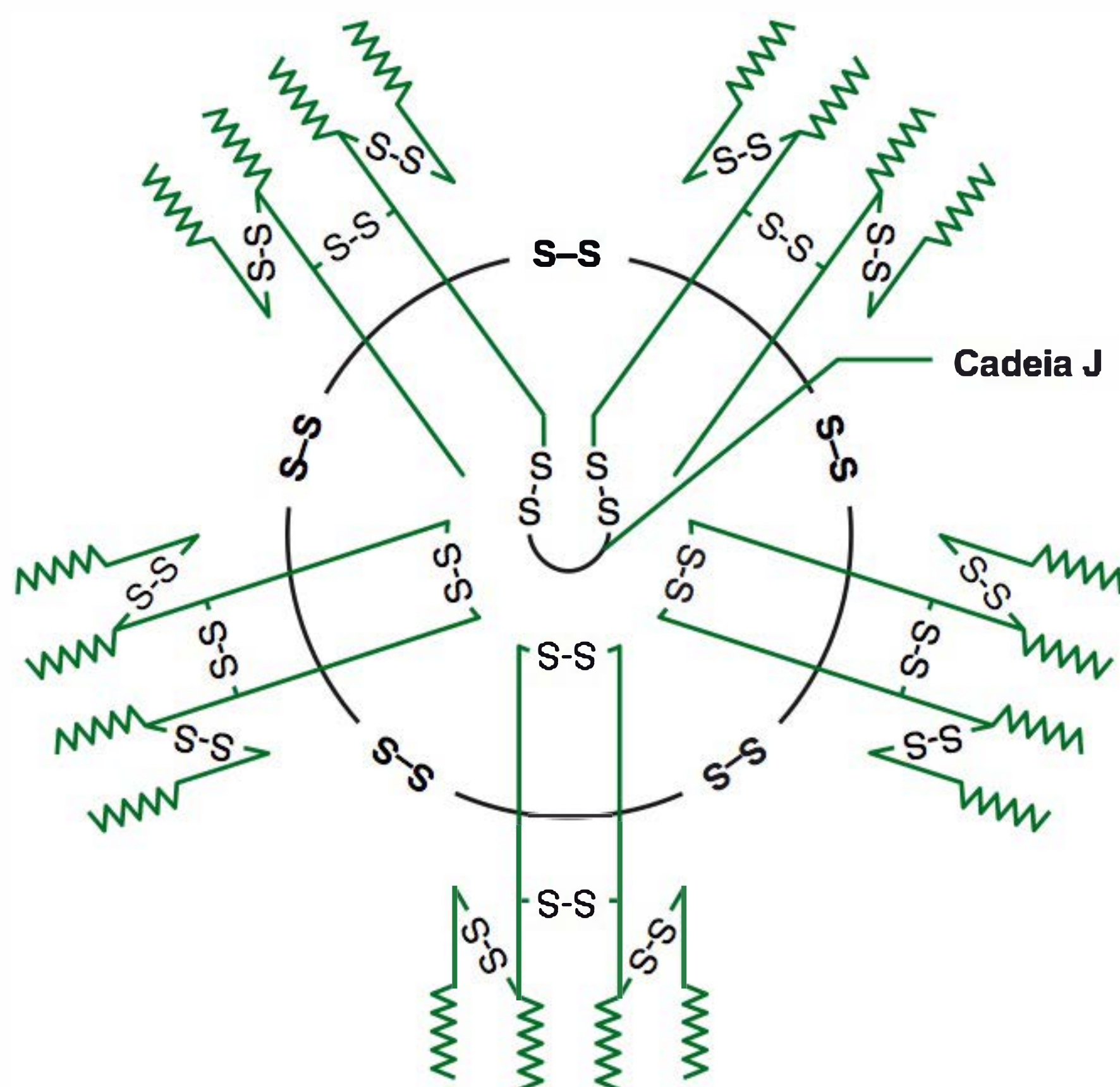


FIGURA 8.6 Diagrama esquemático da estrutura pentamérica da molécula de IgM humana. Os monômeros de IgM são conectados entre si e na cadeia J por pontes de dissulfeto.

E. IgD

Atua como receptor de antígeno quando presente sobre a superfície de certos linfócitos B. No soro, é encontrada apenas em diminutas concentrações. Até o momento, as funções dessa imunoglobulina não são completamente conhecidas.

Genes das imunoglobulinas e geração da diversidade

Foram desenvolvidos mecanismos genéticos especiais para produzir o grande número de moléculas de imunoglobulinas (cerca de 10^{11}) que aparece no hospedeiro em resposta à estimulação antigênica, sem necessidade de um número excessivo de genes. Por conseguinte, os genes das imunoglobulinas (e, como resumido adiante, os dos receptores de células T) sofrem recombinação somática para produzir a enorme diversidade de especificidades de anticorpos.

Cada cadeia de imunoglobulina consiste em uma região variável (V) e uma região constante (C). Para cada tipo de cadeia de imunoglobulina (*i.e.*, a cadeia leve κ e a cadeia leve λ) e as cinco cadeias pesadas (γ H, μ H, α H, ϵ H e δ H) existe um reservatório distinto de segmentos gênicos localizado em diferentes cromossomos. Em seres humanos, as famílias multigenes são encontradas nos seguintes cromossomos λ , cromossomo 22; κ , cromossomo 2; e a família de cadeia pesada, cromossomo 14. Cada um desses três *loci* contém um conjunto de diferentes segmentos V amplamente separados dos segmentos C. Durante a diferenciação das células B, o DNA sofre rearranjo para que os segmentos gênicos selecionados se tornem adjacentes entre si no genoma. Uma família de enzimas conhecidas como as V(D)J recombinases é responsável por esse processo de rearranjo gênico.

A região variável de cada cadeia L é codificada por dois segmentos: V e J. A região variável de cada cadeia H é codificada por três segmentos: V, D e J. Os segmentos são unidos em um único gene variável V funcional por rearranjo do DNA. Cada gene variável V organizado é transcrito com o gene constante C apropriado para produzir um RNA mensageiro (RNAm), que codifica a cadeia peptídica completa. As cadeias L e H são sintetizadas separadamente em polissomos e, por fim, reunidas no citoplasma para formar unidades H_2L_2 por meio de ligações dissulfeto. Em seguida, ocorre a adição de carboidrato durante a sua passagem pelos componentes da membrana celular (*p. ex.*, aparelho de Golgi), e a molécula de imunoglobulina é liberada da célula.

Esse mecanismo de rearranjo gênico permite a organização de enorme variedade de moléculas de imunoglobulina. A diversidade dos anticorpos depende (1) de inúmeros segmentos gênicos V, D e J; (2) da associação de combinações, isto é, de qualquer segmento gênico V com qualquer segmento D ou J; (3) da combinação aleatória de diferentes cadeias L e H; (4) de hipermutações somáticas; (5) da diversidade juncional criada pela junção imprecisa durante o rearranjo com a adição de nucleotídeos em que a enzima terminal desoxinucleotidil transferase forma uma junção completa.

Mudança de classe das imunoglobulinas

Inicialmente, todas as células B correspondentes a determinado antígeno possuem IgM específica contra esse antígeno e

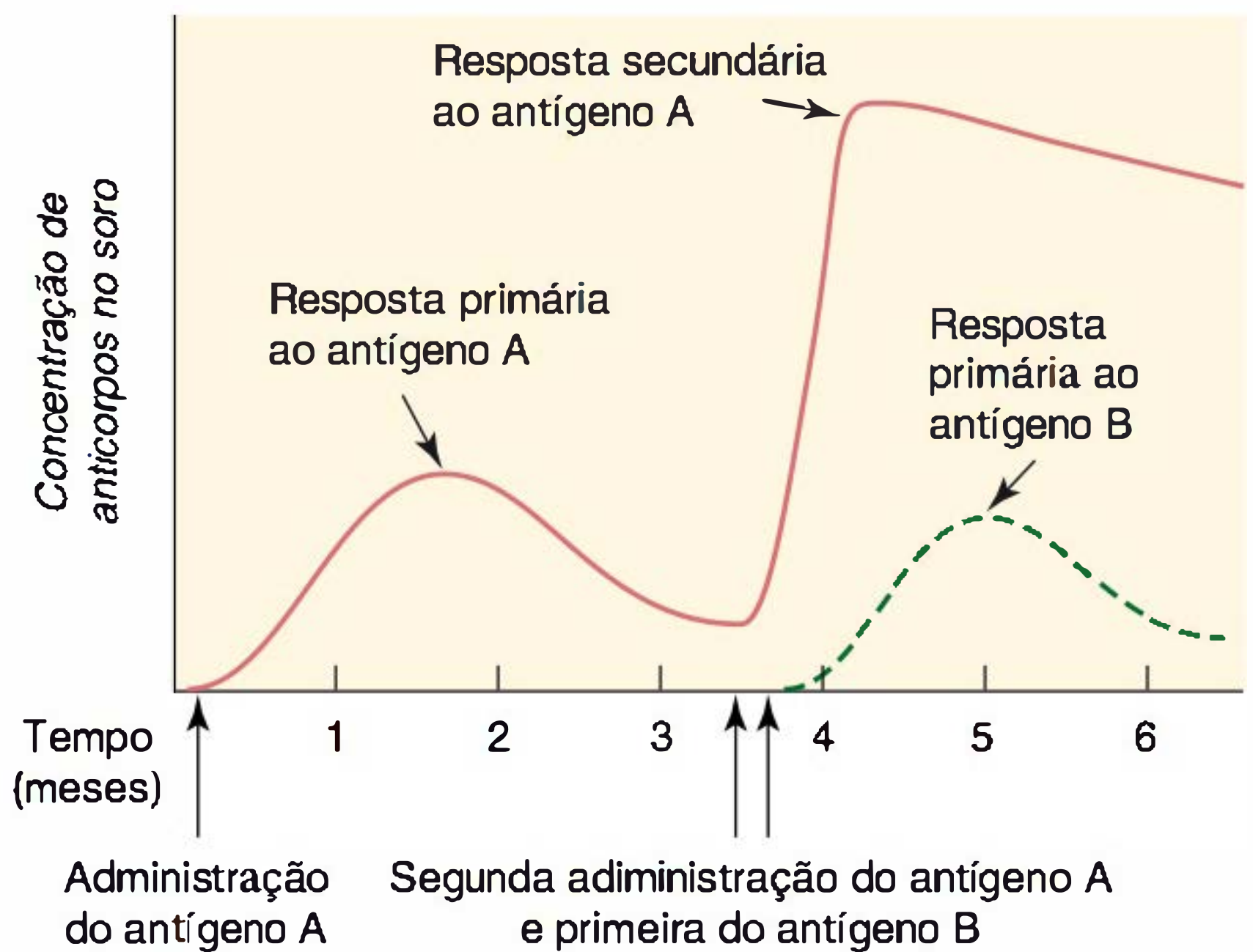


FIGURA 8.7 Intensidade da produção de anticorpos após primeira administração de um antígeno e após dose de reforço (segundo contato).

produzem IgM em resposta à exposição ao antígeno. Em seguida, o rearranjo gênico permite a elaboração de anticorpos da mesma especificidade antigênica, mas de diferentes classes de imunoglobulinas. Na **mudança de classe**, o mesmo gene V_H reunido é capaz de se associar, de modo sequencial, a diferentes genes C_H , de modo que a imunoglobulina produzida posteriormente (IgG, IgA ou IgE) tem a mesma especificidade da IgM original, porém com características biológicas diferentes. A mudança de classe depende das citocinas liberadas por células T e ocorre também após estimulação antigênica.

A resposta primária

Quando um indivíduo se depara com um antígeno pela primeira vez, o anticorpo, contra esse antígeno, torna-se detectável no soro depois de alguns dias ou semanas. Dependendo da natureza e da dose do antígeno, bem como da via de administração (*p. ex.*, oral, parenteral) a concentração sérica de anticorpos continua aumentando durante várias semanas e, em seguida, declina, podendo atingir níveis muito baixos (Fig. 8.7). Os primeiros anticorpos a serem formados são a IgM, seguida da IgG, da IgA ou de ambas. Os níveis de IgM tendem a declinar antes dos níveis de IgG.

A resposta secundária

No caso de um segundo encontro com o mesmo antígeno (ou com um antígeno estreitamente relacionado de “reação cruzada”), meses ou anos após a resposta primária, a resposta humoral é mais rápida e os níveis de anticorpos atingem valores mais elevados que os observados durante a resposta primária. Essa alteração na resposta é atribuída à persistência das “células de memória” sensíveis ao antígeno após a primeira resposta imunológica. Na resposta secundária, a concentração de IgM produzida é qualitativamente semelhante àquela observada após o primeiro contato com o antígeno; todavia, ocorre a produção de uma quantidade muito maior de IgG e o nível desta imunoglobulina tende a persistir por muito mais tempo do que na resposta primária. Além disso, tal anticorpo tende a ligar-se mais firmemente ao antígeno (*i.e.*, exibe maior afinidade) e, por conseguinte, dissocia-se com menos facilidade.

Funções protetoras dos anticorpos

Em virtude da estreita complementariedade estrutural entre os anticorpos e o antígeno que induziu a sua produção, os dois tendem a ligar-se toda vez que se encontram, tanto *in vitro* quanto *in vivo*. Essa ligação não é covalente e envolve forças eletrostáticas, forças de Van der Waals e outras forças fracas. Os anticorpos podem produzir resistência à infecção por cinco principais mecanismos.

1. Aumento da fagocitose — os anticorpos realizam opsonização de um antígeno estranho (revestimento), permitindo que o mesmo possa ser mais facilmente reconhecido por fagócitos. Além disso, a imunidade mediada por anticorpos contra bactérias é mais eficaz quando dirigida contra as infecções microbianas, cuja virulência está relacionada com cápsulas de polissacarídeos (p. ex., pneumococos, *Haemophilus* spp., *Neisseria* spp.). Nessas infecções, os anticorpos formam complexos com os antígenos capsulares, tornando os microrganismos suscetíveis à ingestão por células fagocíticas e a sua destruição no interior das células.

2. Neutralização viral — anticorpos direcionados especificamente contra proteínas virais podem se ligar à partícula viral, bloqueando sua capacidade de se aderir ao seu receptor celular. Assim, como o vírus não invade a célula hospedeira, sua replicação fica comprometida.

3. Neutralização de toxinas — anticorpos podem neutralizar toxinas de diferentes microrganismos (p. ex., toxina diftérica, tetânica e botulínica) e inativar seus efeitos nocivos.

4. Lise mediada por complemento — a ligação de anticorpos a proteínas virais na superfície de uma célula infectada ou de um microrganismo pode ativar o sistema complemento, resultando em lise celular.

5. Citotoxicidade celular dependente de anticorpo (ADCC) — a adesão de anticorpos a proteínas virais na superfície de células infectadas pode levar a interação dessas células revestidas de anticorpos, com diferentes tipos celulares (células NK, PMNs, macrófagos e células T CD8⁺), resultando em sua lise. Uma vez que esses anticorpos são protetores, diferentes estratégias são utilizadas para induzir sua produção (imunidade ativa), ou para sua administração no hospedeiro (imunidade passiva).

A. Imunidade ativa

A imunidade ativa é induzida após contato com um antígeno estranho (p. ex., microrganismos e seus produtos). Esse contato pode ser fruto de uma infecção clínica ou subclínica, de uma imunização com agentes infecciosos atenuados, inativados ou com antígenos desses agentes, do contato com produtos microbianos (p. ex., toxinas e toxoides), e por transplantes de células estranhas. Em todos esses exemplos, o hospedeiro ativamente produz anticorpos. Contudo, a proteção é retardada até que a sua produção alcance uma concentração efetiva.

B. Imunidade passiva

A imunidade passiva é gerada pela administração de anticorpos pré-formados. A principal vantagem desse tipo de imunidade

é a pronta disponibilidade de uma grande quantidade de anticorpos. Essa técnica pode ser útil contra certos vírus (p. ex., vírus da hepatite B), após acidentes com instrumentos perfurocortantes de indivíduos não vacinados*. Além dos efeitos protetores mediados por anticorpos, efeitos deletérios podem ocorrer. A imunidade passiva pode desencadear reações de hipersensibilidade, caso esses anticorpos sejam de outra espécie. Já na imunidade ativa, a ligação dos anticorpos ao antígeno leva à formação de imunocomplexos circulantes, em que sua deposição nos tecidos resulta no desenvolvimento de disfunções, como, por exemplo, a deposição de imunocomplexos nos rins pode induzir glomerulonefrite a partir de uma infecção estreptocócica.

Células T

A. Imunidade de base celular

A imunidade humoral é importante nas enfermidades mediadas por toxinas, nas infecções microbianas, nas quais o principal fator de virulência é a cápsula polissacarídica e como parte da resposta do hospedeiro a determinadas infecções virais. Contudo, a imunidade de base celular desempenha uma função central na defesa do hospedeiro a uma variedade de patógenos. Nessa seção, será revisado o desenvolvimento das células T, sua proliferação e diferenciação e, finalmente, suas funções efetoras.

1. Desenvolvimento das células T — No interior do timo, as células progenitoras das células T sofrem diferenciação, sob a influência de hormônios tímicos, passando a expressar o receptor de célula T (TRC). Esses TCRs passam por um processo de recombinação dos segmentos gênicos VDJ, que codifica para a cadeia beta do TCR, seguido pelo rearranjo da cadeia alfa, assim, criando um TCR $\alpha\beta$ funcional. A maioria das células expressa TCR $\alpha\beta$, porém algumas células T podem expressar TCR $\gamma\delta$. Essas células se tornam agora positivas, tanto para expressão de CD4 e CD8 quanto para moléculas correceptoras. A esse ponto, as células T expressam em sua superfície um TCR funcional. Em seguida, as células T sofrem processos de seleção positiva e negativa, que resultam em retenção das células dotadas dos receptores de antígenos de maior utilidade, isto é, os específicos para os antígenos não próprios (estranhos). Esses antígenos também são somente reconhecidos por moléculas de MHC próprias (restrição de MHC). Os clones potencialmente autoimunes são suprimidos ou funcionalmente inativados (tornando-se *anérgicos*). Uma consequência dos processos de seleção é que cerca de 95% dos timócitos morrem no timo. Como consequência do processo de maturação final, essas células perdem a capacidade de expressão concomitante de CD4 e CD8 e se tornam células T TRC/CD3 positivas, que expressam CD4 ou CD8. Apenas uma minoria de células T em desenvolvimento expressa os receptores apropriados para serem retidos e sair para a periferia, onde podem maturar em células T efetivas.

* N. de R.T. A imunidade passiva também pode ocorrer de forma natural. Anticorpos maternos do isotipo IgG passam pela barreira placentária, fornecendo uma imunidade temporária para o neonato. Outro mecanismo de transmissão ocorre durante a amamentação, principalmente durante a primeira, pela presença de uma grande quantidade de anticorpos do isotipo IgG e IgA.

2. Receptor de célula T para antígenos — O receptor de células T é uma proteína heterodimérica transmembrana, constituída de duas cadeias ligadas por dissulfeto. Como mencionado anteriormente, existem duas classes diferentes de receptores de células T, a classe α e β e a classe γ e δ . As células T $\alpha\beta$ constituem o fenótipo celular T predominante, sendo subdivididas de acordo com a expressão de outros marcadores de superfície celular, as proteínas conhecidas como CD4 e CD8. As células T que expressam $\gamma\delta$ são relativamente raras nos seres humanos e parecem predispostas ao reconhecimento de antígenos bacterianos encontrados frequentemente — p. ex., certos glicolipídeos e lipídeos fosforilados. As células T $\gamma\delta$ são principalmente encontradas no epitélio dos tratos reprodutivo e gastrointestinal. Os TCRs apresentam regiões variáveis e constantes, como observado nas moléculas de anticorpos.

As proteínas receptoras de células T possuem regiões variáveis e constantes semelhantes às moléculas de anticorpos. As regiões variáveis localizam-se nas extremidades aminotermiais da cadeia polipeptídica, afastadas da membrana celular. Ambas as cadeias contribuem para o domínio variável, que interage com o antígeno apresentado por proteínas próprias codificadas no complexo principal de histocompatibilidade (MHC).

Os genes dos receptores de células T assemelham-se estreitamente aos genes das imunoglobulinas, e a produção de diversidade no receptor de células T é obtida, em grande parte, de modo análogo ao processo descrito anteriormente para as imunoglobulinas. Por conseguinte, existem inúmeros segmentos de regiões variáveis, que contribuem para um repertório de diferentes especificidades antigênicas; inúmeros segmentos V, D e J capazes de se combinar de diferentes maneiras. Existem mais segmentos J e D para os genes dos receptores de células T do que para os genes das imunoglobulinas.

Em todas as células T funcionais específicas do antígeno, as duas cadeias dos receptores de células T estão associadas, de modo não covalente, a seis outras cadeias polipeptídicas, compostas de quatro proteínas diferentes que formam o complexo CD3. As proteínas invariantes do complexo CD3 são responsáveis pela transdução do sinal recebido pelo receptor de células T ao reconhecer o antígeno no interior da célula. As quatro proteínas do complexo CD3 são proteínas transmembrana, que podem interagir com tirosinoquinasas citosólicas no interior da membrana. É essa interação que inicia os eventos bioquímicos de transdução de sinais que levam à transcrição gênica, à ativação celular e ao início das atividades funcionais das células T.

As moléculas CD4 e CD8, que diferenciam as duas principais classes funcionais de células T, atuam como moléculas correceptoras sobre a superfície da célula T. Durante o reconhecimento do antígeno, as moléculas CD4 e CD8 interagem com o complexo receptor de célula T e com moléculas MHC, na superfície da APC. A molécula CD4 liga-se a moléculas MHC da classe II, enquanto a molécula CD8 liga-se a moléculas MHC da classe I.

3. Proliferação e diferenciação das células T — A proliferação das células T depende de uma série de eventos. Na apresentação via molécula de MHC classe II, dois sinais são necessários para que as células T CD4 *naives* sejam ativadas. O primeiro sinal é dado pela interação do TCR na superfície da célula T,

com o complexo peptídeo-MHC da APC. A glicoproteína CD4 na célula T *naive* atua como correceptor se ligando ao MHC classe II. Essa ligação assegura a estabilidade entre a célula T e a APC. O segundo sinal (coestimulação), que é necessário para a ativação da célula T, é proveniente da interação das moléculas coestimulatórias da família B7 (B7-1/B7-2, também identifica como CD80 e CD86), na superfície da APC, com o CD28 na superfície da célula T. Uma vez, ocorrendo esses dois sinais (TCR-peptídeo-MHC classe II e CD28-B7-1/B7-2), uma série de vias bioquímicas são desencadeadas no interior celular, resultando na síntese de DNA, mitose e proliferação. Durante esses eventos, a célula T secreta citocinas (principalmente IL-2 e IFN- γ) e aumenta a expressão de receptores para IL-2, resultando na sua proliferação e diferenciação em células efetoras.

A ativação das células T CD8 ocorre quando seu TCR interage com o complexo peptídeo-MHC classe I expressado na superfície das células infectadas. A glicoproteína CD8 na superfície da célula T atua como correceptor se ligando à molécula de MHC classe I na APC. Novamente, essa interação mantém as duas células ligadas, durante a ativação-antígeno específica. Uma vez ativada, a célula T citotóxica produz IL-2 e IFN- γ , se multiplica e se diferencia em célula efetora. Ao contrário da ativação da célula T CD4, a célula T CD8 é, geralmente, independente de moléculas coestimulatórias e as células infectadas por vírus são destruídas através de grânulos citotóxicos liberados pela célula T CD8.

B. Funções efetoras da célula T

1. Células CD4 efetoras — As células T CD4 proliferativas podem se diferenciar em uma das quatro principais categorias de células efetoras: **células Th1**, **células Th2**, **células Th17** e **células regulatórias (célula Treg)**. Na presença de IFN- γ , Th1 predomina, levando à ativação de macrófagos e à indução de troca de classe em células B, para produção de diferentes subclasses de IgG. Ambos os casos, resultam na eliminação bacteriana tanto pela destruição direta por macrófagos ativados por IFN- γ quanto pela destruição facilitada por opsonização. Essas células Th1 também produzem IL-2 e IFN- γ . Na presença de IL-4, células Th2 predominam e ativam mastócitos e eosinófilos, além de estimular células B a produzirem anticorpos da classe IgE, ajudando na resposta imune contra helmintos. As células Th2 secretam IL-4, IL-5, IL-9 e IL-13. Quando TGF- β e IL-6 estão concomitantemente presentes, as células T CD4 se diferenciam em células Th17. Essas células produzem IL-17 e IL-22. A IL-17 é uma citocina que induz as células estromais e epiteliais a produzirem IL-8. A IL-8, por sua vez, é uma potente quimiocina responsável pelo recrutamento de neutrófilos e macrófagos em tecidos infectados. As células T se diferenciam em Treg, quando expostas apenas a TGF- β . Essas células são responsáveis pela supressão da resposta imune. Elas são identificadas pela expressão de CD4 e de CD25 na superfície e pelo fator de transcrição Foxp23. As células Treg produzem TGF- β e IL-10, as quais participam no processo de supressão da resposta imune.

2. Células CD8 efetoras — As células CD8 se diferenciam em células citotóxicas efetoras pela interação do TCR e pelo complexo peptídeo-MHC classe I na superfície de uma célula infectada. Após o reconhecimento, as células T CD8 promovem a destruição da célula infectada. O principal método de destruição

é através da liberação de grânulos citotóxicos, contendo perforinas, granzimas e uma terceira proteína, recentemente, identificada como granulizina. Assim, a liberação das perforinas pelas células T CD8, ajudam as granzimas e as granulinas a penetrarem na célula infectada. As granzimas iniciam a apoptose (morte celular programada) pela ativação das caspases celulares. Esse mesmo fenômeno também ocorre durante o reconhecimento de células tumorais pelas células T CD8. Para informações adicionais sobre esse tópico, ver Murphy et al., (2011).

COMPLEMENTO

O sistema do complemento inclui proteínas séricas e ligadas à membrana que atuam em ambos os sistemas de defesa do hospedeiro, o adaptativo e o inato. Essas proteínas são altamente reguladas e interagem através de uma série de cascatas proteolíticas. Vários componentes do complemento são proenzimas, que devem ser clivadas para a formação de enzimas ativas. Os componentes da via clássica são designados por C1 a C9 e a sequência de reação é C1-C4-C2-C3-C5-C6-C7-C8-C9.

Efeitos biológicos do complemento

A ativação do complemento resulta em quatro importantes funções efetoras: (1) citólise, (2) quimiotaxia, (3) opsonização e (4) anafilatoxina.

1. Citólise é a lise de células, tais como bactérias, células infectadas e células tumorais. Esse processo ocorre através do desenvolvimento do complexo de ataque à membrana (*membrane attack complex* [MAC]) (C5b, 6, 7, 8, 9), que é inserido na membrana de uma célula ou de um microrganismo. O MAC resulta na perda da integridade osmótica e lise celular.
2. Quimiotaxia é um processo no qual uma célula do sistema imunológico, usualmente um fagócito, é atraído e se move em direção ao fator solúvel. Por exemplo, o C5a é um potente fator quimiotático que estimula a migração de neutrófilos e de monócitos em direção ao antígeno.
3. Opsonização é um processo no qual um microrganismo ou um complexo antígeno-anticorpo se torna revestido de moléculas que se ligam a receptores específicos na superfície de fagócitos. Logo, a fagocitose é mais eficiente na presença de C3b, uma vez que fagócitos apresentam receptores específicos para essa molécula.
4. Anafilatoxinas promovem vasodilatação e aumento da permeabilidade vascular. Tanto C3a quanto C5a são potentes promotores de vasodilatação e permeabilidade vascular. Essas duas moléculas também estimulam mastócitos e basófilos a liberarem histamina. Essa função do complemento resulta no aumento do fluxo sanguíneo, no sítio de infecção ou estimulação, permitindo a entrada de mais componentes do sistema complemento (anticorpos, citocinas, quimiocinas e células do sistema imune), que irão, cada vez mais, amplificar a resposta imune.

Vias de ativação do complemento

Existem três principais vias de ativação do complemento: a via clássica, a via alternativa e a via de ativação mediada por

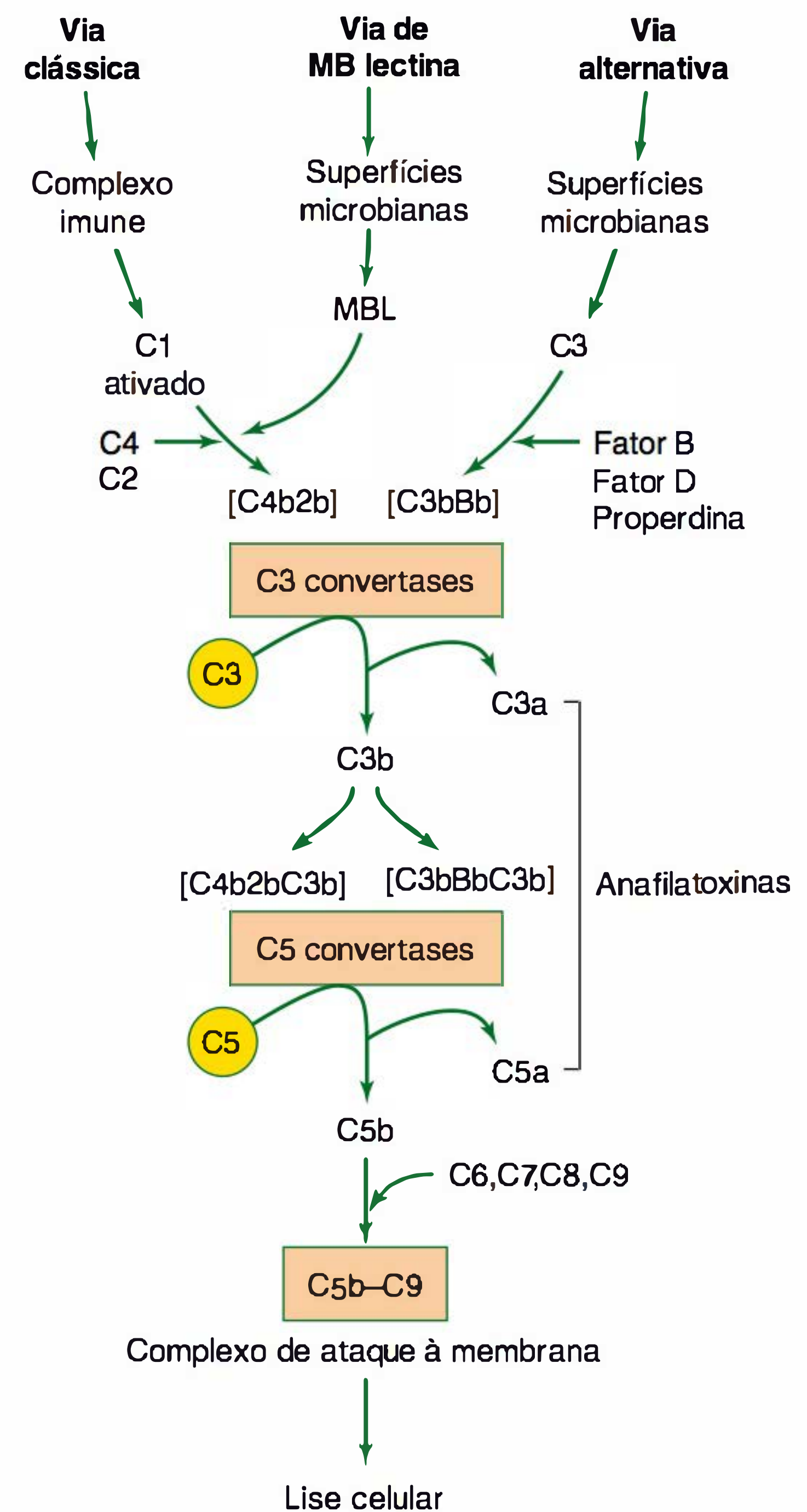


FIGURA 8.8 Sequência de reações do complemento.

lectinas ligadoras à manose (Via lectínica, *mannose-binding lectin* [MBL]) (Fig. 8.8). Todas as vias podem resultar na formação da MAC. Essas três vias também levam à liberação de C5 convertase, que por sua vez cliva a C5 em C5a e C5b. Como mencionado anteriormente, C5a é uma anafilatoxina e um fator quimiotático. O C5b se liga ao C6 e ao C7, para formar um complexo que se insere na bicamada da membrana. Em seguida, C8 se liga ao complexo C5b-C6-C7, seguida da polimerização de até 16 moléculas de C9 para produzir o MAC. O MAC, então, gera um canal ou poro na membrana, causando citólise devido à passagem de água atrás da membrana da célula.

A via clássica

O componente C1, ligado a um local na região Fc, é constituído de três proteínas: C1q, C1r e C1s. A C1q é um agregado de polipeptídeos que se ligam à porção Fc da IgG e da IgM. O complexo imune antígeno-anticorpo, complexado com C1, ativa a C1s, que cliva C4 e C2, formando C4b2b. Este complemento é a C3 convertase ativa que cliva moléculas de C3 em dois fragmentos: C3a e C3b. O fragmento C3b forma um complexo com C4b2b, produzindo uma nova enzima, a C5 convertase, que cliva o componente C5, formando C5a e C5b.

Essa reação também desencadeia a formação do MAC e a lise celular. Apenas a IgM e a IgG ativam ou fixam o complemento através da via clássica. Entre as IgG, apenas as subclasses 1, 2 e 3 fixam o complemento, enquanto a subclasse IgG4 não apresenta essa capacidade.

Um exemplo da via clássica pode ser observado, durante a infecção pelo vírus herpes simples (HSV). A replicação viral é acompanhada pela inserção de proteínas virais na superfície celular. Anticorpos específicos contra o HSV se ligam na superfície das células infectadas através do sítio Fab. A fração Fc do complexo antígeno-anticorpo é agora exposta e pronta para ligação do C1. A via clássica é ativada e a célula infectada é destruída pelo MAC.

A via alternativa

Agentes infecciosos podem ativar o sistema complemento, através da produção celular dos fatores B, D e properdina. Esses fatores clivam o C3 e geram C3 convertase. A C3 convertase (C3bBb) alternativa, por sua vez, produz mais C3b. O C3b adicional liga-se à C3 convertase para formar C3bBbC3b, que é a C5 convertase da via alternativa que produz C5b, levando à produção do complexo de ataque à membrana descrito anteriormente.

A via lectínica de ligação à manose

Nos últimos anos, surgiu o conceito de uma via adicional de ativação do complemento — a via de MB lectina. Seu principal componente é uma proteína plasmática denominada MBL. A MBL liga-se a resíduos de açúcar, como a manose, encontrados nos polissacarídeos de superfície microbianos, como o LPS. O complexo MBL, quando ligado a superfícies microbianas, pode ativar C4 e C2. O restante desta via prossegue da mesma maneira que a via clássica de ativação do complemento.

A. Regulação do sistema do complemento

O sistema do complemento é regulado por diversas proteínas séricas em diferentes estágios: (1) o inibidor de C1 liga-se à atividade de serina protease de C1r e C1s, inativando-a; (2) o fator I cliva C3b e C4b, reduzindo, assim, a quantidade disponível de C5 convertase; (3) o fator H intensifica o efeito do fator I sobre C3b; e (4) o fator P (properdina) protege C3b e estabiliza a C3 convertase da via alternativa. A regulação também é proporcionada por proteínas que têm a capacidade de acelerar a decomposição das proteínas do complemento — p. ex., o fator acelerador da decomposição, uma proteína ligada à membrana e encontrada na maioria das superfícies das células sanguíneas, que pode atuar ao acelerar a dissociação das C3 convertases de ambas as vias.

Deficiências do complemento e evasão do patógeno

Foram descritas muitas deficiências genéticas de proteínas do complemento que, em geral, resultam em aumento da suscetibilidade a doenças infecciosas (p. ex., deficiência de C2 leva frequentemente a graves infecções por bactérias piogênicas). A deficiência nos componentes do complexo de ataque à

membrana aumenta acentuadamente a suscetibilidade do indivíduo a infecções por *Neisseria*. Também são conhecidas deficiências de componentes da via alternativa (p. ex., a deficiência de properdina, associada à maior suscetibilidade à doença meningocócica). Ocorrem também deficiências nas proteínas de regulação do complemento. Por exemplo, a perda do inibidor da proteína C1 leva a angioedema hereditário. O sistema complemento é um importante mecanismo na proteção do hospedeiro. Alguns patógenos desenvolveram diferentes estratégias para escapar desse sistema. Por exemplo, alguns microrganismos interferem no processo de opsonização mediado pelo C3b, ou, no desenvolvimento do complexo MAC. A ativação do sistema complemento também pode ser inibido por determinadas proteínas expressas por microrganismos, tais como a proteína A e a proteína C, que se ligam à fração Fc do IgG. Finalmente, os microrganismos podem produzir enzimas que degradam diferentes componentes do sistema complemento, sendo assim, mais patogênicos.

CITOCINAS

Nas últimas duas décadas, foi observado um “boom” na biologia das citocinas. As citocinas são potentes proteínas regulatórias de baixo peso molecular, produzidas transitória e localmente por diferentes tipos celulares. Hoje, é reconhecido que as citocinas são proteínas multifuncionais, cujas propriedades biológicas são fundamentais na hematopoiese, imunidade, nas doenças infecciosas, na oncogênese, homeostasia, reparo celular e no crescimento e desenvolvimento celular. As citocinas, geralmente, atuam como moléculas sinalizadoras, se ligando aos seus receptores glicoproteicos específicos na membrana celular. Essa interação inicial é seguida por uma retransmissão de sinais para o núcleo celular. A transdução do sinal é realizada de forma similar a muitos sistemas hormônio-receptor, via fosforilação mediada por proteína quinase de proteínas citoplasmáticas. De fato, a atividade tirosina quinase é intrínseca a vários receptores de citocinas.

Classificação e funções

As citocinas são classificadas em grupos baseados em funções comuns. As categorias funcionais são: imunorregulatória, pró-inflamatória, anti-inflamatória e diferenciação e crescimento celular. Uma importante citocina imunorregulatória, atuando na apresentação antigênica, é a IFN γ . As citocinas pró-inflamatórias são comumente encontradas durante as doenças infecciosas, incluindo IL-1, IL-6, TNF- α e IFNs. Já as citocinas anti-inflamatórias incluem IL10, IL-11, TGF- β e IFN- β e são necessárias para suprimir e regular negativamente uma intensa resposta imune. As citocinas que apresentam um importante papel no crescimento e diferenciação celular incluem os fatores de estimulação de colônia (CSFs) e o fator de célula tronco (SCF). Diferentes citocinas, suas origens e funções estão indicadas no Quadro 8.1.

As citocinas são igualmente importantes na diferenciação das células T em diferentes subpopulações. Enquanto as células Th1 são geradas na presença de IFN- γ , as células Th2 são diferenciadas na presença de IL-4. Já, as células Th17 são produzidas na presença de TGF- β e IL-6, porém, na presença

de somente TGF- β , as células T se diferenciam em Treg. Cada uma das subpopulações secreta seu próprio conjunto de citocinas que apresentam propriedades regulatórias distintas. Assim, as citocinas direcionam o tipo de resposta imune que será gerada.

Aplicações

Hoje, há pelo menos quatro aplicações clínicas para as citocinas. Em primeiro lugar, as citocinas servem como biomarcadores de doenças e fornecem pistas dos seus mecanismos de patogênese. Por exemplo, as citocinas pró-inflamatórias, como a TNF- α , IL-1 e IL-6, podem ser detectadas no soro de pacientes com choque séptico. Essas citocinas parecem exercer um papel crítico no desenvolvimento dessa desordem e a detecção de sua presença pode ter valor prognóstico em sepse grave. Em segundo lugar, a dosagem da produção das citocinas *in vitro* é também útil no monitoramento da condição imunológica. As funções das células T podem ser avaliadas por sua capacidade de produção de IFN- γ . Esse procedimento está sendo realizado no diagnóstico da reativação da tuberculose (TB). Em terceiro lugar, as citocinas recombinantes são agentes-chave na terapêutica. Um exemplo desse procedimento é exemplificado pelas moléculas de IFNs. O FDA aprovou o uso de IFN- α para infecções pelo vírus da hepatite C, o IFN- β , para o tratamento da esclerose múltipla e o IFN- γ para a doença granulomatosa crônica (*Chronic granulomatous disease* [CGD]). E, finalmente, em quarto lugar, as citocinas podem ser alvo para terapias. Recentemente, antagonistas para os receptores de citocinas e anticorpos monoclonais anticitocinas têm sido utilizados, de forma satisfatória, em patologias, que resultam em superexpressão da resposta imune. Exemplos dessas terapias são os inibidores de TNF- α , para o controle da artrite reumatoide e os inibidores de IL-2 e IL-15, no tratamento de determinadas neoplasias e em transplantes.

HIPERSENSIBILIDADE

O termo “hipersensibilidade” refere-se a uma condição em que uma resposta imunológica resulta em reação exagerada ou inapropriada, prejudicial ao hospedeiro. No indivíduo, essas reações ocorrem tipicamente após o segundo contato com um antígeno específico (alergênio). O primeiro contato é um evento preliminar necessário que induz sensibilização ao alergênio.

Existem quatro tipos principais de reação de hipersensibilidade: os tipos I, II e III são mediados por anticorpos, enquanto o tipo IV é mediado pelas células T.

Tipo I: hipersensibilidade imediata (alergia)

A hipersensibilidade tipo I manifesta-se por reações teciduais que ocorrem poucos segundos após a combinação do antígeno com o anticorpo IgE correspondente. Os sintomas podem ocorrer na forma de anafilaxia sistêmica (p. ex., após a administração de proteínas heterólogas) ou como reação local (p. ex., alergia atópica, incluindo rinites como a febre do feno).

O mecanismo geral da hipersensibilidade imediata envolve as seguintes etapas: um antígeno induz a formação de anticorpo

IgE, que se liga, especificamente, através de sua porção Fc, a um receptor de alta afinidade para fração Fc de IgE existente na superfície dos basófilos, eosinófilos e mastócitos. Algum tempo depois, a ocorrência de uma segunda exposição do indivíduo com o mesmo antígeno resulta em fixação desse antígeno à IgE ligada à célula, estabelecendo ligações cruzadas das moléculas de IgE e liberando, em segundos a minutos, mediadores farmacologicamente ativos das células. Os nucleotídeos cíclicos e o cálcio são essenciais para a liberação de mediadores. Pode haver também uma segunda “fase tardia”, de vários dias de duração, envolvendo a infiltração dos tecidos com leucócitos e principalmente eosinófilos.

A seguir são mencionados alguns mediadores importantes da hipersensibilidade do tipo I e seus principais efeitos.

1. Histamina — existe em um estado pré-formado nas plaquetas bem como nos grânulos dos basófilos, mastócitos e eosinófilos. Sua liberação provoca vasodilatação, aumento da permeabilidade capilar e contração da musculatura lisa (p. ex., broncospasmo). Os anti-histamínicos têm a capacidade de bloquear os receptores locais de histamina, mostrando-se relativamente eficazes na rinite alérgica, mas não na asma. A histamina é um dos mediadores primários da reação do tipo I.

2. Prostaglandinas e leucotrienos — as prostaglandinas e os leucotrienos derivam do ácido araquidônico através da via da ciclo-oxigenase. As prostaglandinas provocam principalmente broncoconstrição. Os leucotrienos causam principalmente aumento da permeabilidade dos capilares. Esses mediadores, juntamente com as citocinas, como o TNF α e a IL4, são designados como mediadores secundários das reações do tipo I.

A. Tratamento e prevenção das reações anafiláticas

O tratamento tem por objetivo reverter a ação dos mediadores ao manter as vias respiratórias, estabelecer uma ventilação artificial, se necessário, e fornecer suporte para a função cardíaca. Podem-se administrar um ou mais dos seguintes agentes: epinefrina, anti-histamínicos e corticosteroides. A prevenção depende da identificação do alergênio (frequentemente por meio de teste cutâneo), e o indivíduo deve evitar subsequentemente a exposição.

B. Atopia

Os distúrbios de hipersensibilidade atópica exibem forte predisposição familiar e estão associados a níveis elevados de IgE. A predisposição a atopia é claramente genética; entretanto, os sintomas são induzidos em consequência da exposição do indivíduo a alergênios específicos. Tipicamente, esses antígenos são ambientais (p. ex., alergia respiratória a pólen, ambrósia-americana doméstica) ou alimentares (p. ex., alergia intestinal a moluscos). As manifestações clínicas comuns consistem em febre do feno, asma, eczema e urticária. Muitos indivíduos sofrem reações do tipo imediato a testes cutâneos (injeção, teste epicutâneo, teste de escarificação), em que se utiliza o antígeno agressor.

Tipo II: hipersensibilidade

A hipersensibilidade tipo II envolve a ligação dos anticorpos IgG a antígenos da superfície celular ou a moléculas da matriz

extracelular. O anticorpo dirigido contra os antígenos da superfície celular pode ativar o complemento (ou outros efetores) com a consequente lesão das células. Em consequência, pode ocorrer lise mediada pelo complemento, conforme se observa em anemias hemolíticas, reações transfusionais ABO e doença hemolítica Rh.

Certos fármacos, como a penicilina, podem ligar-se a proteínas de superfície sobre os eritrócitos, desencadeando a formação de anticorpos. Em seguida, esses anticorpos autoimunes podem combinar-se com a superfície da célula, resultando em hemólise. Na síndrome de Goodpasture, ocorre a produção de anticorpos contra as membranas basais dos rins e dos pulmões, resultando em grave lesão dessas membranas graças à atividade dos leucócitos atraídos pelo complemento. Em alguns casos, os anticorpos dirigidos contra receptores de superfície celular alteram a função sem causar lesão celular (p. ex., na doença de Graves, um auto-anticorpo liga-se ao hormônio estimulador da tireoide, causando hipertireoidismo por estimulação da tireoide).

Tipo III: hipersensibilidade por imunocomplexos

Quando o anticorpo se combina com seu antígeno específico, formam-se imunocomplexos. Normalmente, esses imunocomplexos são imediatamente removidos, mas em certas ocasiões persistem e depositam-se nos tecidos, provocando vários distúrbios. Nas infecções microbianas ou virais persistentes, os imunocomplexos podem depositar-se em órgãos (p. ex., os rins), resultando em disfunção. Nos distúrbios autoimunes, os antígenos “próprios” podem induzir a formação de anticorpos que se ligam a antígenos dos órgãos ou que se depositam em órgãos ou tecidos em forma de complexos, particularmente nas articulações (artrite), nos rins (nefrite) e nos vasos sanguíneos (vasculite). Finalmente, antígenos do ambiente, como esporos de fungos, e certos fármacos podem causar a formação de imunocomplexos com doença.

Seja qual for o local de deposição dos imunocomplexos, eles ativam o sistema do complemento, e os macrófagos e neutrófilos são atraídos para o local, onde causam inflamação e lesão tecidual. Existem duas formas principais de hipersensibilidade mediada por imunocomplexos. Uma delas é local (**reação de Arthus**), sendo tipicamente produzida na pele quando se injeta uma baixa dose de antígeno com a formação local de imunocomplexos. Os anticorpos IgG estão envolvidos, e a consequente ativação do complemento leva a ativação dos mastócitos e neutrófilos, liberação de mediadores e aumento da permeabilidade vascular. Tipicamente, essa reação ocorre em cerca de 12 h. Uma segunda forma de hipersensibilidade tipo III envolve a doença sistêmica por imunocomplexos, como a glomerulonefrite pós-estreptocócica aguda.

A **glomerulonefrite pós-estreptocócica aguda** é uma doença causada por imunocomplexos bem conhecida. Seu início é observado algumas semanas após uma infecção por estreptococos β -hemolíticos do grupo A, em particular da pele, e muitas vezes ocorre com infecções causadas por tipos nefritogênicos de estreptococos. Em geral, o nível de complemento mostra-se baixo, sugerindo uma reação antígeno-anticorpo com o consumo do complemento. São observados depósitos grumosos de imunoglobulina e do componente C3 do complemento ao longo das membranas basais glomerulares coradas

por imunofluorescência, sugerindo a presença de complexos antígeno-anticorpo. É provável que os complexos antígeno-estreptocócico anticorpo sejam filtrados pelos glomérulos, fixando-se ao complemento, atraindo as células polimorfonucleares e dando início ao processo inflamatório que causa danos aos rins.

Tipo IV: hipersensibilidade mediada por células (*delayed-type hypersensitivity* [DTH], tardia)

A hipersensibilidade mediada por células não é causada por anticorpos, mas constitui uma função dos linfócitos T especificamente sensibilizados que ativam os macrófagos para causar uma resposta inflamatória. A resposta é tardia, ou seja, inicia-se geralmente 2 a 3 dias após o contato com o antígeno, e com frequência dura vários dias.

A. Hipersensibilidade de contato

É observada após sensibilização com substâncias químicas simples (p. ex., níquel, formaldeído), materiais vegetais (hera, carvalho venenoso), fármacos de uso tópico (p. ex., sulfonamidas, neomicina), alguns cosméticos, sabões e outras substâncias. Em todos os casos, pequenas moléculas penetram na pele e, em seguida, atuando como haptens, ligam-se a proteínas corporais que servem como antígeno completo. A hipersensibilidade mediada por células é induzida particularmente na pele. Quando a pele entra novamente em contato com o agente agressor, o indivíduo sensibilizado desenvolve eritema, prurido, vesículas, eczema ou necrose da pele em 12 a 48 h. O teste epicutâneo, realizado em uma pequena área da pele, às vezes pode identificar o agente agressor. As recidivas são prevenidas quando o indivíduo evita exposição subsequente ao material. A APC na sensibilidade de contato é provavelmente a célula de Langerhans na epiderme, que interage com células CD4 Th1 inflamatórias que direcionam a resposta.

B. Hipersensibilidade do tipo tuberculínico

A hipersensibilidade tardia a antígenos de microrganismos ocorre em muitas doenças infecciosas e tem sido utilizada como recurso auxiliar no estabelecimento do diagnóstico, aplicação exemplificada pela reação tuberculínica. Quando se injeta uma pequena quantidade de tuberculina na epiderme de paciente previamente exposto ao *Mycobacterium tuberculosis*, ocorre pouca reação imediata; entretanto, aos poucos verifica-se o aparecimento de endurecimento e rubor, que alcançam o pico em 24 a 72 h. As células mononucleares acumulam-se no tecido subcutâneo, e verifica-se a presença de quantidades abundantes de células CD4 Th1 inflamatórias. O teste cutâneo positivo indica que o indivíduo já foi infectado pelo agente, mas não implica a presença de doença atual. Todavia, uma recente mudança da resposta ao teste cutâneo de negativa para positiva sugere infecção recente e possibilidade de atividade atual.

A obtenção de resposta positiva ao teste cutâneo ajuda a estabelecer o diagnóstico. Por exemplo, na hanseníase um teste cutâneo positivo indica doença tuberculóide com imunidade celular ativa, enquanto um resultado negativo sugere hanseníase lepromatosa com fraca imunidade celular.

DEFICIÊNCIAS DA RESPOSTA IMUNOLÓGICA

Doenças por imunodeficiências

As imunodeficiências podem ser divididas em duas categorias, as imunodeficiências primárias e as imunodeficiências secundárias. As doenças por imunodeficiências primárias consistem em distúrbios do sistema imunológico, em que a falha é intrínseca às células que compõem esse sistema. Já, as doenças imunológicas secundárias consistem em distúrbios do sistema imune, em que a falha é induzida por fatores externos, como infecções virais, neoplasias e medicamentos. Essa seção é particularmente relevante para a microbiologia médica, pois essas doenças primárias são geralmente identificadas pelo tipo, duração e frequência de doenças infecciosas apresentadas por um indivíduo. Em contraste, as doenças secundárias são frequentemente induzidas por microrganismos.

A. Imunodeficiências primárias

As imunodeficiências primárias geralmente apresentam uma origem genética, em que mais de 150 anomalias já foram identificadas. Estes distúrbios resultam em perda numérica e funcional das células T, células B, fagócitos, componentes do sistema complemento, citocinas ou TLRs. Claramente, a perda desses elementos funcionais levam à suscetibilidade a infecções. Um exemplo é a doença granulomatosa crônica (CGD), na qual ocorre uma deficiência na função das células fagocitárias. Os indivíduos apresentam níveis normais de imunoglobulinas, células T, células B e também dos fagócitos. Contudo, as células fagocíticas não são capazes de destruir os microrganismos fagocitados, por um defeito genético no cromossomo b-558. Essa mutação leva a incapacidade metabólica dessas células em produzir peróxidos e superóxidos. Essa anomalia pode ser detectada pelo teste do nitroblue tetrazolium (NBT)*. Essas células são incapazes de matar certas bactérias ou fungos, como *Staphylococcus*, *Escherichia coli* e *Aspergillus* spp. Se não tratada, essa doença é, geralmente, fatal na primeira década de vida da criança. O IFN- γ pode restaurar a função dessas células. Assim, na maioria dos casos, a administração desta citocina ou o transplante de medula óssea é tratamento efetivo para este distúrbio. Outro exemplo é a imunodeficiência combinada grave (*severe combined immunodeficiency* [SCID]). Essa síndrome, na realidade, é a expressão final para diferentes distúrbios genéticos, que levam tanto a comprometimento das funções das células T quanto das células B. Os indivíduos acometidos são extremamente suscetíveis a infecções por praticamente todos os tipos de microrganismos. Caso não tratado, os indivíduos morrem no primeiro ano de vida.

B. Deficiências secundárias

As imunodeficiências secundárias são associadas a processos infecciosos, neoplasias e medicamentos.

* N. de R.T. O teste do nitroblue tetrazolium (NBT), embora seja um método simples e econômico poucos laboratórios o realizam. Dependendo do operador, a ocorrência de falso-negativos pode acontecer. Em nosso meio, o NBT é indicado como teste de rastreamento para DGC por apresentar um menor custo. No entanto, existem relatos na literatura de pacientes com a doença e que apresentaram resultado do teste normal. Nesses casos, em pacientes com clínica bem sugestiva e NBT normal, é muito importante realizar o DHR.

C. Infecções

Determinadas infecções podem causar imunossupressão no hospedeiro. É conhecido que o vírus do sarampo e o vírus Epstein-Barr (EBV), da mononucleose, podem provocar redução da hipersensibilidade do tipo tardio (DTH) em testes cutâneos. A replicação do EBV pode revelar o possível mecanismo para essa imunossupressão. O EBV infecta as células B, resultando em uma célula transformada, que se prolifera indefinidamente. Curiosamente, o genoma viral codifica para um análogo da IL-10 humana. A IL-10 é uma citocina imunossupressora que inibe o braço Th1, assim inibindo a produção de IFN- γ e, consequentemente, o resultado do teste cutâneo de DTH. Outro exemplo importante é a imunodeficiência induzida pelo vírus HIV, resultando na Aids. O vírus HIV, primariamente, infecta as células T CD4. O processo de infecção é possível, uma vez que o vírus usa a molécula de CD4 como receptor e o receptor de quimiocina CCR5, como correceptor para entrar na célula. A replicação viral resulta em uma progressiva destruição direta e indireta das células T CD4 e no desenvolvimento da Aids. Como consequência, na infecção, o paciente com HIV desenvolve múltiplas infecções oportunistas. Como discutido neste capítulo, as células T CD4 são críticas na geração de subpopulações Th1, Th2, Th17 e Treg. Essas células cooperam para a produção de anticorpos pelas células B e servem como fontes de IL2 e IFN- γ . A replicação do vírus citotóxico é devastadora para o sistema imunológico.

D. Neoplasias

Leucemias, linfomas, mieloma múltiplo e outros tipos de neoplasias podem levar a imunodeficiências e, consequentemente, ao aumento das infecções oportunistas. Por exemplo, pacientes com leucemia podem apresentar deficiência em neutrófilos, resultando em perda da fagocitose e aumento das infecções bacterianas e fúngicas. Alguns tumores secretam altos níveis de TGF- β , que pode suprimir uma variedade de respostas, incluindo as mediadas pelas células Th1.

E. Fármacos

Fármacos citotóxicos usados no tratamento de neoplasias (p. ex., cisplatina), fármacos imunossupressores (p. ex., ciclosporina) usados em pacientes transplantados e os novos fármacos anti-citocinas (anti-TNF- α) usados no tratamento de doenças autoimunes, podem resultar em risco de infecções oportunistas.

LABORATÓRIO DE IMUNOLOGIA CLÍNICA (TESTES DE DIAGNÓSTICO)

Diversas descobertas da biologia molecular, do DNA recombinante e proteínas, da biologia das citocinas e da genética humana contribuíram enormemente para compreensão das doenças mediadas pelo sistema imunológico. Com esses avanços, o laboratório de imunologia clínica se desenvolveu e aumentou sua importância no diagnóstico destes distúrbios. Assim, o laboratório de microbiologia clínica é importante nos transplantes, na reumatologia, na oncologia, na dermatologia, nas doenças infecciosas, nas alergias e nas imunodeficiências. O objetivo primordial do laboratório de imunologia clínica é

fornecer testes laboratoriais que validem o diagnóstico clínico e monitorem os indivíduos com distúrbios imunológicos. Uma variedade de tecnologias é usada para avaliar tanto os anticorpos quanto os componentes celulares da resposta imune. Para uma revisão mais detalhada dos sistemas de testes imunológicos realizados no ambiente hospitalar, ver Detrick et al. (2006). Alguns testes estão destacados adiante.

Ensaio de avaliação de anticorpos

A. Ensaio imunoenzimático (*enzyme-linked immunosorbent assay, Elisa*)

O ensaio imunoenzimático possui muitas variações, que dependem da conjugação de uma enzima com um anticorpo. A enzima é detectada pela determinação da atividade enzimática com seu substrato. Para medir o anticorpo, antígenos conhecidos são fixados a uma fase sólida (p. ex., placa de plástico de microdiluição), incubados com diluições do anticorpo do teste, lavados e novamente incubados com anti-imunoglobulina marcada com uma enzima (p. ex., peroxidase da “raiz forte” [*horseradish*]). A atividade enzimática, medida por adição do substrato específico e avaliação da reação colorimétrica, é uma função direta da quantidade de anticorpo ligado. Esse teste sorológico é usado para detectar anticorpos em diferentes doenças infecciosas, tais como anticorpos contra proteínas do vírus HIV, em amostras de sangue ou anticorpos contra o *Treponema pallidum*, agente etiológico da sífilis. Esse sistema é igualmente usado na detecção de autoanticorpos presentes na circulação de indivíduos com doenças autoimunes sistêmicas, ou órgão específica (p. ex., anticorpos no lúpus eritematoso sistêmico, escleroderma ou síndrome de Sjogren). Variações dos testes imunoenzimáticos incluem algumas novas tecnologias, tais como ensaios quimioluminescentes (CIA) e ensaios *multiplex* baseados em partículas.

B. Imunofluorescência

Os corantes fluorescentes (p. ex., fluoresceína, rodamina) podem ser ligados de modo covalente a moléculas de anticorpo e visualizados por luz ultravioleta ao microscópio de fluorescência. Esse anticorpo marcado pode ser utilizado para a identificação de antígenos (p. ex., na superfície de bactérias, como estreptococos ou treponemas) ou de células em cortes histológicos ou outras amostras. Ocorre a reação de **imunofluorescência direta** quando o anticorpo marcado conhecido interage diretamente com um antígeno desconhecido. Ocorre a reação de **imunofluorescência indireta** quando se utiliza um processo em dois estágios (p. ex., um antígeno conhecido é fixado a uma lâmina, adiciona-se soro desconhecido, e a preparação é lavada). Se o anticorpo sérico desconhecido se combinar com o antígeno, permanecerá fixado na lâmina, podendo ser detectado pela adição de anticorpo anti-imunoglobulina fluorescente ou outro reagente específico de anticorpo, como a proteína A de *Staphylococcus* ou a proteína G de *Streptococcus*, e examinado à microscopia de imunofluorescência. A imunofluorescência, historicamente, tem sido usada na detecção de anticorpos contra determinados microrganismos, além de ser um ensaio-padrão na detecção de autoanticorpos em doenças autoimunes (p. ex., anticorpos antinucleares).

C. Immunoblotting

Às vezes, denominado *Western blotting*, é um método destinado a identificar um determinado antígeno em uma mistura complexa de proteínas. A mistura complexa de proteínas é submetida à eletroforese em gel de poliacrilamida (PAGE)-dodecil sulfato de sódio (SDS), procedimento que separa as proteínas de acordo com seu tamanho molecular. Em seguida, o gel é recoberto com uma membrana (frequentemente, uma folha de nitrocelulose) e as proteínas são “transferidas” por eletroforese para a membrana. A membrana de nitrocelulose (*blot*) adquire uma réplica das proteínas separadas por SDS-PAGE. Durante o processo de transferência, o SDS é removido em grande parte das proteínas e, pelo menos com algumas proteínas, ocorre novo rearranjo, sendo a configuração restaurada o suficiente para que os anticorpos possam reagir com as proteínas na membrana.

Em seguida, a membrana de nitrocelulose reage com o anticorpo marcado com enzima em um teste direto ou indireto com anticorpo, seguido de anti-imunoglobulina marcada. O antígeno proteico torna-se, então, visível em forma de uma faixa na membrana. Nenhuma das outras proteínas na mistura é detectada. Essa técnica é utilizada, por exemplo, para se confirmar um teste de Elisa HIV-positivo, por demonstração da presença de anticorpos específicos, contra as proteínas do HIV, no soro do paciente (teste confirmatório, após os testes de rastreamento positivos). Essa técnica é amplamente usada como teste secundário para HVC e doença de Lyme. Recentemente, está também sendo aplicada na identificação de autoanticorpos em determinadas doenças autoimunes (p. ex., polimiosites). Variações dessa técnica incluem os ensaios de *dot* ou *slot blot*, ambos usando antígenos purificados.

D. Outros ensaios de laboratório

Os testes disponíveis nos laboratórios de imunologia clínica incluem: a eletroforese de proteínas e a eletroforese de imunofixação, que são importantes na identificação da produção anormal de imunoglobulinas no soro ou urina de pacientes com mieloma. A nefelometria é outro teste que quantifica uma grande variedade de analitos no soro ou plasma. Esse é o método de escolha, para quantificação dos componentes do sistema complemento, imunoglobulinas e outros analitos séricos. Esses testes são usados para avaliar anomalias associadas a certas infecções (p. ex., o vírus HCV pode ser associado à proteína monoclonal e à presença de crioglobulinas).

Avaliação da resposta celular

A. Citometria de fluxo

Outra aplicação das moléculas de anticorpos marcadas com corante fluorescente consiste em contagem e classificação das células por **citometria de fluxo** por meio de um separador de células ativado por fluorescência (FACS).

A citometria de fluxo analisa uma suspensão de células que flui através de um conjunto de feixes de *laser* para medir a quantidade relativa de luz dispersa por partículas microscópicas (fornecendo, assim, uma informação sobre o tamanho relativo e a granulidade) e a fluorescência relativa dessas partículas. Para uma mistura de leucócitos, é relativamente fácil separar

as células nessa mistura em suas principais classes (p. ex., linfócitos pequenos separados dos granulócitos, que são maiores e contêm mais grânulos [os quais dispersam mais lúmen]). Com a disponibilidade de painéis de anticorpos monoclonais (que podem ser detectados por anti-imunoglobulinas fluorescentes) contra as proteínas da superfície celular, também é possível proceder à contagem de subpopulações de células (p. ex., células T auxiliares que expressam CD4 e células T citotóxicas que expressam CD8, ou células B que expressam anticorpos e células T). Essa tecnologia é amplamente utilizada em medicina clínica e na pesquisa biomédica (p. ex., para quantificar as células T CD4 em pacientes HIV-positivos ou distinguir células tumorais de leucócitos normais).

B. Ensaios de funcionalidade celular

Com a finalidade de avaliar a funcionalidade da célula T *in vitro*, a sua habilidade de proliferação e a capacidade de produção de citocinas (como IFN- γ) são analisadas. Esse teste é um análogo ao cutâneo para TB para avaliação da hipersensibilidade do tipo IV. Na pele, o antígeno de TB interage com células T específicas, que se proliferam e produzem IFN- γ , resultando em reação positiva. No teste *in vitro*, leucócitos de sangue periférico (*peripheral blood leukocytes* [PBLs]) são incubados com um antígeno específico (p. ex., antígenos de TB), por 24 a 72h. Quando células T interagem com esses PBLs se proliferam e produzem IFN- γ . Essa proliferação pode ser medida pela incorporação de timidina H³, ou a produção de IFN- γ pode ser monitorada por Elisa ou por citometria de fluxo. Esse teste é usado para avaliar a condição de um indivíduo, particularmente, em pacientes que são imunossuprimidos, como consequência de uma doença infecciosa, neoplasia ou terapia medicamentosa.

RESUMO DO CAPÍTULO

- **Imunidade inata:** é uma resposta imediata e não específica para um patógeno. Os componentes dessa resposta incluem fagócitos (macrófagos e neutrófilos), células NK, TLRs, citocinas e proteínas do sistema complemento.
- As funções protetoras dos fagócitos são: **fagocitose** (primariamente, por macrófagos e PMNs) é o principal mecanismo de detecção e de destruição de patógenos. Esse processo inclui as seguintes etapas: quimiotaxia, migração, ingestão e destruição microbiana.
- **Imunidade adaptativa:** pode ser mediada por anticorpos, por células ou por ambos. É uma resposta específica para um antígeno que a induziu e confere imunidade protetora, para uma nova reinfecção ou contato com o mesmo antígeno.
- **Apresentação antigênica:** é uma etapa crítica na resposta adaptativa. Proteínas a partir de antígenos exógenos são processadas por APCs e, então, apresentadas via molécula de MHC classe II. Esse complexo antígeno-MHC é reconhecido pelo TCR expresso pela célula T CD4. O CD4 atua como correceptor. Um segundo sinal é necessário para ativação das células T e, é derivado da interação entre a molécula CD80, na superfície da APC com a molécula de CD28 na superfície da célula T. As células T, agora proliferam e se diferenciam em células T efectoras. Antígenos endógenos são processados pela APC e apresentados via molécula de MHC classe I. O complexo peptídeo-MHC classe I é reconhecido pelo TCR expresso na superfície das células T CD8.
- **Produção de anticorpos:** as células B rearranjam os genes que codificam para imunoglobulina e expressam o receptor para o antígeno (BCR). Quando o antígeno interage com o BCR, a célula B é estimulada, entra em divisão e forma um clone. A célula B se diferencia em plasmócitos secretores de anticorpos ou células B de memória.
- **Funções dos anticorpos:** os anticorpos melhoram a fagocitose, induzem neutralização de vírus e de toxinas bacterianas e participam de lise mediada por complemento e de ADCC.
- **Funções das células T:** (1) células T CD4 se diferenciam em Th1, Th2, Th17 e Treg. Th1 produz citocinas (IL-2 e IFN- γ), ativa macrófagos e induz mudança de classe para produção de IgG por células B. Th2 ativa mastócitos, eosinófilos e induz a produção de IgE pelas células B. Th17 produz IL-17, que induz a produção de IL-8, resultando no recrutamento de neutrófilos e macrófagos. As células Treg produzem TGF- β e IL-10, que suprimem o sistema imune. (2) As células T CD8 funcionam como células citotóxicas.
- Há três principais vias de ativação da **cascata do complemento**. Cada uma dessas vias leva à formação do MAC, resultando em lise celular. O complemento promove proteção contra patógenos por quatro mecanismos: (1) citólise, (2) quimiotaxia, (3) opsonização e (4) vasodilatação e permeabilidade celular.
- **Citocinas** são moléculas críticas do sistema imunológico, direcionando a resposta celular pelos macrófagos, PMNs, células NK, células T e células B. Os IFNs são potentes citocinas antivirais e imunorregulatórias.
- **Reações de hipersensibilidades:**
 - **Tipo I, imediata:** anticorpos IgE são induzidos pela presença do alérgeno e se ligam, pela sua fração Fc, a mastócitos e a eosinófilos. Após um segundo contato, esse mesmo antígeno se liga cruzadamente com as moléculas de IgE na superfície das células sensibilizadas, resultando em sua degranulação e liberação de mediadores químicos, especialmente a histamina.
 - **Tipo II:** os antígenos na superfície celular combinam com anticorpos, resultando em lise celular mediada por complemento (p. ex., reações de transfusão sanguínea), ou outras reações citotóxicas de membrana (p. ex., anemia hemolítica autoimune)
 - **Tipo III, imuno complexo:** os complexos antígeno-anticorpos são depositados nos tecidos, ativando o sistema complemento ou estimulando a migração de PMNs, resultando em dano tecidual.
 - **Tipo IV, tardio:** os linfócitos T sensibilizados por um antígeno liberam citocinas em um segundo contato com o mesmo antígeno. Essas citocinas induzem inflamação e ativam macrófagos.

GLOSSÁRIO

Alelos: variantes de um único *locus* genético.

Anafilatoxinas: fragmentos de proteínas do complemento liberados durante a ativação (p. ex., C5a, C3a) resultam em aumento da permeabilidade vascular e atraem leucócitos.

Anticorpo (Ac): proteína produzida em consequência da interação com um antígeno. A proteína tem a capacidade de combinar-se com o antígeno que estimulou sua produção. Os anticorpos são produzidos por plasmócitos.

Anticorpos monoclonais: cada linfócito B produz um anticorpo de especificidade exclusiva. Entretanto, as células B normais não crescem indefinidamente. Se for efetuada a fusão de células B, com uma célula de mieloma por hibridização celular somática e se forem selecionadas as células fundidas, que secretam anticorpos de especificidade desejada, será obtida uma linhagem celular imortalizada produtora de anticorpos, conhecida como hibridoma, e essas células híbridas produzirão anticorpos monoclonais.

Antígeno (Ag): substância capaz de reagir com um anticorpo. Nem todos os antígenos podem induzir à produção de anticorpos; os que têm essa propriedade também são denominados imunógenos.

Célula B (também denominada linfócito B): as células B são linfócitos derivados da Bursa de Fabricius em aves, tendo como análogo a medula óssea humana. Essas células, por rearranjo de seus genes para imunoglobulina, expressam um único receptor para antígeno na superfície celular (BCR). As células B constituem os precursores dos plasmócitos que produzem anticorpos.

Célula polimorfonuclear (PMN): também conhecida como neutrófilo ou granulócito, a célula PMN caracteriza-se por um núcleo multilobulado. Os PMN migram da circulação para o local de inflamação pelo processo da quimiotaxia e fagocitam bactérias e outras partículas.

Célula T (também denominada linfócito T): célula derivada do timo, que participa de uma variedade de reações imunológicas mediadas por células.

Célula T citotóxica: célula T capaz de matar outras células, como, por exemplo, células infectadas por patógenos intracelulares.

Células destruidoras naturais (*natural killer*, NK): grandes células linfóides granulosas sem receptor específico do antígeno conhecido. Estas células são capazes de reconhecer determinadas células anormais e matá-las,— como, por exemplo, células infectadas por vírus e tumorais, desempenhando importante papel na resposta inata.

Citólise: refere-se à lise das bactérias ou células, como células tumorais ou eritrócitos, pela inserção do complexo de ataque à membrana, derivado da ativação do complemento.

Citocinas: potentes moléculas de baixo peso molecular produzidas de forma transitória e local, por diferentes tipos celulares e, envolvidas em diversas funções na resposta imune.

Classe de imunoglobulinas: subdivisão das moléculas de imunoglobulinas com base em diferenças estruturais (sequências de aminoácidos). Nos seres humanos, existem cinco classes de imunoglobulinas: IgG, IgM, IgA, IgE e IgD.

Complemento: conjunto de proteínas plasmáticas que constitui o principal mediador das reações antígeno-anticorpo. A ativação do complemento pode envolver as vias: clássica, alternativa e lectínica.

Complexo de ataque à membrana: produto final da ativação da cascata do complemento, que contém C5, C6, C7, C8 e C9. O complexo de ataque à membrana produz orifícios nas membranas das bactérias gram-negativas, destruindo-as, bem como nos eritrócitos e em outras células, resultando em lise.

Complexo principal de histocompatibilidade (MHC): conjunto de genes localizados em estreita proximidade — como, por exemplo, no cromossomo 6 humano, que codificam os antígenos de histocompatibilidade (moléculas MHC).

Endotoxinas: toxinas bacterianas liberadas de células lesionadas (LPS).

Epítipo: local de um antígeno reconhecido por um anticorpo. Também conhecido como determinante antigênico.

Hapteno: molécula que não é imunogênica em si, mas que pode reagir com anticorpo específico após ser adicionada a uma molécula carreadora.

Histocompatível: que compartilha antígenos do complexo principal de histocompatibilidade (transplantes).

Imunidade:

- **Imunidade inata:** defesa do hospedeiro inespecífica não adquirida, mediante contato com um antígeno, como as barreiras representadas pela pele e pelas mucosas contra os antígenos infecciosos, além de uma variedade de fatores imunológicos inespecíficos (p. ex., células fagocíticas, células NK, complemento, TLRs e citocinas).
- **Imunidade adaptativa:** proteção adquirida pela introdução deliberada de um antígeno em um hospedeiro responsivo. A imunidade ativa é específica e mediada por anticorpos ou células linfóides (ou por ambos).

Imunidade humoral: relacionada com a imunidade em um líquido orgânico e utilizada para referir-se à imunidade mediada por anticorpos.

Imunidade mediada por células (celular): aquela em que predomina a participação dos linfócitos e macrófagos. Imunidade mediada por células é uma expressão, geralmente, aplicada à reação de hipersensibilidade do tipo IV (ver adiante).

Imunoglobulina: glicoproteína constituída pelas cadeias H e L, que atua como anticorpo. Todos os anticorpos são imunoglobulinas, mas nem todas as imunoglobulinas exercem a função de anticorpo.

Inflamação: acúmulo local de líquido e células após lesão ou infecção.

GLOSSÁRIO (continuação)

Interferons: grupo heterogêneo de proteínas de baixo peso molecular pertencente à família das citocinas. Há dois principais tipos de IFNs: Os IFNs do tipo I (α e β) elaborados por células infectadas do hospedeiro, que protegem as células não infectadas da infecção viral. O IFN do tipo II (IFN- γ), que é produzido por células T e NK ativadas. Essas moléculas desempenham papel importante em atividades antivirais, imunorregulatórias e antiproliferativas.

Leucócito: termo genérico que se refere a uma célula branca do sangue.

Linfócito: célula mononuclear de 7 a 12 μm de diâmetro, contendo um núcleo com cromatina densamente agrupada e uma faixa de citoplasma. Os linfócitos incluem as células T e B, que desempenham papéis primários na imunidade.

Macrófago: célula mononuclear fagocítica derivada de monócitos da medula óssea e encontrada em tecidos e no local de inflamação. Os macrófagos desempenham funções acessórias na imunidade, particularmente, como células apresentadoras de antígenos (APCs).

Moléculas de adesão celular (CAMs): por exemplo, as integrinas e selectinas. São moléculas que medeiam a ligação de células a outras células ou a moléculas da matriz extracelular, como a fibronectina.

Monócito: célula sanguínea fagocítica circulante que se desenvolve em macrófagos teciduais.

Opsonina: substância capaz de aumentar a fagocitose. Os anticorpos e o complemento são as duas principais opsoninas.

Opsonização: revestimento de um antígeno ou de uma partícula (p. ex., agente infeccioso) por substâncias como anticorpos, componentes do complemento, fibronectina, etc., que facilitam a captação da partícula externa por uma célula fagocítica.

Plasmócito: célula B de diferenciação terminal, que secreta anticorpos.

Quimiocinas: proteínas de baixo peso molecular que estimulam o movimento dos leucócitos.

Quimiotaxia: processo pelo qual as células fagocíticas são atraídas para a vizinhança dos patógenos invasores.

Reações de hipersensibilidade:

(1) Hipersensibilidade mediada por anticorpos

- **Tipo I. Imediata:** o anticorpo IgE é induzido pelo alérgeno e liga-se, através de seu receptor Fc, aos mastócitos e eosinófilos. Ao entrar novamente em contato com o antígeno, a IgE fixada estabelece ligações cruzadas, induzindo à desgranulação e liberação de mediadores, particularmente a histamina.
- **Tipo II:** Os antígenos presentes em uma superfície celular combinam-se com anticorpos, resultando em lise mediada pelo complemento (p. ex., reações transfusionais ou ao Rh), ou outra lesão citotóxica da membrana (p. ex., anemia hemolítica autoimune).
- **Tipo III. Imunocomplexos:** os imunocomplexos de antígeno-anticorpo depositam-se nos tecidos, o complemento é ativado e as células polimorfonucleares são atraídas para o local, provocando lesão tecidual.

(2) Hipersensibilidade mediada por células

- **Tipo IV. Tardia:** os linfócitos T, sensibilizados por um antígeno, liberam citocinas por ocasião do segundo contato com o mesmo antígeno. As citocinas induzem à inflamação e ativam os macrófagos.

Receptores do tipo Toll (TLRs): Compreendem uma família de receptores de reconhecimento de padrões evolutivamente conservados em microrganismos e servem como a primeira linha de defesa na imunidade inata.

Resposta imunológica: desenvolvimento de resistência (imunidade) a uma substância estranha (p. ex., agente infeccioso). Pode ser mediada por anticorpos (humoral), células (celular) ou ambos.

Subclasse de imunoglobulinas: subdivisão das classes de imunoglobulinas baseada em diferenças estruturais nas cadeias H. Para a IgG humana existem quatro subclasses: IgG1, IgG2, IgG3 e IgG4.

Timócitos: células T em desenvolvimento encontradas no timo.

Vacinação: indução de imunidade por meio da inoculação de uma forma atenuada ou morta de um patógeno.

QUESTÕES DE REVISÃO

1. Qual das seguintes alternativas é uma característica da resposta imunológica adaptativa e não da resposta inata?
 - (A) Barreiras físicas
 - (B) Barreiras químicas
 - (C) Expansão clonal das células efectoras
 - (D) Mediadores inflamatórios
 - (E) Fagocitose
2. Que mecanismo genético aumenta o número de moléculas de anticorpos diferentes durante a resposta imunológica sem aumentar a diversidade do *pool* de receptores de antígenos específicos?
 - (A) Recombinação do segmento do gene V
 - (B) Mudança de classe
 - (C) Hipermutação somática
 - (D) Variabilidade juncional decorrente da junção imprecisa de V, D e J
 - (E) Duplicação gênica, isto é, inúmeros segmentos gênicos de V, D e J
3. Qual a principal função das moléculas MHC das classes I e II?
 - (A) Elas são mediadoras da resposta da célula B, de forma independente da célula T
 - (B) Ligam peptídeos antigênicos para a apresentação aos receptores específicos do antígeno nas células B
 - (C) Auxiliam na endocitose de antígenos por células fagocíticas
 - (D) Ligam-se diretamente aos antígenos dos carboidratos para apresentação nas células T
 - (E) Apresentam peptídeos antigênicos para revisão por receptores específicos do antígeno em células

4. As moléculas MHC da classe I necessitam ligar-se a peptídeos antigênicos para moldá-los corretamente e serem expressos na superfície da célula. Qual seria o problema de saúde mais comum em uma criança que tenha um defeito na função do transportador de peptídeo (TAP) encontrado no retículo endoplasmático?
- (A) Infecções crônicas virais do trato respiratório superior
(B) Infecções por parasitos
(C) Infecções por bactérias encapsuladas
(D) Alergias a cães domésticos
(E) Doença autoimune
5. Qual das classes de anticorpos tem a capacidade de atravessar a placenta?
- (A) IgG
(B) IgA
(C) IgM
(D) IgE
(E) IgD
6. Um homem de aproximadamente 20 anos de idade, que se encontra em um quarto de enfermagem de emergência, apresenta respiração curta e fadiga. Também está bastante pálido. Dois dias atrás, recebeu uma injeção de penicilina, para combater uma infecção. Ele já havia recebido penicilina antes sem problemas, tendo-se constatado que não tinha “alergia” a penicilina. Os testes laboratoriais mostraram que apresentava anticorpos contra a penicilina no soro e uma baixa na contagem de leucócitos. Foi diagnosticada anemia hemolítica imune. Que tipo de reação de hipersensibilidade esse paciente está sofrendo?
- (A) Tipo I
(B) Tipo II
(C) Tipo III
(D) Tipo IV (DTH)
7. Qual dos seguintes tipos de célula expressam receptores para a IgE em sua superfície celular que estimula a célula a montar uma resposta aos parasitos, tais como vermes?
- (A) Células T
(B) Células B
(C) Pró-monócitos
(D) Células NK
(E) Mastócitos
8. Qual teste imunológico é amplamente empregado para enumerar precisamente e coletar células expressando um antígeno ligado por anticorpo monoclonal fluorescente?
- (A) Elisa
(B) Imunofluorescência direta
(C) *Western blotting*
(D) Separador de células ativado por fluorescência (FACS)
(E) Imunofluorescência indireta
9. Em qualquer molécula de imunoglobulina, as cadeias leves são
- (A) Idênticas entre si, exceto em seus determinantes antigênicos
(B) Idênticas entre si
(C) Idênticas entre si, exceto em suas regiões hipervariáveis
(D) De seqüências semelhantes mas com diferentes aminoácidos
(E) Idênticas entre si, exceto em seu domínio estrutural total
10. Os complexos antígeno-anticorpo são fagocitados mais efetivamente na presença de qual componente do complemento?
- (A) C3a e C5a
(B) C3b
(C) Complexo C56789
(D) MBL
(E) Properdina
11. As células NK expressam um receptor destruidor semelhante à imunoglobulina que reconhece:
- (A) Moléculas MHC da classe I
(B) Moléculas MHC da classe II
(C) Moléculas de adesão em células
(D) Moléculas de glicofosfolídeos
(E) Moléculas CD40
12. A célula que exerce um papel crítico na resposta imune inata, e mata células infectadas por vírus é:
- (A) Célula T
(B) Neutrófilo
(C) Célula NK
(D) Macrófago
(E) Célula B
13. A citocina que ativa células, para expressar MHC classe II e proteger as células da infecção viral é:
- (A) IFN- α
(B) IL-6
(C) IFN- γ
(D) TNF- α
(E) IL-10
14. Qual o tipo de reação de hipersensibilidade resulta na liberação de histamina mediada por IgE?
- (A) Tipo 1
(B) Tipo 2
(C) Tipo 3
(D) Tipo 4
15. A interação de uma molécula antigênica de um patógeno com seu TLR específico resulta em:
- (A) Apresentação do antígeno à células T auxiliares
(B) Ativação celular e produção de citocinas e quimiocinas
(C) Produção de IgG
(D) Troca de classe da imunoglobulina
(E) Fagocitose

Respostas

- | | | | |
|------|------|-------|-------|
| 1. C | 5. A | 9. B | 13. C |
| 2. B | 6. B | 10. B | 14. A |
| 3. E | 7. E | 11. A | 15. B |
| 4. A | 8. D | 12. C | |

REFERÊNCIAS

- Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S: *Cellular and Molecular Immunology*, 7th ed. Saunders Elsevier, 2012.
- Detrick B, Hamilton RG, Folds JD: *Manual of Molecular and Clinical Laboratory Immunology*, 7th ed. ASM Press, 2006.
- Murphy K, Travers P, Wolport M: *Janeway's Immunobiology*, 8th ed. Garland Science, 2011.
- Nairn R, Helbert M: *Immunology for Medical Students*, 2nd ed. Mosby/Elsevier, 2007.
- O’Gorman MRG, Donnenberg AD: *Handbook of Human Immunology*, 2nd ed. CRC Press, 2008.
- Paul WE (editor): *Fundamental Immunology*, 6th ed. Wolters Kluwer/Lippincott Williams & Wilkins, 2008.



Patogênese da infecção bacteriana

A patogênese da infecção bacteriana abrange o início do processo infeccioso e os mecanismos que levam ao aparecimento dos sinais e sintomas da doença. Os fatores bioquímicos estruturais e genéticos que desempenham um papel importante na patogênese bacteriana são discutidos neste capítulo e podem ser revistos nos capítulos específicos para cada microrganismo. As bactérias patogênicas caracterizam-se por sua capacidade de disseminação, aderência e persistência, bem como invasão de células e tecidos do hospedeiro, toxigenicidade e capacidade de escapar ou sobreviver ao sistema imunológico do hospedeiro. A resistência a antimicrobianos e a desinfetantes também pode

contribuir para **virulência** ou para capacidade do microrganismo em causar doença. Muitas infecções causadas por bactérias geralmente tidas como patógenos são inaparentes ou assintomáticas. Ocorrerá doença se as bactérias ou reações imunológicas à sua presença prejudicarem o hospedeiro.

Os termos frequentemente empregados para descrever os aspectos da patogênese estão definidos no Glossário (ver adiante). No Glossário do Capítulo 8, encontram-se as definições dos termos utilizados em imunologia bem como os empregados para descrever aspectos da resposta do hospedeiro à infecção.

GLOSSÁRIO

Aderência (adesão, fixação): processo pelo qual as bactérias se fixam à superfície das células do hospedeiro. Após as bactérias terem penetrado no organismo, a aderência constitui uma etapa inicial importante no processo de infecção. Os termos aderência, adesão e fixação frequentemente são utilizados como sinônimos.

Infecção: multiplicação de um agente infeccioso no corpo. A multiplicação das bactérias que fazem parte da microbiota normal do trato gastrointestinal, da pele e assim por diante, geralmente não é considerada uma infecção. Já a multiplicação de bactérias patogênicas (p. ex., espécies de *Salmonella*) — mesmo quando o indivíduo se mostra assintomático — é tida como uma infecção.

Invasão: processo pelo qual bactérias, parasitos animais, fungos e vírus penetram nas células ou nos tecidos do hospedeiro e disseminam-se pelo corpo.

Microbiota: microrganismos que colonizam diferentes sítios de indivíduos saudáveis.

Não patógeno: microrganismo que não provoca doença; pode fazer parte da microbiota normal.

Patogenicidade: capacidade que um agente infeccioso tem de provocar doença. (Ver também Virulência.)

Patógeno: microrganismo capaz de causar doença.

Patógeno oportunista: agente capaz de provocar doença apenas quando a resistência do hospedeiro está comprometida (*i. e.*, quando o paciente se encontra “imunocomprometido”).

Portador: indivíduo ou animal com infecção assintomática, que pode ser transmitida a outro indivíduo ou animal suscetível.

Superantígenos: toxinas que ativam o sistema imunológico se ligando diretamente à cadeia β do complexo de histo-

compatibilidade principal (MHC) e ao receptor de linfócito T (*T cell receptor*, TCR), assim resultando em intensa ativação policlonal de células T e na produção maciça de citocinas.

Toxigenidade: capacidade que um microrganismo tem de produzir uma toxina que contribui para o desenvolvimento de doença.

Virulência: capacidade quantitativa de um agente provocar doença. Os agentes virulentos causam doença quando introduzidos no hospedeiro em pequeno número. A virulência envolve aderência, persistência, invasão e toxigenicidade (ver anteriormente).

IDENTIFICAÇÃO DAS BACTÉRIAS QUE CAUSAM DOENÇA

Os seres humanos e os animais possuem uma **microbiota** normal abundante que habitualmente não provoca doença (Cap. 10), mas que atinge o equilíbrio com o hospedeiro, garantindo a sobrevivência, o crescimento e a propagação não apenas das bactérias, mas também do hospedeiro. Algumas bactérias que constituem importantes causas de doença crescem comumente com a microbiota normal (p. ex., *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*). Algumas vezes, verifica-se a presença de bactérias nitidamente patogênicas (p. ex., *Salmonella typhi*), porém a infecção permanece latente ou subclínica, de modo que o hospedeiro é um “portador” das bactérias.

Pode ser difícil mostrar que determinada espécie bacteriana constitui a causa de uma doença específica. Em 1884, Robert Koch propôs uma série de postulados que foram amplamente aplicados para correlacionar muitas espécies bacterianas específicas com determinadas doenças. Os **postulados de Koch** estão resumidos no Quadro 9.1.

Os postulados de Koch continuam sendo uma base essencial da microbiologia; no entanto, desde o fim do século XIX, constatou-se que muitos microrganismos que não preenchem os critérios dos postulados de Koch também provocam doença. Assim, por exemplo, o *Treponema pallidum* (sífilis) e o *Mycobacterium leprae* (hanseníase) não podem ser cultivados *in vitro*; entretanto, existem modelos de infecção em animais com esses agentes. Outro exemplo é a *Neisseria gonorrhoeae* (gonorreia), para a qual não há modelo de infecção em animais, embora possa ser facilmente cultivada *in vitro*, tendo sido produzidas infecções experimentais em seres humanos que substituem o modelo animal.

Em outros casos, os postulados de Koch foram satisfeitos, pelo menos em parte, ao se demonstrar a patogenicidade bacteriana em um modelo de infecção *in vitro*, em vez de um modelo em animal. Por exemplo, algumas formas de diarreia induzida por *Escherichia coli* (Cap. 15) foram definidas pela interação dessa bactéria com células do hospedeiro em cultura.

As respostas imunológicas do hospedeiro também devem ser consideradas quando se investiga a presença de determinado

QUADRO 9.1 Regras para o estabelecimento das causas das doenças infecciosas

Postulados de Koch	Postulados de Koch moleculares	Regras moleculares para o estabelecimento da relação micróbio-doença
1. O microrganismo deve ser encontrado em todos os casos da doença em questão e sua distribuição no corpo deve estar em concordância com as lesões observadas	1. O fenótipo ou propriedade sob investigação deve estar significativamente associado a cepas patogênicas de uma espécie e não a cepas não patogênicas	1. A sequência de ácidos nucleicos de um patógeno putativo deve estar presente na maior parte dos casos de uma doença infecciosa e preferencialmente em locais anatômicos onde o patógeno é evidente
2. O microrganismo deve crescer em cultura pura <i>in vitro</i> (ou fora do corpo do hospedeiro) por diversas gerações	2. A inativação específica de um gene ou genes associados à virulência deve levar a uma diminuição mensurável da patogenicidade ou da virulência	2. A sequência de ácidos nucleicos de um patógeno putativo deve estar ausente na maior parte dos controles saudáveis. Se a sequência for detectada em controles saudáveis, ela deve estar presente com baixa prevalência quando comparada com o número de pacientes que têm a doença, e em um baixo número de cópias
3. Quando tal cultura pura for inoculada em um animal suscetível, deverá resultar no surgimento da doença típica	3. Reversão ou substituição de um gene mutado com um gene selvagem deve levar a restauração da patogenicidade ou virulência	3. O número de cópias de uma sequência de ácidos nucleicos associados a um patógeno deve diminuir ou tornar-se não detectável com a resolução da doença (p. ex., com um tratamento eficaz) e deve aumentar em casos de recidiva ou recorrência da doença
4. O microrganismo deve ser novamente isolado de lesões que produziram doença no modelo experimental		4. A presença de uma sequência de ácidos nucleicos associada a um patógeno em indivíduos sadios deve ajudar a prever o desenvolvimento subsequente da doença
		5. A natureza do patógeno inferido a partir da análise da sequência de ácidos nucleicos deve ser condizente com as características biológicas conhecidas dos organismos relacionados com a natureza da doença. A importância de uma sequência microbiana detectada está aumentada quando o genótipo microbiano prevê a morfologia e a patologia microbianas, as características clínicas da doença e a resposta do hospedeiro

microrganismo como possível causa de uma doença. Por conseguinte, a ocorrência de elevação nos títulos de anticorpos específicos durante a recuperação da doença constitui um importante auxiliar dos postulados de Koch.

A moderna genética microbiana abriu novas fronteiras para o estudo das bactérias patogênicas e sua diferenciação das não patogênicas. A clonagem molecular possibilitou aos pesquisadores isolar e modificar genes de virulência específicos, estudando-os em modelos de infecção. A capacidade de estudar genes associados à virulência levou à proposição dos **postulados moleculares de Koch**, resumidos no Quadro 9.1.

O crescimento de alguns patógenos em cultura é difícil ou mesmo impossível, e por esse motivo não é possível estabelecer a causa das doenças a eles associadas com base nos postulados de Koch ou nos postulados moleculares de Koch. Utiliza-se a reação em cadeia da polimerase para amplificar as sequências de ácidos nucleicos específicas do microrganismo isoladas de tecidos ou líquidos do hospedeiro, empregadas para a identificação dos microrganismos infectantes. As diretrizes moleculares para o estabelecimento da causa da doença microbiana estão relacionadas no Quadro 9.1. Essa abordagem foi utilizada para o estabelecimento das causas de várias doenças, como a doença de Whipple (*Tropheryma whipplei*), angiomatose bacilar (*Bartonella henselae*), erliquiose monocítica humana (*Ehrlichia chaffeensis*), síndrome pulmonar por hanta-vírus (vírus *Sin Nombre*) e sarcoma de Kaposi (herpes-vírus humano 8).

A análise da infecção e da doença mediante a aplicação de certos princípios, como os postulados de Koch, leva à classificação das bactérias como patógenos, patógenos oportunistas e não patógenos. Algumas espécies bacterianas são sempre consideradas patogênicas, e sua presença é anormal. Como exemplos podemos citar o *Mycobacterium tuberculosis* (tuberculose) e *Yersinia pestis* (peste), bactérias que satisfazem facilmente os critérios dos postulados de Koch. Outras espécies fazem parte comumente da microbiota normal de seres humanos (e animais), mas também podem, com frequência, causar doença. Assim, por exemplo, a *E. coli* pertence à microbiota gastrintestinal dos seres humanos saudáveis, mas também representa uma causa comum das infecções do trato urinário, diarreia do viajante e outras doenças. As cepas da *E. coli* que provocam doença são diferenciadas daquelas que não o fazem pela determinação (1) da existência ou não de virulência em animais e modelos de infecção *in vitro*, bem como (2) da constituição genética significativamente associada à produção da doença. Outras bactérias (p. ex., espécies de *Pseudomonas*, *Stenotrophomonas maltophilia* e muitas leveduras e bolores) só provocam doença em indivíduos imunodeprimidos ou debilitados, e constituem **patógenos oportunistas**.

TRANSMISSÃO DA INFECÇÃO

As bactérias (e outros microrganismos) podem se adaptar a uma variedade de ambientes que incluem fontes externas como: solo, água e matéria orgânica ou em ambientes internos encontrados nos insetos vetores, animais e em seres humanos, onde normalmente habitam e subsistem. Assim, dotadas dessa capacidade, as bactérias asseguram sua sobrevivência e aumentam a possibilidade de transmissão. Ao produzirem infecção assintomática ou doença leve, em vez de levarem à morte do

hospedeiro, os microrganismos que normalmente habitam em seres humanos aumentam a possibilidade de transmissão de uma pessoa para outra.

Algumas bactérias que costumam provocar doença em seres humanos habitam principalmente em animais e infectam incidentalmente os seres humanos. Por exemplo, as espécies de *Salmonella* e *Campylobacter* infectam os animais, sendo transmitidas aos seres humanos através de produtos alimentares. Outras bactérias produzem infecções de modo inadvertido em seres humanos, constituindo um erro no ciclo de vida normal do microrganismo; nesses casos, os microrganismos não se adaptam aos seres humanos, e a doença que provocam pode ser grave. Por exemplo, a *Y. pestis* (peste) tem um ciclo de vida bem estabelecido em roedores e pulgas de roedores, e a transmissão pelas pulgas a seres humanos é inadvertida; o *Bacillus anthracis* (antraz) é encontrado no meio ambiente, infecta ocasionalmente animais e é transmitido aos seres humanos por certos produtos de animais infectados, como pelos. As espécies de *Clostridium* são onipresentes no meio ambiente, e são transmitidas aos seres humanos por ingestão (p. ex., gastroenterite por *C. perfringens* e *C. botulinum* [botulismo]), ou quando ocorre contaminação de feridas pelo solo (p. ex., *C. perfringens* [gangrena gasosa] e *C. tetani* [tétano]). Tanto *Bacillus anthracis* quanto as espécies de *Clostridium* formam esporos que protegem o ácido nucleico de diferentes fatores ambientais hostis como radiação ultravioleta, dessecação, detergentes químicos e alterações de pH. Esses esporos asseguram a sobrevivência do material genético em ambientes externos incluindo os alimentos ingeridos pelo ser humano, que após sua ingestão ou inoculação germinam retornando ao estado vegetativo metabolicamente ativo do patógeno.

As manifestações clínicas das doenças (p. ex., diarreia, tosse, corrimento vaginal) causadas por microrganismos frequentemente promovem a transmissão dos agentes. A seguir são apresentados alguns exemplos de síndromes clínicas e o modo pelo qual aumentam a transmissão das bactérias patogênicas: o *Vibrio cholerae* pode causar diarreia volumosa, que pode contaminar a água do mar e a água doce; por conseguinte, tanto a água potável quanto os frutos do mar, como ostras e caranguejos, podem ser contaminados; a ingestão de água ou frutos do mar contaminados pode provocar infecção e doença. De modo semelhante, a contaminação dos alimentos com água de esgoto que contenha *E. coli*, que causa diarreia, resulta em transmissão da bactéria. O *M. tuberculosis* (tuberculose) infecta naturalmente apenas os seres humanos, provocando doença respiratória com tosse e produção de perdigotos, o que resulta em transmissão da bactéria de uma pessoa para outra.

Muitas bactérias são transmitidas de uma pessoa para outra por meio das mãos. Uma pessoa portadora de *S. aureus* na parte anterior das narinas pode esfregar o nariz, contaminar as mãos com os estafilococos e disseminá-los para outras partes do corpo ou para outra pessoa, resultando em infecção. Muitos patógenos oportunistas que provocam infecções hospitalares são transmitidos de um paciente para outro por meio das mãos de membros da equipe hospitalar. Por conseguinte, a lavagem das mãos constitui um importante componente no controle das infecções.

As mais frequentes **portas de entrada das bactérias patogênicas** são os locais do corpo nos quais as mucosas entram em contato com a pele: vias respiratórias (superiores e inferiores), trato gastrintestinal (principalmente a boca), trato genital e

vias urinárias. As áreas anormais das mucosas e da pele (p. ex., cortes, queimaduras e outras lesões) também são portas de entrada frequentes. A pele e as membranas mucosas constituem o mecanismo de defesa primária contra a infecção. Para causar doença, os patógenos precisam vencer essas barreiras.

O PROCESSO INFECCIOSO

No corpo, as bactérias que causam doenças têm de se aderir às células do hospedeiro, geralmente às células epiteliais. Estabelecido um local primário de infecção, as bactérias multiplicam-se e disseminam-se diretamente, através dos tecidos ou do sistema linfático, para a corrente sanguínea. Essa infecção (bacteriemia) pode ser transitória ou persistente, e permite que as bactérias se propaguem amplamente pelo corpo até alcançarem os tecidos particularmente apropriados para a sua multiplicação.

A pneumonia pneumocócica fornece um exemplo do processo infeccioso. O *S. pneumoniae* pode ser cultivado a partir de material da nasofaringe de 5 a 40% dos indivíduos saudáveis. Em certas ocasiões, os pneumococos da nasofaringe são aspirados para os pulmões, o que é mais comum nos indivíduos debilitados ou em determinadas situações, como, por exemplo, o coma, quando os reflexos normais da tosse e do vômito encontram-se diminuídos. Verifica-se o desenvolvimento de infecção nas vias respiratórias terminais dos pulmões de indivíduos que não produzem anticorpos protetores contra o antígeno capsular pneumocócico. A multiplicação dos pneumococos e a consequente inflamação resultam em pneumonia. Os pneumococos penetram nos vasos linfáticos dos pulmões e dirigem-se para a corrente sanguínea. Entre 10 e 20% dos indivíduos com pneumonia pneumocócica apresentam bacteriemia por ocasião do diagnóstico de pneumonia. Quando ocorre bacteriemia, os pneumococos podem disseminar-se para locais secundários de infecção (p. ex., líquido cefalorraquidiano, valvas cardíacas, espaços articulares). As principais complicações da pneumonia pneumocócica consistem em meningite, artrite séptica e raramente endocardites.

O processo infeccioso no cólera envolve a ingestão de *V. cholerae*, atração quimiotática das bactérias para o epitélio intestinal, motilidade das bactérias por meio de um único flagelo polar e penetração na camada mucosa da superfície intestinal. A aderência do *V. cholerae* à superfície das células epiteliais é mediada por *pili* e, possivelmente, por outras adesinas. A produção da toxina colérica resulta em fluxo de cloreto e água no lúmen intestinal, provocando diarreia e desequilíbrio eletrolítico.

A GENÔMICA E A PATOGENICIDADE BACTERIANA

As bactérias são haploides (Cap. 7) e limitam as interações genéticas passíveis de alterar seus cromossomos e de afetar potencialmente sua adaptação e sua sobrevivência em nichos ambientais específicos.

A natureza clonal das bactérias patogênicas

Importante consequência da conservação dos genes cromossômicos nas bactérias é o fato de os microrganismos serem

clonais. Para a maioria dos patógenos, existem apenas um ou alguns tipos clonais que se disseminam no mundo durante certo período. Por exemplo, a meningite meningocócica epidêmica do sorogrupo A ocorre na Ásia, no Oriente Médio e na África, e, em certas ocasiões, propaga-se para a Europa Setentrional e para as Américas. Em várias ocasiões, ao longo de várias décadas, observou-se o aparecimento de tipos clonais isolados da *Neisseria meningitidis* do sorogrupo A em uma região geográfica e, posteriormente, em outras regiões, resultando em doença epidêmica. Existem muitos tipos do *Haemophilus influenzae*, mas apenas o clone do *H. influenzae* tipo b costuma estar associado à ocorrência de doença*. Existem dois tipos clonais da *Bordetella pertussis*, ambos associados a doença. De modo semelhante, a *S. Typhi* (causadora da febre tifoide) possui dois tipos clonais. Entretanto, há mecanismos que a bactéria utiliza, ou que foram usados há muito tempo, para transmitir genes de virulência de uma para outra.

Elementos genéticos móveis

Os mecanismos primários de troca de informação genética entre bactérias incluem a transformação natural e a transmissão de elementos genéticos móveis tais como plasmídeos, transpósons e bacteriófagos (frequentemente referidos como “fagos”). A transformação ocorre quando o DNA de um organismo é liberado para o ambiente e incorporado por um organismo diferente capaz de reconhecer e de se ligar a esse DNA. Em outros casos, os genes que codificam muitos fatores de virulência bacteriana são carregados por plasmídeos ou fagos. Plasmídeos são estruturas extracromossômicas que apresentam capacidade de autorreplicação e transpósons são segmentos de DNA que podem se mover de um ponto para outro na fita de DNA. Esses dois fenômenos podem resultar em recombinação entre o DNA extracromossômico e o cromossômico (recombinação ilegítima ou não homóloga; Cap. 7). Se essa recombinação se verifica, os genes que codificam os fatores de virulência podem tornar-se cromossômicos. Finalmente, vírus bacterianos ou fagos são outros mecanismos pelos quais o DNA pode ser transferido de um organismo para outro. A transferência desses elementos genéticos entre membros de uma mesma espécie ou, menos comumente, interespecies pode resultar em transferência de fatores de virulência, incluindo genes de resistência a antimicrobianos. Alguns exemplos de fatores de virulência codificados em fagos ou plasmídeos estão no Quadro 9.2.

Ilhas de patogenicidade

Grandes grupos de genes associados à patogenicidade e localizados no cromossomo bacteriano são chamados de ilhas de patogenicidade (PAI — *pathogenicity islands*). Existem grandes grupos de genes organizados, com tamanho entre 10 e 200 kb. As principais propriedades das PAI são as seguintes: possuem um ou mais genes de virulência; estão presentes no genoma dos

* N. de T. Embora o *H. influenzae* do tipo b seja o principal patógeno do gênero, a implementação das vacinas conjugadas no esquema da vacinação em diferentes países está levando a pressão seletiva e consequentemente, um maior isolamento de outros biotipos não 1 e de outros sorotipos como o a, além de amostras de *H. influenzae* não tipáveis (HiNT) associadas a infecções como otite média e pneumonias.

QUADRO 9.2 Exemplos de fatores de virulência codificados por genes em elementos genéticos móveis

Gênero/Espécie	Fator de virulência e doença
Codificados por plasmídeo	
<i>Escherichia coli</i>	Enterotoxinas termoestáveis e termolábeis que causam diarreia
<i>Escherichia coli</i>	Hemolisina (citotoxina) de doença invasiva e infecções do trato urinário
<i>Escherichia coli</i> e espécies de <i>Shigella</i>	Fatores de aderência e produtos gênicos envolvidos em invasão de mucosas
<i>Bacillus anthracis</i>	Cápsula, essencial para virulência (em um plasmídeo). Fator edema, fator letal e antígeno protetor são todos essenciais para virulência Fator de edema, fator letal, antígeno protetor, todos essenciais para virulência (em outro plasmídeo)
Codificados por fago	
<i>Clostridium botulinum</i>	Toxina botulínica que causa paralisia
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	Toxina diftérica que inibe a síntese de proteínas humanas
<i>Vibrio cholerae</i>	Toxina do cólera, que pode causar diarreia aquosa grave

membros patogênicos de uma espécie; são de grande tamanho; geralmente possuem um conteúdo de guanina mais citosina (G + C) diferente do restante do genoma bacteriano; estão normalmente associadas a genes do RNAt; são geralmente encontradas com partes do genoma associado a elementos genéticos móveis; com frequência apresentam instabilidade genética e

representam estruturas em mosaico com componentes adquiridos em momentos diferentes. Em conjunto, as propriedades das PAI sugerem que se originaram de transferência gênica a partir de diferentes espécies. Alguns exemplos de PAI dos fatores de virulência encontram-se no Quadro 9.3.

REGULAÇÃO DOS FATORES DE VIRULÊNCIA BACTERIANOS

As bactérias patogênicas (e outros patógenos) adaptaram-se tanto ao estado saprofítico quanto ao estado de vida livre, possivelmente a ambientes extracorporais, bem como ao hospedeiro humano. Em seu processo de adaptação, os patógenos preservaram suas necessidades e seus produtos metabólicos. Desenvolveram complexos sistemas de transdução de sinais para regular os genes importantes relacionados com a virulência. Os sinais ambientais frequentemente controlam a expressão dos genes de virulência. Os sinais comuns consistem em temperatura, disponibilidade de ferro, osmolalidade, fase de crescimento, pH e íons específicos (p. ex., Ca^{2+}) ou fatores nutrientes. Nos parágrafos que se seguem são apresentados alguns exemplos.

O gene da toxina diftérica do *Corynebacterium diphtheriae* é transportado por bacteriófagos temperados. A toxina só é produzida por cepas lisogenizadas pelos fagos. A produção de toxina aumenta acentuadamente quando *C. diphtheriae* cresce em um meio com baixo conteúdo de ferro.

A expressão dos genes de virulência de *B. pertussis* aumenta quando as bactérias crescem a 37°C, mas é suprimida a temperaturas mais baixas ou na presença de altas concentrações de sulfato de magnésio ou ácido nicotínico.

Os fatores de virulência de *V. cholerae* são regulados em múltiplos níveis e inúmeros fatores ambientais. A expressão da toxina colérica é maior em pH de 6,0 do que em pH de 8,5, e também é maior a 30°C do que a 37°C.

QUADRO 9.3 Alguns exemplos do elevado número de ilhas de patogenicidade (PAI) em patógenos humanos

Gênero/Espécie	Nome da PAI	Características de virulência
<i>Escherichia coli</i>	PAI I ₅₃₆ II ₅₃₆	Alfa hemolisina, fímbrias, aderências, em infecções do trato urinário
<i>Escherichia coli</i>	PAI I ₉₆	Alfa hemolisina, <i>pilus P</i> , em infecções do trato urinário
<i>Escherichia coli</i> (EHEC)	O157	Toxina de macrófagos em <i>E. coli</i> êntero-hemorrágica (EHEC)
<i>Salmonella typhimurium</i>	SPI-1	Invasão e destruição das células hospedeiras, diarreia
<i>Yersinia pestis</i>	HPI/pgm	Genes que aumentam a captação de ferro
<i>Vibrio cholerae</i> El Tor O1	VPI-1	Neuraminidase, utilização de aminoaçúcares
<i>Staphylococcus aureus</i>	SCC mec	Resistência a metilina e outros antibióticos
<i>Staphylococcus aureus</i>	SaPI1	Toxina 1 da síndrome do choque tóxico, enterotoxina
<i>Enterococcus faecalis</i>	NP ^m	Citolisina, formação de biofilme

PAI, ilha de patogenicidade.

SPI, ilha de patogenicidade de *Salmonella*.

HPI, ilha de alta patogenicidade.

VPI, ilha de patogenicidade de *Vibrio*.

SCC, cassete cromossômico estafilocócico mec.

SaPI, ilha de patogenicidade de *Staphylococcus aureus*.

NP, não protease.

A osmolalidade e a composição dos aminoácidos também são importantes. Até 20 outros genes do *V. cholerae* são regulados de maneira semelhante.

Y. pestis produz uma série de plasmídeos de virulência que codificam determinadas proteínas, uma das quais é uma fração antifagocítica da proteína capsular que resulta em função antifagocítica. Esta proteína tem sua expressão máxima entre 35 e 37°C, a temperatura do hospedeiro, e minimamente entre 20 e 28°C, que corresponde à temperatura da pulga, na qual a atividade antifagocítica não se faz necessária. A regulação dos outros fatores de virulência em espécies de *Yersinia* também é influenciada por fatores ambientais.

A motilidade das bactérias permite sua disseminação e multiplicação em seus nichos ambientais ou nos indivíduos. A *Yersinia enterocolitica* e a *Listeria monocytogenes* são comuns no ambiente em que a motilidade se torna importante para essas bactérias. Presumivelmente, a motilidade não é importante na patogênese das doenças causadas por essas espécies. A *Y. enterocolitica* é móvel quando cresce a 25°C, mas não quando cresce a 37°C. De modo semelhante, a *Listeria* é móvel quando cresce a 25°C e imóvel ou com motilidade mínima quando cresce a 37°C.

FATORES DE VIRULÊNCIA BACTERIANOS

Muitos fatores determinam a virulência bacteriana ou a capacidade de provocar infecção e doença.

Fatores de aderência

Após as bactérias penetrarem no hospedeiro, precisam aderir as células de um tecido. Se não conseguirem fazê-lo, serão eliminadas pelo muco e por outros líquidos que banham a superfície tecidual. A aderência, que constitui apenas uma etapa no processo infeccioso, é seguida pelo desenvolvimento de microcolônias e por etapas subsequentes na patogênese da infecção.

As interações entre as bactérias e as superfícies celulares dos tecidos no processo de aderência são complexas. Diversos fatores desempenham importantes papéis: a hidrofobicidade superficial e a carga efetiva da superfície; as moléculas de ligação nas bactérias (ligantes) e interações dos receptores das células do hospedeiro. As bactérias e células do hospedeiro geralmente possuem cargas negativas na superfície e, portanto, forças eletrostáticas repulsivas, superadas por interações hidrofóbicas e outras mais específicas entre as bactérias e as células do hospedeiro. Em geral, quanto mais hidrofóbica for a superfície da célula bacteriana, maior será sua aderência à célula do hospedeiro. Diferentes cepas de bactérias de uma mesma espécie podem variar bastante quanto a suas propriedades superficiais hidrofóbicas e sua capacidade de aderir às células do hospedeiro.

As bactérias também possuem moléculas de superfície específicas que interagem com as células do hospedeiro. Muitas são dotadas de *pili* ou *fímbrias*, apêndices semelhantes a “pelos” que se estendem a partir da superfície da célula bacteriana e ajudam a mediar a aderência das bactérias à superfície das células do hospedeiro. Por exemplo, algumas cepas da *E. coli* possuem *pili* tipo 1, que aderem a receptores de células epiteliais; a aderência pode ser bloqueada *in vitro* pela adição de D-manose ao meio. As *E. coli* que causam infecções do trato urinário não costumam exibir

aderência mediada pela D-manose*, mas possuem *pili* P, que se fixam a uma porção do antígeno de grupo sanguíneo P; a estrutura de reconhecimento mínima é o dissacarídeo α -D-galactopiranosil-(1 a 4)- β -D-galactopiranosídeo (adesão de ligação GAL-GAL). As amostras de *E. coli*, que provocam doenças diarreicas (ver Cap. 15), exibem aderência mediada por diferentes tipos de *pili* (fímbrias) em células epiteliais do intestino. Os tipos *pili* e os seus mecanismos moleculares específicos de aderência são diferentes, dependendo da cepa de *E. coli* que induz a diarreia.

Outros mecanismos específicos de ligantes-receptores estão envolvidos na aderência das bactérias às células do hospedeiro, ilustrando os diversos mecanismos empregados pelas bactérias. Os estreptococos do grupo A (*Streptococcus pyogenes*) (Cap. 14) também possuem apêndices filiformes, denominados fímbrias, que se estendem a partir da superfície celular. Nas fímbrias, são encontrados o ácido lipoteicoico, a proteína F e a proteína M. O ácido lipoteicoico e a proteína F induzem a aderência dos estreptococos às células epiteliais bucais, mediada pela fibronectina, que atua como molécula receptora da célula do hospedeiro. A proteína M atua como molécula antifagocítica e como um dos principais fatores de virulência. Os anticorpos dirigidos contra os ligantes bacterianos específicos que promovem a aderência (p. ex., *pili* e ácido lipoteicoico) podem bloquear a aderência às células do hospedeiro e, assim, protegê-lo de infecção.

Após a aderência, mudanças conformacionais ocorrem na célula hospedeira provocando alterações do citoesqueleto de actina, resultando na endocitose do microrganismo pela célula. Algumas vezes, essas adesinas após promoverem a aderência ativam genes de virulência associados à invasão ou outras mudanças patogênicas descritas adiante.

Invasão das células e dos tecidos do hospedeiro

Para muitas bactérias que causam doença, a invasão do epitélio do hospedeiro é essencial para o processo infeccioso. Algumas bactérias (p. ex., espécies de *Salmonella*) invadem os tecidos através das junções existentes entre as células epiteliais. Outras bactérias (p. ex., espécies de *Yersinia*, *N. gonorrhoeae*, *Chlamydia trachomatis*) invadem tipos específicos de células epiteliais do hospedeiro, podendo, subsequentemente, penetrar nos tecidos. No interior da célula do hospedeiro, as bactérias podem permanecer encerradas em um vacúolo constituído pela membrana celular do hospedeiro, ou a membrana do vacúolo pode dissolver-se, permitindo a dispersão das bactérias no citoplasma. Algumas bactérias (p. ex., espécies de *Shigella*) multiplicam-se no interior da célula do hospedeiro, enquanto outras, não.

O termo invasão costuma ser utilizado para descrever a entrada das bactérias nas células do hospedeiro, implicando um

* N. de T. Na realidade, as fímbrias do tipo 1 (manose sensível) desempenham diferentes funções importantes no processo de patogenicidade das amostras de *E. coli* uropatogênica (UPEC). As fímbrias do tipo 1 se ligam às glicoproteínas uroteliais ricas em manose (uroplaquinas Ia e IIa), através da subunidade fimH, que funciona como adesina e está localizada na ponta da fímbria. Esta interação resulta na invasão e na apoptose das células uroteliais. As fímbrias do tipo 1, juntamente com as fímbrias P também atuam em sinergia facilitando a colonização renal que pode resultar em obstrução do néfron. Além disso, a proteína Tamm-Horsfall (THP), produzida por células renais é liberada na urina humana e pode atuar como um receptor solúvel para fimH, obstruindo a interação célula-hospedeiro e limitando a capacidade de UPEC em colonizar o trato urinário.

papel ativo para os microrganismos e um papel passivo para as células do hospedeiro. Em muitas infecções, as bactérias produzem fatores de virulência que influenciam as células do hospedeiro, induzindo-as a ingerir as bactérias. As células do hospedeiro desempenham um papel muito ativo nesse processo.

Em geral, a produção de toxinas e outras propriedades de virulência são independentes da capacidade das bactérias de invadir células e tecidos. Por exemplo, *Corynebacterium diphtheriae* é capaz de invadir o epitélio da nasofaringe e provocar faringite sintomática mesmo quando as cepas de *C. diphtheriae* não são toxigênicas.

Estudos *in vitro* com células em cultura de tecido ajudaram a caracterizar os mecanismos de invasão de alguns patógenos; todavia, os modelos *in vitro* não fornecem necessariamente um quadro completo do processo de invasão. A compreensão global do processo, como ocorre na infecção adquirida naturalmente, exigiu o estudo de mutantes obtidos por engenharia genética bem como sua capacidade de infectar animais e seres humanos suscetíveis. Por conseguinte, a compreensão da invasão das células eucarióticas por bactérias exige que seja satisfeita grande parte dos postulados de Koch e dos postulados moleculares de Koch. Os parágrafos seguintes fornecem exemplos de invasão bacteriana de células do hospedeiro como parte do processo infeccioso.

As espécies de *Shigela* aderem às células do hospedeiro *in vitro*. Em geral, são utilizadas células HeLa, que consistem em células indiferenciadas não polarizadas obtidas de um carcinoma cervical. A aderência provoca a polimerização da actina na porção adjacente da célula HeLa, o que induz a formação de pseudópodos pelas células HeLa com a consequente ingestão das bactérias. A aderência e a invasão são mediadas, pelo menos em parte, por produtos de genes localizados em um grande plasmídeo comum a muitas *Shigelas*. Inúmeras proteínas, inclusive os **antígenos do plasmídeo de invasão** (IpA-D, *invasion plasmid antigens*), contribuem para o processo. No interior das células HeLa, as *Shigelas* são liberadas ou escapam da vesícula fagocítica, multiplicando-se no citoplasma. A polimerização da actina impulsiona os microrganismos para o interior de uma célula HeLa e de uma célula para outra. *In vivo*, as *Shigelas* aderem a integrinas na superfície das células M nas placas de Peyer, e não às células de absorção polarizadas da mucosa. Normalmente, as células M selecionam antígenos e os apresentam aos macrófagos na submucosa. As *Shigelas* são fagocitadas pelas células M, passam através delas e escapam à ação dos macrófagos. As *Shigelas* situadas no interior das células M e dos macrófagos podem matar essas células por ativação do processo de morte celular (apoptose). As *Shigelas* disseminam-se pelas células adjacentes da mucosa de modo semelhante ao modelo de invasão celular *in vitro*, por polimerização da actina, que impulsiona a bactéria.

Com base em estudos que utilizaram células *in vitro*, parece que o processo de aderência-invasão da *Yersinia enterocolitica* assemelha-se ao da *Shigella*. A *Yersinia* adere à membrana celular do hospedeiro e induz a projeção de extensões protoplasmáticas. Em seguida, as bactérias são ingeridas pela célula do hospedeiro, com a formação de vacúolos; posteriormente, a membrana do vacúolo se dissolve. A invasão aumenta quando as bactérias são cultivadas a 22°C mais do que a 37°C. Após a penetração da *Yersinia* na célula, a membrana vacuolar dissolve-se, e as bactérias são liberadas no citoplasma. *In vivo*, acredita-se que as espécies de *Yersinia* possam aderir às células

M das placas de Peyer e invadi-las em vez de fazê-lo nas células mucosas polarizadas de absorção, a exemplo da *Shigella*.

A *L. monocytogenes* presente no ambiente é ingerida nos alimentos. Presumivelmente, as bactérias aderem à mucosa intestinal, invadem-na, alcançam a corrente sanguínea e disseminam-se. A patogênese desse processo foi estudada *in vitro*. *L. monocytogenes* adere aos macrófagos e a células intestinais indiferenciadas cultivadas, invadindo-os rapidamente. As espécies de *Listeria* induzem a sua própria ingestão pelas células do hospedeiro. Uma proteína, a **internalina**, desempenha um papel primordial em tal processo. O processo de ingestão, movimento no interior da célula e deslocamento entre células, exige a polimerização da actina para impulsionar as bactérias, como no caso da *Shigella*.

Legionella pneumophila infecta os macrófagos pulmonares, provocando pneumonia. A aderência de *Legionella* ao macrófago induz a formação de um pseudópodo longo e delgado que, em seguida, se enrola ao redor da bactéria, formando uma vesícula (**fagocitose por enrolamento**). A vesícula permanece intacta; a fusão do fagolisossomo é inibida; e as bactérias multiplicam-se no interior da vesícula.

N. gonorrhoeae utiliza *pili* como adesinas primárias e **proteínas associadas à opacidade (Opa)** como adesinas secundárias às células do hospedeiro. Certas proteínas Opa medeiam a aderência das bactérias às células polimorfonucleares. Alguns gonococos sobrevivem após fagocitose por essas células. Juntos, os *pili* e as proteínas Opa aumentam a invasão das células cultivadas *in vitro*. Em culturas de tuba uterina (de Falópio), os gonococos aderem às microvilosidades das células não ciliadas e parecem induzir a sua ingestão por essas células. Os gonococos multiplicam-se no interior da célula e migram para o espaço subepitelial por um processo desconhecido.

Toxinas

Em geral, as toxinas produzidas por bactérias são classificadas em dois grupos: exotoxinas, e endotoxinas. As exotoxinas são proteínas frequentemente excretadas pela célula bacteriana. Contudo, algumas exotoxinas se acumulam no interior do citosol e são injetadas diretamente no interior da célula hospedeira ou são liberadas durante lise celular. As endotoxinas são moléculas lipídicas que são componentes da membrana da célula bacteriana. O Quadro 9.4 traz as principais características dos dois grupos.

A. Exotoxinas

Muitas bactérias gram-positivas e gram-negativas produzem exotoxinas de considerável importância clínica. Algumas dessas toxinas desempenharam importantes papéis na história mundial. Por exemplo, o tétano causado pela toxina do *C. tetani* matou até 50.000 soldados das forças do Eixo na Segunda Guerra Mundial; entretanto, as forças dos Aliados imunizaram os soldados contra tétano, de modo que apenas um número muito pequeno morreu por essa doença. Foram desenvolvidas vacinas para algumas das doenças mediadas por exotoxinas; tais vacinas continuam sendo importantes na prevenção de doenças. As vacinas — denominadas **toxóides** — são preparadas a partir das exotoxinas, modificadas de modo a perder sua toxicidade. Muitas exotoxinas consistem nas subunidades A e B. Em geral, a subunidade B medeia a aderência do complexo

QUADRO 9.4 Características das exotoxinas e endotoxinas (lipopolissacarídeos)

Exotoxinas	Endotoxinas
Excretadas pela célula viva; altas concentrações em meio líquido	Parte integrante da parede celular de bactérias gram-negativas. Liberadas com a morte bacteriana e em parte durante o crescimento. Pode não ser necessário que sejam liberadas para terem atividade biológica
Produzidas por bactérias gram-positivas e gram-negativas	Encontradas somente em bactérias gram-negativas
Polipeptídeos, com massa molecular de 10,000 a 900,000	Lipopolissacarídeos complexos. A porção lipídeo A provavelmente é responsável pela toxicidade
Relativamente instáveis; com frequência, a toxicidade é rapidamente destruída por aquecimento a temperaturas acima de 60°C	Relativamente estáveis; resistem ao aquecimento a temperaturas acima de 60°C por horas sem perda da toxicidade
Altamente antigênicas; estimulam a formação de altos títulos de antitoxina. A antitoxina neutraliza a toxina	Fracamente imunogênicas; anticorpos são antitóxicos e protetores. A relação entre títulos de anticorpos e proteção contra doenças é menos nítida do que com exotoxinas
Convertidas em toxoides não tóxicos e antigênicos por formalina, ácidos, aquecimento entre outros métodos. Os toxoides são usados para imunização (p. ex., toxoide tetânico)	Não convertidas em toxoides
Altamente tóxicas; fatal para animais em microgramas ou menos	Moderadamente tóxicas; fatais para animais em dezenas a centenas de microgramas
Geralmente ligadas a receptores específicos em células	Não possuem receptores específicos em células
Em geral, não provocam febre no hospedeiro	Em geral causam febre no hospedeiro por liberação de interleucina 1 e outros mediadores
Frequentemente controladas por genes extracromossômicos (p. ex., plasmídeos)	Síntese dirigida por genes cromossômicos

da toxina a uma célula do hospedeiro e ajuda na penetração da exotoxina no interior da célula. A subunidade A é que fornece a atividade tóxica. A seguir, são apresentados exemplos de alguns mecanismos patogênicos associados a exotoxinas. As toxinas de bactérias específicas são discutidas nos capítulos dedicados a essas bactérias.

C. diphtheriae é um bastonete gram-positivo capaz de crescer nas mucosas das vias respiratórias superiores ou em pequenas feridas cutâneas (Cap. 12). As cepas de *C. diphtheriae* que transportam um corinebacteriófago lisogênico temperado (fago- β ou fago- ω) com o gene estrutural da toxina são toxigênicas e produzem **toxina diftérica**, causando **difteria**. Muitos fatores regulam a produção da toxina; quando a disponibilidade de ferro inorgânico constitui o fator limitante da velocidade de crescimento, ocorre a máxima produção de toxina. A molécula de toxina é secretada em forma de molécula polipeptídica isolada (massa molecular [MM], 62,000). Essa toxina nativa é degradada enzimaticamente em dois fragmentos, A e B, ligados entre si por uma ponte dissulfeto. O fragmento B (MM, 40,700) liga-se a receptores específicos da célula do hospedeiro e facilita a entrada do fragmento A (MM, 21,150) no citoplasma. O fragmento A inibe o fator de alongamento da cadeia peptídica EF-2 ao catalisar uma reação que retira um radical adenosina difosfato ribosil da molécula de NAD e o transfere para o EF-2. Com o complexo inativo de difosfato de adenosina ribose-EF-2 ocorre a parada da síntese proteica que interrompe as funções fisiológicas normais da célula. A toxina diftérica é muito potente.

O *C. tetani* é um bastonete gram-positivo anaeróbio que provoca o tétano (Cap. 11). O *C. tetani* do ambiente contamina feridas, e os esporos germinam no ambiente anaeróbio do tecido desvitalizado. Com frequência, a infecção é insignificante e não se mostra clinicamente aparente. As formas vegetativas do *C. tetani* produzem a toxina **tetanospasmina** (MM, 150.000),

clivada por uma protease bacteriana em dois peptídeos (MM, 50.000 e MM, 100.000) ligados por uma ponte dissulfeto. Inicialmente, a toxina liga-se a receptores existentes nas membranas pré-sinápticas dos neurônios motores. Em seguida, migra pelo sistema de transporte axônico retrógrado pelos corpos celulares desses neurônios até a medula espinal e o tronco encefálico. A toxina difunde-se nas terminações de células inibitórias, inclusive interneurônios glicinérgicos e neurônios secretores do ácido γ -aminobutírico (GABA) do tronco encefálico. A toxina degrada a sinaptobrevina, uma proteína necessária para ligar as vesículas neurotransmissoras à membrana pré-sináptica. A liberação da glicina inibitória e do GABA é bloqueada, porém os neurônios motores não são inibidos. Em consequência ocorre paralisia espástica. Quantidades extremamente pequenas da toxina podem ser letais para os seres humanos. O tétano é uma doença totalmente passível de prevenção em indivíduos com sistema imunológico normal, mediante a imunização com toxoide tetânico.

C. botulinum provoca botulismo. Trata-se de um microrganismo gram-positivo e formador de esporos encontrado no solo ou na água, e que pode crescer em alimentos (p. ex., enlatados e pacotes embalados a vácuo) se o ambiente for apropriadamente anaeróbio. Produz uma toxina extremamente potente (a mais potente que se conhece), mas termolábil, sendo, portanto, destruída por aquecimento. Existem 7 tipos sorológicos distintos de toxina. Os tipos A, B, E e F estão mais comumente associados à doença humana. A toxina assemelha-se muito à toxina tetânica, com a clivagem de uma proteína com MM de 150.000 dalttons (Da) em duas proteínas com MM de 100.000 Da e MM de 50.000 Da ligadas por uma ponte dissulfeto. A toxina botulínica é absorvida pelo intestino e liga-se a receptores das membranas pré-sinápticas dos neurônios motores no sistema nervoso periférico e nos nervos cranianos. A proteólise pela cadeia leve da

toxina botulínica das proteínas-alvo nos neurônios inibe a liberação da acetilcolina nas sinapses, resultando em ausência de contração muscular e paralisia flácida.

Esporos de *C. perfringens* são introduzidos em feridas por contaminação com solo ou fezes. Na presença de tecido necrótico (ambiente anaeróbico), os esporos germinam, e as células vegetativas podem produzir várias toxinas diferentes. Muitas dessas toxinas são necrosantes e hemolíticas, e — juntamente com a distensão do tecido pelo gás formado a partir dos carboidratos e da interferência no suprimento sanguíneo — favorecem a propagação da **gangrena gasosa**. A **toxina alfa** do *C. perfringens* é uma **lecitinase** que lesiona as membranas celulares por clivagem da lecitina em fosforilcolina e diglicerídeo. A toxina teta também exerce efeito necrosante. Os clostrídeos produzem ainda colagenases e DNAses.

Algumas cepas de *S. aureus*, que crescem em mucosas (p. ex., na vagina em associação com a menstruação) ou feridas, elaboram a **toxina 1 da síndrome do choque tóxico (TSST 1)**, que provoca a **síndrome do choque tóxico** (Cap. 13). A doença caracteriza-se por choque, febre alta e exantema vermelho difuso que posteriormente se descama; além disso, ocorre o comprometimento de vários outros sistemas orgânicos. A TSST 1 é um superantígeno que estimula os linfócitos T a produzirem grandes quantidades de interleucina 2 (IL2) de fator de necrose tumoral (TNF) (Cap. 8). As principais manifestações clínicas da doença parecem secundárias aos efeitos das citocinas. Muitos dos efeitos sistêmicos da TSST 1 assemelham-se aos da toxicidade causada pelo lipopolissacarídeo (LPS; ver adiante).

Algumas cepas de estreptococos β -hemolíticos do grupo A produzem a **exotoxina pirogênica A**, que se assemelha ou é igual à toxina eritrogênica estreptocócica, a qual resulta em febre escarlatina. A infecção rapidamente progressiva dos tecidos moles por estreptococos que produzem a exotoxina pirogênica A apresenta muitas manifestações clínicas semelhantes às aquelas observadas na síndrome do choque tóxico por estafilococos. A exotoxina pirogênica A também é um superantígeno, que atua de modo semelhante à TSST 1.

B. Exotoxinas associadas às doenças diarreicas e intoxicação alimentar

As exotoxinas associadas às doenças diarreicas são frequentemente denominadas enterotoxinas. (Ver também o Quadro 48.3) A seguir, são discutidas as características de algumas enterotoxinas importantes.

O *V. cholerae* já provocou doença diarreica epidêmica (**cólera**) em muitas partes do mundo (Cap. 17). Trata-se de outra doença causada por toxina de importância histórica e atual. Após entrar no hospedeiro através da água ou de alimentos contaminados, o *V. cholerae* penetra na mucosa intestinal e fixa-se às microvilosidades da borda em escova das células epiteliais do intestino. Geralmente do sorotipo O1 (e O139), o *V. cholerae* pode produzir uma enterotoxina com MM de 84.000 Da, a qual consiste em duas subunidades: A, que pode dividir-se em dois peptídeos, A₁ e A₂, ligados por uma ponte dissulfeto; e B. A subunidade B possui cinco peptídeos idênticos e liga rapidamente a toxina às moléculas dos gangliosídeos da membrana celular. A subunidade A penetra na membrana celular e provoca grande aumento na atividade da adenilatociclase e na concentração de AMPc. O efeito final consiste em rápida secreção de eletrólitos

no lúmen do intestino delgado, com o comprometimento da absorção de sódio e cloreto, bem como perda de bicarbonato. Pode ocorrer diarreia maciça e potencialmente fatal (p. ex., 20 a 30 L/dia), verificando-se ainda o desenvolvimento de acidose. Os efeitos deletérios do cólera decorrem da perda de líquido e do desequilíbrio ácido-básico; por conseguinte, o tratamento consiste em reposição hidreletrolítica.

Algumas cepas do *S. aureus* produzem enterotoxinas quando crescem em carnes, laticínios ou outros alimentos. Nos casos típicos, o alimento foi recentemente preparado, mas não adequadamente refrigerado. Existem pelo menos sete tipos distintos de **enterotoxina estafilocócica**. Após a ingestão da toxina pré-formada, esta é absorvida no intestino, onde estimula os receptores do nervo vago. O estímulo é transmitido ao centro do vômito no sistema nervoso central. Vômitos, quase sempre em jato, ocorrem em poucas horas. Diarreia é menos frequente. A intoxicação alimentar por estafilococos constitui a forma de intoxicação alimentar mais comum. As enterotoxinas do *S. aureus* são superantígenos.

As enterotoxinas também são produzidas por algumas cepas de *Y. enterocolitica* (Cap. 19), *Vibrio parahaemolyticus* (Cap. 17), espécies de *Aeromonas* (Cap. 17) e outras bactérias; todavia, o papel dessas toxinas na patogênese ainda não foi definido. A enterotoxina produzida pelo *C. perfringens* é discutida no Capítulo 11.

C. Lipopolissacarídeos das bactérias gram-negativas

Os LPS (endotoxinas) das bactérias gram-negativas são componentes da parede que frequentemente são liberados quando a bactéria sofre lise. Essas moléculas são termoestáveis, têm MM entre 3.000 e 5.000 (**lipo-oligosacarídeos, LOS**) e alguns milhões (**lipopolissacarídeos, LPS**), podendo ser extraídas (p. ex., com fenol-água). Apresentam três regiões principais (Fig. 2.19).

Os **efeitos fisiopatológicos dos LPS** são semelhantes, independentemente de sua origem bacteriana, à exceção dos observados em espécies de *Bacteroides*, que possuem estrutura diferente e são menos tóxicas (Cap. 21). O LPS na corrente sanguínea liga-se inicialmente a proteínas circulantes que, em seguida, interagem com os receptores presentes nos macrófagos, neutrófilos e outras células do sistema reticuloendotelial. As citocinas pró-inflamatórias, tais como IL1, IL6, IL8, TNF- α , entre outras, são liberadas, além das cascatas do complemento e da coagulação são ativadas. Dos pontos de vista clínico ou experimental, podem-se observar febre, leucopenia e hipoglicemia; hipotensão e choque, resultando em comprometimento da perfusão de órgãos essenciais (p. ex., cérebro, coração, rim); coagulação intravascular; e morte por disfunção orgânica maciça.

A injeção de LPS causa **febre** depois de 60 a 90 minutos, tempo necessário para a liberação de IL1 pelo hospedeiro. A injeção de IL1 provoca febre em 30 minutos. A injeção repetida de IL1 produz a mesma reação febril todas as vezes; todavia, a injeção repetida de LPS provoca uma resposta febril uniformemente decrescente em decorrência da tolerância, devido em parte ao bloqueio reticuloendotelial e em parte a anticorpos da IgM dirigidos contra o LPS.

A injeção de LPS provoca **leucopenia** precoce assim como bacteriemia por microrganismos gram-negativos. Posteriormente, ocorre leucocitose secundária. A leucopenia precoce coincide com o início da febre em consequência da liberação

de IL1. O LPS aumenta a glicólise em muitos tipos de célula, podendo levar a **hipoglicemia**.

Ocorre **hipotensão** na fase inicial da bacteriemia por microrganismos gram-negativos ou após a injeção de LPS. Pode-se verificar o aparecimento de constrição arteriolar e venular disseminada, seguida de dilatação vascular periférica, aumento da permeabilidade vascular, diminuição do retorno venoso, redução do débito cardíaco, estagnação da microcirculação, vasoconstrição periférica, choque e redução da perfusão dos órgãos e suas consequências. A coagulação intravascular disseminada (CID) também contribui para essas alterações vasculares.

Os LPS situam-se entre os inúmeros agentes diferentes que têm a capacidade de ativar a via alternativa da **cascata do complemento**, desencadeando uma variedade de reações mediadas pelo complemento (p. ex., anafilatoxinas, respostas quimiotáticas e lesão da membrana) e queda nos níveis séricos de componentes do complemento (C3, C5-C9).

A **coagulação intravascular disseminada (CID)** representa uma complicação frequente da bacteriemia por microrganismos gram-negativos, embora também possa ocorrer em outras infecções. O LPS ativa o fator XII (fator de Hageman) — a primeira etapa no sistema da coagulação intrínseca — e desencadeia a cascata da coagulação que culmina na conversão do fibrinogênio em fibrina. Ao mesmo tempo, o plasminogênio pode ser ativado pelo LPS em plasmina (uma enzima proteolítica), capaz de atacar a fibrina, com a consequente formação dos produtos de degradação da fibrina. A redução da contagem plaquetária e dos níveis de fibrinogênio, bem como a detecção dos produtos de degradação da fibrina constituem evidências de CID. Algumas vezes, a heparina pode prevenir lesões associadas à CID.

O LPS provoca a aderência das plaquetas ao endotélio vascular e a oclusão dos pequenos vasos sanguíneos, ocasionando necrose isquêmica ou hemorrágica em diferentes órgãos.

Os níveis de endotoxina podem ser determinados pelo teste do límulo: um lisado de amebócitos do artrópode marinho límulo (*limulus*) se solidifica ou coagula na presença de 0,0001 µg/mL de endotoxina. Esse teste é raramente usado em laboratórios clínicos uma vez que é difícil de ser realizado de maneira eficiente.

D. Peptidoglicano de bactérias gram-positivas

O peptidoglicano das bactérias gram-positivas é constituído por macromoléculas de ligação cruzada que circundam as células bacterianas (Cap. 2 e Fig. 2.15). Podem ocorrer também alterações vasculares que resultam em choque nas infecções causadas por bactérias gram-positivas que não contêm LPS. As bactérias gram-positivas possuem consideravelmente mais peptidoglicano associado à parede celular do que as bactérias gram-negativas. O peptidoglicano liberado durante a infecção pode ter muitas das mesmas atividades biológicas dos LPS, embora seja invariavelmente muito menos potente do que estes.

Enzimas

Muitas espécies de bactérias produzem enzimas não intrinsecamente tóxicas, mas que desempenham importante papel no processo infeccioso. Algumas dessas enzimas são discutidas a seguir.

A. Enzimas que degradam tecidos

Muitas bactérias produzem enzimas que degradam tecidos. As mais bem caracterizadas são as enzimas de *C. perfringens*

(Cap. 11), e, em menor grau, das bactérias anaeróbias (Cap. 21), de *S. aureus* (Cap. 13) e dos estreptococos do Grupo A (Cap. 14). O papel das enzimas que degradam tecidos na patogênese das infecções parece óbvio, embora de difícil comprovação, particularmente no caso de determinadas enzimas. Por exemplo, os anticorpos dirigidos contra as enzimas dos estreptococos que degradam tecidos não modificam as características da doença estreptocócica.

Além da **lecitinase**, o *C. perfringens* produz a enzima proteolítica **colagenase**, que degrada o colágeno, a principal proteína do tecido conectivo fibroso, promovendo a disseminação da infecção nos tecidos.

S. aureus produz a **coagulase**, que atua em combinação com fatores sanguíneos para coagular o plasma. A coagulase contribui para a formação das paredes de fibrina ao redor das lesões estafilocócicas, ajudando esses microrganismos a persistirem nos tecidos. Também provoca a deposição de fibrina sobre a superfície de alguns estafilococos, podendo ajudar a protegê-los contra fagocitose ou destruição no interior das células fagocíticas.

As **hialuronidases** são enzimas que hidrolisam o ácido hialurônico, um componente fundamental da substância do tecido conectivo. Essas enzimas são produzidas por muitas bactérias (p. ex., estafilococos, estreptococos e anaeróbios), e ajudam sua disseminação através dos tecidos.

Muitos estreptococos hemolíticos produzem **estreptoquinase (fibrinolisin)**, substância que ativa uma enzima proteolítica do plasma. Em seguida, essa enzima é capaz de dissolver o plasma coagulado e, provavelmente, ajudar na rápida propagação dos estreptococos através dos tecidos. A estreptoquinase tem sido utilizada no tratamento do infarto agudo do miocárdio para dissolver os coágulos de fibrina.

Muitas bactérias produzem substâncias que são **citolisinas** — isto é, têm a propriedade de dissolver eritrócitos (**hemolisinas**) ou destruir as células dos tecidos ou leucócitos (**leucocidinas**). Por exemplo, a **estreptolisina O**, produzida por estreptococos do grupo A, é letal para camundongos e hemolítica para os eritrócitos de muitos animais. A estreptolisina O é oxigenolábil, e pode, portanto, ser oxidada e inativada, embora seja reativada por agentes redutores. Além disso, é antigênica. Os mesmos estreptococos também produzem **estreptolisina S** oxigenoestável e induzível pelo soro, não antigênica. Os clostrídeos produzem diversas hemolisinas, como a lecitinase já descrita. As hemolisinas são produzidas pela maioria das cepas de *S. aureus*; os estafilococos também produzem leucocidinas. A maioria dos bastonetes gram-negativos isolados de locais de doença produz hemolisinas. Por exemplo, as cepas de *E. coli* que provocam infecções do trato urinário produzem tipicamente hemolisinas, enquanto as que fazem parte da microbiota gastrointestinal normal podem ou não produzir hemolisinas.

B. IgA1 proteases

A imunoglobulina A é o anticorpo secretor existente na superfície das mucosas. Ocorre em duas formas primárias, IgA1 e IgA2, que diferem próximo ao centro ou região da dobradiça das cadeias pesadas das moléculas (Cap. 8). A IgA1 possui uma série de aminoácidos na região da dobradiça que não estão presentes na IgA2. Algumas bactérias que causam doença produzem enzimas, as **IgA1 proteases**, que clivam a IgA1 nas ligações prolina-treonina ou prolina-serina específicas na região da dobradiça,

inativando sua atividade de anticorpo. A IgA1 protease é um importante fator de virulência dos patógenos *N. gonorrhoeae*, *N. meningitidis*, *H. influenzae* e *S. pneumoniae*. As enzimas também são produzidas por algumas cepas de *Prevotella melaninogenica*, certos estreptococos associados a doença dentária e algumas cepas de outras espécies que ocasionalmente provocam doença. As espécies não patogênicas dos mesmos gêneros não possuem genes que codificam a enzima e, portanto, não a produzem. A produção da IgA1 protease possibilita aos patógenos inativarem o anticorpo primário encontrado na superfície das mucosas, eliminando, assim, a proteção do hospedeiro conferida pelo anticorpo.

Fatores antifagocíticos

Muitos patógenos bacterianos são rapidamente destruídos após sua ingestão por células polimorfonucleares ou macrófagos. Alguns patógenos escapam da fagocitose ou dos mecanismos microbicidas dos leucócitos ao adsorverem componentes normais do hospedeiro à sua superfície. Por exemplo, *S. aureus* possui a proteína A de superfície, que se liga à porção Fc da IgG. Outros patógenos possuem fatores de superfície que impedem a fagocitose (p. ex., *S. pneumoniae* e *N. meningitidis*) e muitas outras bactérias apresentam cápsulas de polissacarídeo. *S. pyogenes* (estreptococos do grupo A) têm a proteína M. *N. gonorrhoeae* (gonococos) são dotadas de *pili*. A maioria dessas estruturas de superfície antifagocíticas exibe muita heterogeneidade antigênica. Por exemplo, existem mais de 90 tipos de polissacarídeo capsular pneumocócico e mais de 150 tipos de proteína M dos estreptococos do grupo A. Os anticorpos contra um tipo de fator antifagocítico (p. ex., polissacarídeo capsular, proteína M) protegem o hospedeiro contra as doenças causadas por bactérias desse tipo, mas não das causadas por outros tipos antigênicos do mesmo fator.

Algumas bactérias (p. ex., *Capnocytophaga* e *Bordetella*) produzem fatores solúveis ou toxinas que inibem a quimiotaxia dos leucócitos e, portanto, evitam a fagocitose por um mecanismo diferente.

Patogenicidade intracelular

Algumas bactérias (p. ex., *M. tuberculosis*, *Listeria monocytogenes*, espécies de *Brucella* e de *Legionella*) vivem e crescem em ambiente hostil no interior das células polimorfonucleares, macrófagos ou monócitos. As bactérias vencem esse desafio por vários mecanismos: podem evitar sua entrada nos fagolisossomos, sobrevivendo no citosol dos fagócitos; impedir a fusão do fagossomo-lisossomo e sobreviver no interior do fagossomo; ou ser resistentes às enzimas lisossômicas e sobreviver no interior do fagolisossomo.

Muitas bactérias são capazes de sobreviver no interior de células não fagocíticas (ver seção anterior, Invasão das células e dos tecidos do hospedeiro).

Heterogeneidade antigênica

As estruturas de superfície das bactérias (e de muitos outros microrganismos) exibem considerável heterogeneidade antigênica. Com frequência, esses antígenos são utilizados como parte de um sistema de classificação sorológica das bactérias. A classificação de 2.000 ou mais espécies diferentes de *Salmonella* baseia-se principalmente nos tipos de antígenos O (cadeia lateral do LPS)

e H (flagelar). De modo semelhante, existem mais de 150 tipos de *E. coli* O e mais de 100 tipos de *E. coli* K (cápsula). O tipo antigênico das bactérias pode constituir um marcador de virulência, relacionado com a natureza clonal dos patógenos, embora possa não ser realmente o fator (ou fatores) de virulência. O tipo antigênico de *V. cholerae* O1 e o tipo antigênico O139 caracteristicamente produzem a toxina do cólera, enquanto um número muito pequeno dos vários outros tipos O produz a toxina. Apenas alguns dos tipos de proteína M de estreptococos do grupo A estão associados à elevada incidência de glomerulonefrite pós-estreptocócica. Os tipos de *N. meningitidis* com polissacarídeo capsular A e C estão associados à meningite epidêmica. Nos exemplos citados anteriormente, bem como em outros sistemas de tipagem que utilizam antígenos de superfície na classificação sorológica, os tipos antigênicos para determinado microrganismo isolado da espécie permanecem constantes durante a infecção e o repique das bactérias.

Algumas bactérias e outros microrganismos têm a capacidade de efetuar alterações frequentes na forma antigênica de suas estruturas de superfície *in vitro* e, presumivelmente, *in vivo*. Um exemplo bem conhecido é o de *Borrelia recurrentis*, que provoca febre recorrente. Um segundo exemplo amplamente estudado é *N. gonorrhoeae* (Cap. 20). O gonococo possui três antígenos de superfície expostos que mudam suas formas a uma taxa muito elevada, de cerca de uma em cada 1.000: lipo-oligosacarídeo, 6 a 8 tipos; *pili*, inúmeros tipos; e proteína Opa, 10 a 12 tipos para cada cepa. O número de formas antigênicas é tão grande que cada cepa de *N. gonorrhoeae* parece antigenicamente distinta das outras cepas. A mudança de formas para cada um dos três antígenos parece estar sob o controle de diferentes mecanismos genéticos. Acredita-se que a frequente mudança de formas antigênicas possibilite aos gonococos escaparem do sistema imunológico do hospedeiro. Os gonococos não atacados pelo sistema imunológico sobrevivem e causam doença.

Sistemas de secreção bacteriana

Os sistemas de secreção bacteriana são importantes na patogênese da infecção e são essenciais para a interação da bactéria com as células eucarióticas do hospedeiro. As bactérias gram-negativas possuem paredes celulares com membranas citoplasmáticas e membranas externas, e uma fina camada de peptidoglicano está presente. As bactérias gram-positivas possuem uma membrana citoplasmática e uma espessa camada de peptidoglicano (Cap. 2). Algumas bactérias gram-negativas e algumas gram-positivas também possuem cápsulas. A complexidade e a rigidez das estruturas da parede celular exigem mecanismos de translocação de proteínas através das membranas. Esses sistemas de secreção estão envolvidos em funções celulares, tais como o transporte de proteínas que formam os *pili* ou flagelos e na secreção de enzimas ou toxinas para o meio extracelular. As diferenças de estrutura da parede celular entre bactérias gram-negativas e gram-positivas resultam em diferenças nos sistemas de secreção. Os mecanismos básicos dos diferentes sistemas de secreção são discutidos no Capítulo 2. (*Observação:* os sistemas de secreção bacteriana foram nomeados segundo a ordem de sua descoberta e não por seus mecanismos de ação.)

Bactérias gram-negativas e gram-positivas possuem uma via geral de secreção (**Sec**) como principal mecanismo de secreção

proteica. Essa via está envolvida na inserção da maior parte das proteínas de membrana bacterianas e fornece a principal via para proteínas que atravessam a membrana citoplasmática bacteriana. As bactérias gram-negativas apresentam seis mecanismos adicionais denominados sistemas de secreção (SS) 1-6, ou tipo I-VI, para secreção de proteínas. Esses sistemas podem ainda ser caracterizados como Sec dependentes (tipos 2 e 5) e Sec independentes (tipos 1, 3, 4, 6). O **SS do tipo 2** usa o sistema Sec para transportar proteínas para o periplasma e, então, formar um canal na membrana externa composto por um complexo de proteínas formadoras de poros. Esse sistema é usado para secreção de toxinas bacterianas do tipo AB como a toxina colérica. De forma similar, o **SS do tipo 5** usa o sistema Sec para exportar moléculas denominadas autotransportadores para o periplasma. Uma vez no periplasma, essas moléculas se autotransportam através da membrana externa. Um exemplo desse sistema inclui a IgA protease secretada pelo *Haemophilus influenzae*. As vias independentes da sec incluem os **sistemas de secreção tipo 1** ou **sistema de secreção ABC** (*ATP binding cassette*) e o **sistema de secreção tipo 3**. As vias de tipos 1 e 3 não interagem com proteínas que tenham sido transportadas através da membrana citoplasmática pelo sistema Sec. Em vez disso, estes sistemas translocam proteínas através da membrana citoplasmática e da membrana externa. O tipo 3, que é ativado sob contato com uma célula eucariótica hospedeira, promove o transporte de proteínas diretamente do interior da bactéria para o interior da célula hospedeira empregando uma estrutura semelhante a uma agulha de seringa denominada injectosoma. Uma vez no citoplasma da célula hospedeira, as proteínas transportadas podem manipular as funções da célula hospedeira. A via do **sistema de secreção tipo 4** consiste em um complexo de proteínas que forma um canal capaz de transportar diretamente proteínas e moléculas de DNA. O mais recente SS a ser descoberto é a do **tipo 6**. Esse sistema desempenha um papel importante na secreção de proteínas de virulência em *Vibrio cholerae* e *Pseudomonas aeruginosa* entre outros patógenos gram-negativos. Um sétimo SS foi descoberto em *Mycobacterium tuberculosis* e ainda não está totalmente compreendido. Parece que esse sistema transporta proteínas de membrana necessárias para a virulência do microorganismo. Outros exemplos dos sistemas de secreção e seus papéis na patogênese estão mostrados no Quadro 9.5. Esses exemplos são apenas uma pequena amostra concebida para ilustrar os papéis do grande número de atividades de secreção molecular usadas pelas bactérias para fornecer nutrientes e facilitar a sua patogênese.

Necessidade de ferro

O ferro é um nutriente essencial para o crescimento e o metabolismo de praticamente todos os microrganismos e é um cofator essencial de vários processos metabólicos e enzimáticos. A disponibilidade de ferro em seres humanos para a assimilação microbiana é limitada, pois o ferro é sequestrado pelas proteínas transferrina, de alta afinidade pelo ferro no soro, e pela lactoferrina, em superfícies mucosas. A habilidade de um patógeno microbiano para obter o ferro de maneira eficaz a partir do ambiente é fundamental para a sua habilidade de causar doenças. A necessidade de ferro, como a bactéria o adquire e o metabolismo bacteriano do ferro são discutidos no Capítulo 5.

A disponibilidade de ferro afeta a virulência de muitos patógenos. Por exemplo, o ferro é um fator de virulência essencial

em *P. aeruginosa*. O uso de modelos em animais em infecção por *Listeria monocytogenes* mostrou que o aumento de ferro resultou em aumento da suscetibilidade à infecção, enquanto uma depleção de ferro resultou em uma sobrevivência prolongada; terapias de suplementação de ferro resultam em aumento de infecções letais.

A diminuição da disponibilidade de ferro também pode ser importante na patogênese. Por exemplo, o gene para a toxina diftérica reside em um bacteriófago lisogênico e somente as cepas de *C. diphtheriae* que portam o bacteriófago lisogênico são toxigênicas. Na presença de pouco ferro disponível ocorre uma produção aumentada de toxina diftérica e de doença potencialmente mais grave. A virulência de *N. meningitidis* em camundongos aumenta 1.000 vezes ou mais quando as bactérias crescem em condições de restrição de ferro.

A deficiência de ferro no homem também desempenha um papel no processo infeccioso. A deficiência de ferro acomete milhões de pessoas no mundo inteiro. A deficiência de ferro pode afetar múltiplos órgãos e sistemas, inclusive o sistema imunológico, e pode resultar em comprometimento da imunidade mediada por células e diminuição da função de células polimorfonucleares. A utilização de terapia por ferro durante uma infecção ativa provavelmente deverá ser adiada, pois muitos microrganismos patogênicos podem utilizar pequenas porções do ferro suplementar, resultando em aumento da virulência.

O papel dos biofilmes bacterianos

Um biofilme é um agregado de bactérias interativas ligadas a uma superfície sólida ou umas às outras, revestidas por matriz exopolissacarídica. Distingue-se da forma planctônica ou bacteriana de crescimento livre, onde as interações entre os microrganismos não ocorrem da mesma maneira. Os biofilmes formam uma espécie de camada de limo em superfícies sólidas e ocorrem em toda a natureza. Uma única ou várias espécies de bactérias podem estar envolvidas, podendo coagregar-se para formar um biofilme. Os fungos (inclusive as leveduras) estão envolvidos ocasionalmente. Uma vez formado o biofilme, as moléculas de *quorum sensing* produzidas pela bactéria no biofilme acumulam-se, resultando em modificação da atividade metabólica bacteriana. A biologia básica dos biofilmes exopolissacarídicos (glicocálice) é discutida no Capítulo 2, as moléculas de *quorum sensing* são discutidas no Capítulo 1.

As bactérias na matriz exopolissacarídica podem estar protegidas dos mecanismos imunológicos do hospedeiro. A matriz também funciona como uma barreira à difusão de alguns antimicrobianos, enquanto outros podem ligar-se a ela. Algumas bactérias no interior do biofilme mostram acentuada resistência aos antimicrobianos em contraste com a mesma cepa bacteriana que cresce em meio de cultura (forma planctônica), o que ajuda a explicar por que é tão difícil tratar as infecções associadas a biofilmes.

Os biofilmes são importantes em infecções humanas persistentes e difíceis de tratar. Alguns exemplos incluem infecções por *Staphylococcus epidermidis* e *S. aureus* em cateteres venosos centrais, infecções oculares como as que ocorrem com lentes de contato e lentes intraoculares, na placa dental e em infecções em próteses. Talvez o melhor exemplo de biofilme em infecções humanas sejam as causadas por *Pseudomonas aeruginosa* em pacientes com fibrose cística.

QUADRO 9.5 Exemplos de moléculas translocadas por sistemas de secreção bacteriana e sua relevância na patogênese

Sistema de secreção	Gênero/Espécie	Substrato e papel na patogênese
Tipo 1 (sec independente)	<i>Escherichia coli</i> <i>Proteus vulgaris</i> <i>Morganella morganii</i> <i>Bordetella pertussis</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Serratia marcescens</i>	α -Hemolisina faz poros na membrana das células Hemolisina Hemolisina Adenilatociclase que catalisa a síntese do AMPc Protease alcalina Zn protease produz danos à célula hospedeira
Tipo 2 (sec dependente)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Legionella pneumophila</i> <i>Vibrio cholerae</i> <i>Serratia marcescens</i>	Elastase, exotoxina A, fosfolipase C, outros Fosfatase ácida, lipase, fosfolipase, protease, RNase Toxina do cólera Hemolisina
Tipo 3 (sec independente e dependente de contato)	Espécies de <i>Yersinia</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i> Espécies de <i>Shigella</i> <i>Salmonella enterica</i> subespécies <i>entérica</i> sorotipos <i>Choleraesuis</i> , <i>Dublin</i> , <i>Paratyphi</i> , <i>Typhi</i> , <i>Typhimurium</i> entre outros. <i>Escherichia coli</i> <i>Vibrio parahaemolyticus</i>	Sistema Ysc-Yop; toxinas que bloqueiam fagocitose e induzem apoptose Citotoxina Controla a sinalização, invasão e morte das células do hospedeiro Efatores para ilhas de patogenicidade I e II (SPI1 e SPI2) de <i>Salmonella</i> , que promovem a fixação e invasão das células hospedeiras Êntero-hemorrágica (EHEC) e enteropatogênica (EPEC); ruptura das barreiras epiteliais e junções estreitas Citotoxicidade direta
Tipo 4 (sec dependente e independente)	Substratos proteicos <i>Bordetella pertussis</i> <i>Helicobacter pylori</i> Substratos de DNA <i>Neisseria gonorrhoeae</i> <i>Helicobacter pylori</i>	Toxina pertússica Citotoxina Sistema de exportação de DNA Sistema de captação e liberação de DNA
Tipo 5 (sec dependente)	<i>Neisseria gonorrhoeae</i> <i>Haemophilus influenzae</i> <i>Escherichia coli</i> <i>Shigella flexneri</i> <i>Serratia marcescens</i> Espécies de <i>Bordetella</i> <i>Bordetella pertussis</i> <i>Yersinia pestis</i>	IgA1 protease altera a região da dobradiça e destrói a atividade do anticorpo (dependente de sec) IgA1 protease, adesinas Serina protease, adesinas, <i>pili</i> tipo 1, <i>pili</i> P Serina protease Proteases Adesinas Hemaglutinina filamentosa Antígeno capsular
Tipo 6 (sec independente)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Vibrio cholerae</i>	Toxina formadora de poros Hcp1 Fatores de virulência
Tipo 7 (sec dependente)	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	CPF-10, ESAT-6 e antígeno alvo de células T

CFP, proteína de filtrado de cultura de 10kDa.

ESAT-6, alvo antigênico precocemente secretado de 6kDa.

RESUMO DO CAPÍTULO

- Animais e humanos são colonizados por uma microbiota normal abundante, que em regra geral não é patogênica e é benéfica ao hospedeiro.
- Bactérias virulentas causam doenças utilizando uma série de fatores de virulência que facilitam a aderência, persistência, invasão e toxigenicidade.
- Genes que codificam fatores de virulência podem ser carregados por elementos genéticos móveis tais como plasmídeos, bacteriófagos ou são localizados em grandes ilhas de patogenicidade no cromossomo bacteriano.
- *Pili* e fímbrias são estruturas em forma de bastão ou fio de cabelo, respectivamente, que facilitam a aderência nas células do hospedeiro.
- A invasão das células do hospedeiro é um mecanismo complexo que envolve a elaboração de proteínas que facilitam a entrada.
- Toxinas bacterianas podem ser extracelulares (exotoxinas) ou serem componentes da parede da célula bacteriana (endotoxina, LPS) e estão entre as toxinas mais potentes na natureza (p. ex., toxina botulínica).
- Outros importantes mecanismos de sobrevivência e de virulência bacteriana incluem: enzimas que degradam tecidos, fatores antifagocíticos, IgA proteases, heterogenicidade antigênica e a habilidade de quelar ferro.
- Devem existir, pelo menos, sete sistemas de secreção bacterianos conhecidos, por complexos proteicos ou canais responsáveis pelo transporte de proteínas e toxinas através da célula bacteriana.

QUESTÕES DE REVISÃO

- Uma mulher de 22 anos, que trabalha em uma creche, apresenta-se com história de febre e tosse há 2 meses. Durante este período, perdeu 5 kg. A radiografia de pulmão mostrou infiltrado bilateral nos lobos inferiores com cavidades. Um esfregaço corado do seu escarro mostrou bacilos álcool-acidorresistentes. O modo mais provável pelo qual a paciente adquiriu a infecção foi
 - Atividade sexual
 - Ingestão de microrganismos na comida
 - Ter segurado um corrimão contaminado ao entrar em um transporte público
 - Ter manuseado um pote que continha terra
 - Ter aspirado gotículas em aerossol contendo microrganismos
- Durante uma pandemia por doença bem caracterizada, um grupo de 175 passageiros voou de Lima, capital do Peru, para Los Angeles, EUA. O lanche servido no avião, que incluía salada de caranguejo, foi ingerido por cerca de 66% dos passageiros. Após pousar em Los Angeles, muitos passageiros seguiram voo com destino a outras partes da Califórnia e outros Estados do Oeste dos EUA. Dois dos passageiros que permaneceram em Los Angeles desenvolveram diarreia aquosa grave. Não se sabe qual é o estado dos demais passageiros. A provável causa da diarreia dos dois passageiros foi a(o):
 - Escherichia coli* O157:H7 (lipopolissacarídeo O antígeno 157; antígeno flagelar 7)
 - Vibrio cholerae* tipo O139 (lipopolissacarídeo O antígeno 139)
 - Shigella dysenteriae* tipo 1
 - Campylobacter jejuni*
 - Entamoeba histolytica*
- Uma mulher de 65 anos recebeu um cateter venoso central para terapia intravenosa. Ela apresentou febre e posteriormente teve várias culturas de sangue positivas para *S. epidermidis*. Todos os isolados de *S. epidermidis* apresentaram a mesma morfologia colônica e o mesmo padrão de sensibilidade aos antimicrobianos, sugerindo ser a mesma cepa. Acredita-se que essa cepa formou um biofilme no cateter. Qual das seguintes afirmativas sobre esta infecção está correta?
 - O biofilme contendo *S. epidermidis* provavelmente foi retirado por lavagem do cateter
 - A produção de um polissacarídeo extracelular inibe o crescimento de *S. epidermidis*, limitando a infecção
 - A cepa de *S. epidermidis* presente no biofilme provavelmente é mais suscetível a terapia antimicrobiana, pois a bactéria apresenta uma diminuição de sua atividade metabólica
 - A habilidade do sistema de *quorum sensing* da cepa de *S. epidermidis* resulta em uma diminuição da suscetibilidade a terapia antimicrobiana
 - As complexas interações moleculares presentes no biofilme tornam difícil uma terapia antimicrobiana eficaz, sendo provável que o cateter tenha que ser removido para curar a infecção
- O primeiro microrganismo a satisfazer os postulados de Koch (no fim do século XIX) foi:
 - Treponema pallidum*
 - Stenotrophomonas maltophilia*
 - Mycobacterium leprae*
 - Bacillus anthracis*
 - Neisseria gonorrhoeae*
- Qual das seguintes afirmativas sobre lipopolissacarídeos está correta?
 - Interagem com macrófagos e monócitos produzindo liberação de citocinas
 - O componente tóxico é a cadeia lateral O
 - Formam poros na membrana das hemácias, produzindo hemólise
 - Causam hipotermia
 - Causam paralisia
- Um homem de 27 anos sofreu uma rinoplastia. Foi colocado um tampão nasal para controlar o sangramento. Aproximadamente 4 horas mais tarde, ele desenvolveu cefaleia, dores musculares e cólicas abdominais com diarreia; seguidos de eritema cutâneo (semelhante a queimadura do sol) sobre grande parte do corpo, inclusive as palmas das mãos e as solas dos pés. A pressão arterial é de 80/50 mmHg. O paciente permaneceu com o tampão nasal. As enzimas hepáticas estavam elevadas, com evidências de moderada falência renal. Este quadro provavelmente foi causado por qual das seguintes alternativas?
 - Lipopolissacarídeo
 - Peptidoglicano
 - Uma toxina que é um superantígeno
 - Uma toxina que possui subunidades A e B
 - Lecitinase (alfa toxina)
- O microrganismo mais provável de ser o responsável pela doença no paciente (Questão 6) é o(a)
 - Escherichia coli*
 - Corynebacterium diphtheriae*
 - Clostridium perfringens*
 - Neisseria meningitidis*
 - Staphylococcus aureus*
- Qual das seguintes alternativas tem maior probabilidade de estar associada à formação de biofilme bacteriano?
 - Colonização das vias respiratórias em um paciente com fibrose cística com uma cepa mucoide (produtora de alginato) de *Pseudomonas aeruginosa*
 - Infecção do trato urinário com *Escherichia coli*
 - Meningite com *Neisseria meningitidis*
 - Tétano
 - Impetigo causado por *Staphylococcus aureus*
- Em relação ao sistema bacteriano de secreção tipo III, qual das seguintes afirmativas está correta?
 - São encontradas normalmente em bactérias gram-negativas
 - Desempenham importante papel na patogênese de doenças induzidas por toxinas da espécie *Clostridium*, tétano, botulismo, gangrena gasosa e pseudocolite membranosa
 - Causam a liberação de efetores da patogênese para o meio extracelular, promovendo colonização e multiplicação bacteriana
 - Injetam proteínas bacterianas diretamente nas células hospedeiras através das membranas da bactéria e da célula hospedeira, promovendo a patogênese de infecções
 - Mutações que previnem o funcionamento do sistema de secreção bacteriana de tipo III, reforçando a patogênese
- Qual das seguintes afirmativas está correta?
 - Os lipopolissacarídeos fazem parte da parede celular de *Escherichia coli*
 - A toxina do cólera está ligada ao flagelo de *Vibrio cholerae*
 - A lecitinase de *Clostridium perfringens* causa diarreia
 - A toxina 1 da síndrome do choque tóxico é produzida por cepas hemolíticas de *Staphylococcus epidermidis*

11. Uma menina de 15 anos, natural de Bangladesh, desenvolveu diarreia aquosa grave. As fezes assemelham-se a “água de arroz”, e são volumosas — mais de 1 L em menos de 90 minutos. Ela não apresenta febre e parece normal, exceto pelos efeitos da perda de líquidos e eletrólitos. A causa mais provável de sua doença é:
- Enterotoxina por *Clostridium difficile*
 - Uma toxina com subunidades A e B
 - Shigella dysenteriae* tipo I, que produz toxina Shiga
 - Escherichia coli* enterotoxigênica, que produz toxinas termolábeis e termoestáveis
 - Enterotoxina F estafilocócica
12. A medida mais importante que se pode tomar para tratar a paciente da Questão 11 é:
- Administrar ciprofloxacino
 - Administrar uma vacina de toxoide
 - Administrar a antitoxina apropriada
 - Tratar a paciente com reposição hídrica e eletrolítica
 - Fazer cultivo das fezes para se estabelecer o diagnóstico correto, e então prover tratamento específico
13. Uma mulher de 23 anos apresenta história de infecções do trato urinário recorrentes, inclusive com pelo menos um episódio de pielonefrite. A tipagem sanguínea revelou antígeno sanguíneo do grupo P. Qual das seguintes alternativas mais provavelmente é a causa de suas infecções?
- Escherichia coli* que produz toxina termoestável
 - Escherichia coli* com antígeno K1 (capsular tipo 1)
 - Escherichia coli* O139 (lipopolissacarídeo O, antígeno 139)
 - Escherichia coli* com pili P (fímbrias)
 - Escherichia coli* O157:H7 (lipopolissacarídeo O, antígeno 157, antígeno flagelar 7)
14. Um homem de 55 anos apresenta perda gradual de peso, dores abdominais, diarreia e artropatia. Durante o processo de avaliação, é realizada uma pequena biópsia de intestino. Após processamento, o exame da amostra por microscopia óptica revelou inclusões positivas para o ácido periódico de Schiff na parede intestinal. Qual dos seguintes testes pode ser feito para confirmar o diagnóstico de doença de Whipple, causada por *Tropheryma whipplei*?
- Cultura em ágar
 - Amplificação por reação em cadeia da polimerase e posterior sequenciamento de um segmento apropriado do DNA
 - Cultivo concomitante com *Escherichia coli*
 - Hibridização *in situ*
 - Teste de anticorpo por fluorescência direta
15. Qual das alternativas a seguir melhor descreve o mecanismo de ação da toxina diftérica?
- Forma poros nas hemácias causando hemólise
 - Degrada a lecitina na membrana de células eucarióticas
 - Causa liberação do fator de necrose tumoral
 - Inibe o fator 2 de alongação
 - Causa aumento de atividade adenilatociclase

Respostas

- | | | | |
|------|------|-------|-------|
| 1. E | 5. A | 9. D | 13. D |
| 2. B | 6. C | 10. A | 14. B |
| 3. E | 7. E | 11. B | 15. D |
| 4. D | 8. A | 12. D | |

REFERÊNCIAS

- Barton LL: *Structural and Functional Relationships in Prokaryotes*. Springer, 2005.
- Coburn B, Sekirov, Finlay BB: Type III secretion systems and disease. *Clin Microbiol Rev* 2007;20:535.
- Costerton JW, Stewart PS, Greenberg EP: Bacterial biofilms: A common cause of persistent infections. *Science* 1999;284:1318.
- Fredricks DN, Relman DA: Sequence-based identification of microbial pathogens: A reconsideration of Koch's postulates. *Clin Microbiol Rev* 1996;9:18.
- Götz F: MicroReview: *Staphylococcus* and biofilms. *Mol Microbiol* 2002;43:1367.
- Nickerson CA, Schurr MJ (editors): *Molecular Paradigms of Infectious Disease: A Bacterial Perspective*. Springer, 2006.
- Relman DA, Falkow S: A molecular perspective of microbial pathogenicity. In Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (editors). *Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*, 7th ed. Elsevier, 2010.
- Schmidt H, Hensel M: Pathogenicity islands in bacterial pathogenesis. *Clin Microbiol Rev* 2004;17:14.
- Schroeder GN, Hilbi H: Molecular pathogenesis of *Shigella* spp.: Controlling host cell signaling, invasion, and death by type III secretion. *Clin Microbiol Rev* 2008;21:134.
- Wilson BA, Salyers AA, Whitt DD, Winkler ME: *Bacterial Pathogenesis*, 3rd ed. American Society for Microbiology, 2011.

Microbiota normal humana

A expressão “microbiota normal” refere-se à população de microrganismos que habita a pele e as mucosas dos indivíduos normais e saudáveis. Esses microrganismos, referidos como microbiota normal, que vivem dentro e sobre os seres humanos superam em cerca de 10 vezes o número de células somáticas e germinativas humanas somadas. Os genomas desses microrganismos simbiotes são coletivamente definidos como **microbioma**. Pesquisas têm mostrado que a “**microbiota normal**”, fornece a primeira linha de defesa contra patógenos microbianos, auxilia na digestão, desempenha um papel na degradação das toxinas e contribui para a maturação do sistema imunológico. Mudanças na microbiota normal ou na estimulação da inflamação por esses comensais podem causar doenças, tais como as doenças intestinais inflamatórias.

PROJETO MICROBIOMA HUMANO

Em uma ampla tentativa de compreender o papel exercido pelos ecossistemas microbianos residentes na saúde humana e na doença, em 2007, o National Institutes of Health (NIH) lançou o The Human Microbiome Project (Projeto Microbioma Humano). Um dos principais objetivos desse projeto é compreender a variação da genética, a diversidade fisiológica humana, o microbioma e os fatores que influenciam na distribuição e evolução dos microrganismos. Um aspecto importante desse projeto diz respeito ao envolvimento simultâneo de diversos grupos de pesquisa fazendo a vigilância das comunidades microbianas na pele humana e em áreas da membrana mucosa, tais como a boca, o esôfago, o estômago, o colo e a vagina, com o emprego do sequenciamento do gene da subunidade menor do RNA ribossômico (16S). Entre as questões abordadas por este projeto, inclui-se: o quanto estável e resiliente é a microbiota de um indivíduo ao longo de um dia ou durante toda sua vida? Qual é a similaridade entre os microbiomas dos indivíduos de uma mesma família, comunidade ou entre diferentes comunidades de ambientes diversos? Todos os seres humanos possuem um microbioma identificável? Caso afirmativo, como ele é adquirido e transmitido? O que afeta a diversidade genética do microbioma e como essa diversidade afeta a adaptação dos microrganismos e do hospedeiro a diferentes estilos de vida e a diversos estados fisiológicos ou fisiopatológicos? Várias observações a respeito já foram feitas. Por exemplo, foi determinado que existem grandes diferenças entre indivíduos em termos do número e dos tipos de espécies de microrganismos que habitam o colo e que a obesidade pode estar relacionada

com os tipos de microrganismos envolvidos em vias metabólicas específicas no trato gastrointestinal. O leitor precisa estar ciente de que esse campo da microbiologia está evoluindo rapidamente e nosso conhecimento da microbiota humana irá necessariamente mudar quando estiverem disponíveis mais informações sobre as comunidades microbianas residentes pelo Projeto Microbioma Humano.

O PAPEL DA MICROBIOTA RESIDENTE

A pele e as membranas mucosas sempre abrigam uma variedade de microrganismos que podem ser classificados em dois grupos: (1) **microbiota residente**, que consiste em tipos relativamente fixos de microrganismos encontrados com regularidade em determinadas áreas e em certa idade, e que, quando perturbada, recompõe-se prontamente; e (2) **microbiota transitória**, que consiste em microrganismos não patogênicos ou potencialmente patogênicos, os quais permanecem na pele ou nas mucosas por horas, dias ou semanas, vindos do meio ambiente, não causando doença e nem se estabelecendo permanentemente na superfície. Em geral, os membros da microbiota transitória são de pouca importância, enquanto a microbiota residente normal permanece intacta. Entretanto, se a microbiota residente for perturbada, os microrganismos transitórios poderão colonizar e proliferar-se, ocasionando doença.

Os microrganismos frequentemente encontrados em amostras obtidas de várias áreas do corpo humano — e considerados microbiota normal — estão relacionados no Quadro 10.1. A classificação da microbiota normal anaeróbia é discutida no Capítulo 21.

É provável que os microrganismos que podem ser cultivados em laboratório representem apenas uma fração da microbiota normal ou transitória. Quando a reação em cadeia da polimerase de largo espectro (PCR) é usada para amplificar o DNA r 16S, muitas bactérias não identificadas podem ser detectadas, como em secreções de pacientes com vaginose bacteriana. O número de espécies que compõem a microbiota normal tem mostrado ser muito maior do que se conhece. Dessa forma, o conhecimento da microbiota normal está em transição. Como mencionado anteriormente, a relação entre os microrganismos previamente não identificados, que constituem uma parte potencial da microbiota normal, e a doença provavelmente está para mudar.

Os microrganismos constantemente presentes nas superfícies corporais são comensais. Seu crescimento em determinada

QUADRO 10.1 Microbiota bacteriana normal**Pele***Staphylococcus epidermidis**Staphylococcus aureus* (em pequeno número)Espécies de *Micrococcus*Estreptococos α e não hemolíticos (*Streptococcus mitis*)Espécies de *Corynebacterium*Espécies de *Propionibacterium*Espécies de *Peptostreptococcus*Espécies de *Acinetobacter*Outros organismos em pequenas quantidades (espécies de *Candida*, *Pseudomonas aeruginosa*, etc.)**Nasofaringe**

Qualquer quantidade das seguintes bactérias: difteroides, espécies de *Neisseria* não patogênicas, estreptococos α -hemolíticos; *S. epidermidis*, estreptococos não hemolíticos, anaeróbios (existem muitas espécies para listar; quantidades variadas de espécies de *Prevotella*, cocos anaeróbios, espécies de *Fusobacterium*, etc.)

Pequenas quantidades dos seguintes agentes, quando acompanhados dos organismos listados anteriormente: leveduras, espécies de *Haemophilus*, pneumococos, *S. aureus*, bacilos gram-negativos, *Neisseria meningitidis*

Trato gastrointestinal e retoVárias enterobactérias, exceto *Salmonella*, *Shigella*, *Yersinia*, *Vibrio* e espécies de *Campylobacter*

Bacilos gram-negativos não fermentadores da glicose

Enterococos

Estreptococos α -hemolíticos e não hemolíticos

Difteroides

Staphylococcus aureus, em pequeno número

Leveduras, em pequeno número

Anaeróbios, em grande número (muitas espécies para listar)

Genitália

Qualquer quantidade das seguintes bactérias: espécies de *Corynebacterium*, espécies de *Lactobacillus*, estreptococos α -hemolíticos e não hemolíticos, espécies de *Neisseria* não patogênicas

As seguintes bactérias, quando misturadas e não predominantes: enterococos, enterobactérias e outros bacilos gram-negativos, *Staphylococcus epidermidis*, *Candida albicans* e outras leveduras

Anaeróbios (muitas espécies para listar); as seguintes podem ser importantes quando isolados em cultura pura ou claramente predominantes: *Prevotella*, *Clostridium* e espécies de *Peptostreptococcus*

área depende de fatores fisiológicos, como a temperatura, a umidade, bem como a presença de certos nutrientes e substâncias inibitórias. Sua presença não é essencial para a vida, visto que podem ser criados animais “livres de germes” (*germfree*) na ausência completa da microbiota normal. Contudo, a microbiota residente de determinadas áreas desempenha um papel bem definido na manutenção da saúde e na função normal. Os membros da microbiota residente no trato intestinal sintetizam a vitamina K e ajudam na absorção dos nutrientes. Nas mucosas e na pele, a microbiota residente pode impedir a colonização por patógenos e o possível desenvolvimento de doença por “interferência bacteriana”. O mecanismo pode envolver a competição por receptores ou locais de ligação nas células do hospedeiro, competição por nutrientes, inibição mútua por produtos metabólicos ou tóxicos, por substâncias antibióticas ou bacteriocinas, ou outros mecanismos. A supressão da microbiota normal sem dúvida cria um local parcialmente vazio que tende a ser preenchido por microrganismos provenientes do ambiente ou de outras partes do corpo. Tais microrganismos

comportam-se como oportunistas, podendo tornar-se patógenos.

Por outro lado, os próprios membros da microbiota normal podem provocar doença em certas circunstâncias. Tais microrganismos estão adaptados ao modo de vida não invasivo definido pelas limitações do meio ambiente. Se forem removidos à força das restrições desse ambiente e introduzidos na corrente sanguínea ou em tecidos, poderão tornar-se patogênicos. Assim, por exemplo, os estreptococos do grupo *viridans* constituem os microrganismos residentes mais comuns das vias respiratórias superiores. Se um grande número desses microrganismos for introduzido na corrente sanguínea (p. ex., após extração dentária ou cirurgia oral), poderão instalar-se em valvas cardíacas defeituosas ou próteses valvares, causando endocardite infecciosa. Verifica-se a ocorrência transitória de pequeno número desses microrganismos na corrente sanguínea após traumatismo mínimo (p. ex., curetagem dentária ou escovação vigorosa dos dentes). As espécies de *Bacteroides* constituem as bactérias residentes mais comuns do intestino grosso, onde são inofensivas. Entretanto, se forem introduzidas

na cavidade peritoneal livre ou nos tecidos pélvicos juntamente com outras bactérias em consequência de traumatismo, irão causar supuração e bacteriemia. Existem muitos outros exemplos, mas o principal aspecto é que as bactérias da microbiota residente normal são inócuas, podendo ser benéficas em sua localização normal no hospedeiro e na ausência de anormalidades concomitantes. Todavia, poderão provocar doença se forem introduzidas em grande número em locais estranhos na presença de fatores predisponentes.

MICROBIOTA NORMAL DA PELE

A pele é o maior órgão do corpo humano e é colonizada por uma variedade de microrganismos não patogênicos e, eventualmente, benéficos para o hospedeiro. Em virtude de sua constante exposição e contato com o meio ambiente, a pele mostra-se particularmente propensa a abrigar microrganismos transitórios. Entretanto, existe uma microbiota residente constante e bem definida, modificada em diferentes áreas anatômicas por secreções, uso habitual de roupas ou proximidade de membranas mucosas (boca, nariz e área perineal) (Fig. 10.1).

Os microrganismos residentes encontrados predominantemente na pele são os bacilos difteroides aeróbios e anaeróbios (p. ex., *Corynebacterium*, *Propionibacterium*); estafilococos aeróbios e anaeróbios não hemolíticos (*Staphylococcus epidermidis* e outros estafilococos coagulase-negativos, ocasionalmente *Staphylococcus aureus* e espécies de *Peptostreptococcus*); bacilos gram-positivos, aeróbios e formadores de esporos, onipresentes no ar, na água e no solo; estreptococos α -hemolíticos (estreptococos *viridans*) e enterococos (espécies de *Enterococcus*); e bacilos gram-negativos coliformes e *Acinetobacter*. Com frequência, verifica-se a presença de fungos e leveduras nas dobras cutâneas; ocorrem micobactérias não patogênicas álcool-acidorresistentes em áreas ricas em secreções sebáceas (genitália, orelha externa).

Entre os fatores que podem ser importantes na eliminação de microrganismos não residentes da pele, destacam-se pH baixo, ácidos graxos nas secreções sebáceas e presença de lisozima. Nem a sudorese profusa nem a lavagem e o banho são capazes de eliminar ou modificar significativamente a microbiota residente normal. O número de microrganismos superficiais pode ser diminuído por escovação vigorosa diária com sabão que contenha hexaclorofeno ou outros desinfetantes; todavia, a microbiota recupera-se rapidamente a partir das glândulas sebáceas e sudoríparas mesmo quando o contato com outras áreas da pele ou com o meio ambiente é totalmente evitado. O uso de curativo oclusivo na pele tende a resultar em aumento acentuado da população microbiana total, e pode também causar alterações qualitativas da microbiota.

Com frequência, bactérias anaeróbias e aeróbias unem-se para causar infecções sinérgicas (gangrena, fascíte necrosante e celulite) na pele e nos tecidos moles. As bactérias frequentemente fazem parte da microbiota normal. Em geral, é difícil apontar um microrganismo específico como responsável pela lesão progressiva, visto que em geral estão envolvidas misturas de microrganismos.

Além de ser uma barreira física, a pele é uma barreira imunológica. Os queratinócitos continuamente reconhecem a microbiota da pele por meio dos receptores de reconhecimento de padrão (PRRs, p. ex., receptores do tipo Toll (TLR), receptores de manose, receptores do tipo NOD). A ativação dos receptores

de reconhecimento de padrão presentes nos queratinócitos pelos padrões moleculares associados a patógenos (PAMPs) inicia a resposta imune inata, resultando na secreção de peptídeos antimicrobianos, citocinas e quimiocinas. Embora a pele seja exposta a um grande número de microrganismos, ela é capaz de reconhecer entre microrganismos da microbiota normal e microrganismos potencialmente patogênicos. Os mecanismos que permitem essa seletividade não estão completamente esclarecidos.

MICROBIOTA NORMAL DA BOCA E DAS VIAS RESPIRATÓRIAS SUPERIORES

A microbiota do nariz consiste em corinebactérias proeminentes, estafilococos (*S. epidermidis*, *S. aureus*) e estreptococos.

Ao contrário de suas mães que apresentam uma microbiota normal complexa e diferenciada, os neonatos são inicialmente colonizados por uma comunidade microbiana simples e indiferenciada nos vários habitats do seu corpo, independente do tipo de parto realizado. Assim, nos primeiros estágios (menos de 5 minutos após o parto) a microbiota é homogeneamente distribuída pelo corpo. A composição da microbiota normal de neonatos nascidos por parto normal é semelhante à microbiota vaginal das mães, enquanto neonatos nascidos de cesária raramente apresentam na composição de sua microbiota microrganismos vaginais (p. ex. *Lactobacillus*, *Prevotella*, *Atopobium* e *Sneathia* spp.). Esses neonatos são colonizados nos diferentes habitats do seu corpo por microrganismos da pele de suas mães (p. ex. *Staphylococcus*, *Corynebacterium* e *Propionibacterium* spp.)

No decorrer de 4 a 12 horas após o nascimento, os estreptococos *viridans* estabelecem-se como membros mais proeminentes da microbiota residente e assim permanecem por toda a vida. Provavelmente, originam-se das vias respiratórias da mãe e dos atendentes. No início da vida, aparecem estafilococos aeróbios e anaeróbios, diplococos gram-negativos (*Neisseria*, *Moraxella catarrhalis*), difteroides e lactobacilos ocasionais. Quando os dentes começam a surgir, verifica-se o estabelecimento dos espiroquetas anaeróbios, espécies de *Prevotella* (principalmente *P. melaninogenica*), *Fusobacterium*, *Rothia* e *Capnocytophaga* (ver adiante), juntamente com alguns vibriões anaeróbios e lactobacilos. As espécies de *Actinomyces* estão normalmente presentes no tecido das tonsilas e nas gengivas dos adultos, podendo-se verificar também a presença de vários protozoários. As leveduras (espécies de *Candida*) são encontradas na boca.

Na faringe e na traqueia, verifica-se o estabelecimento de uma microbiota semelhante, enquanto poucas bactérias são encontradas nos brônquios normais. Os bronquíolos e alvéolos são normalmente estéreis. Os microrganismos predominantes nas vias respiratórias superiores, em particular na faringe, consistem em estreptococos não hemolíticos e α -hemolíticos, bem como neissérias. Também são observados estafilococos, difteroides, *Haemophilus*, pneumococos, *Mycoplasma* e *Prevotella*.

Mais de 600 espécies diferentes foram descritas na cavidade oral humana, porém pouco se conhece sobre essa microbiota normal em indivíduos saudáveis. O microbioma oral humano, representado pelo microbioma da saliva humana, foi recentemente caracterizado por sequência do RNAr 16S, a partir de amostras obtidas de 120 indivíduos saudáveis em 12 diferentes países. Existe uma considerável diversidade do microbioma da saliva em cada indivíduo, bem como entre eles. Contudo, o microbioma não varia

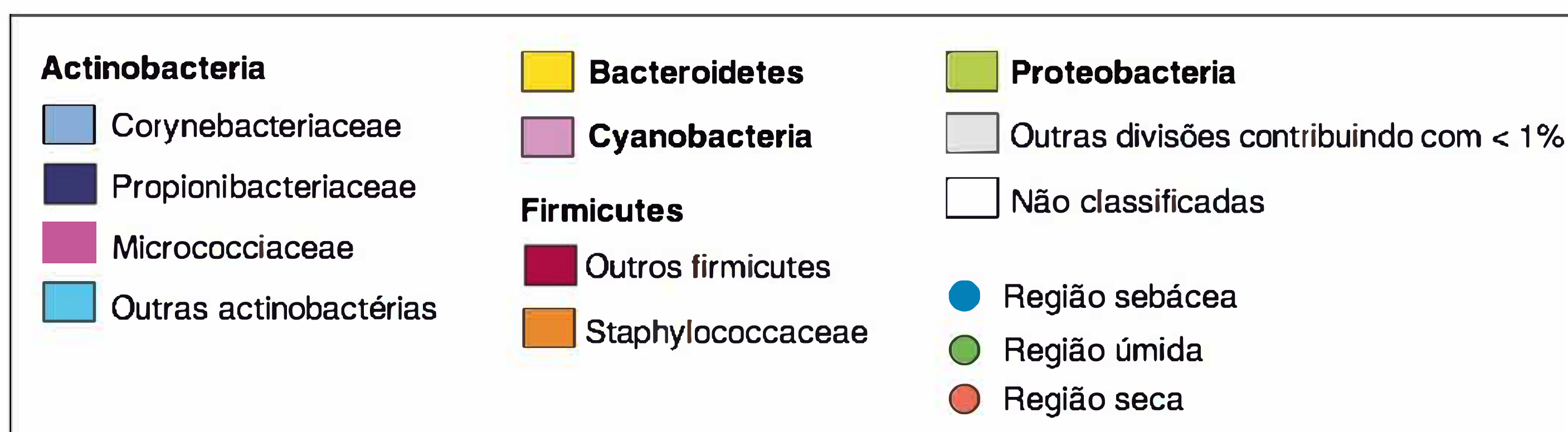
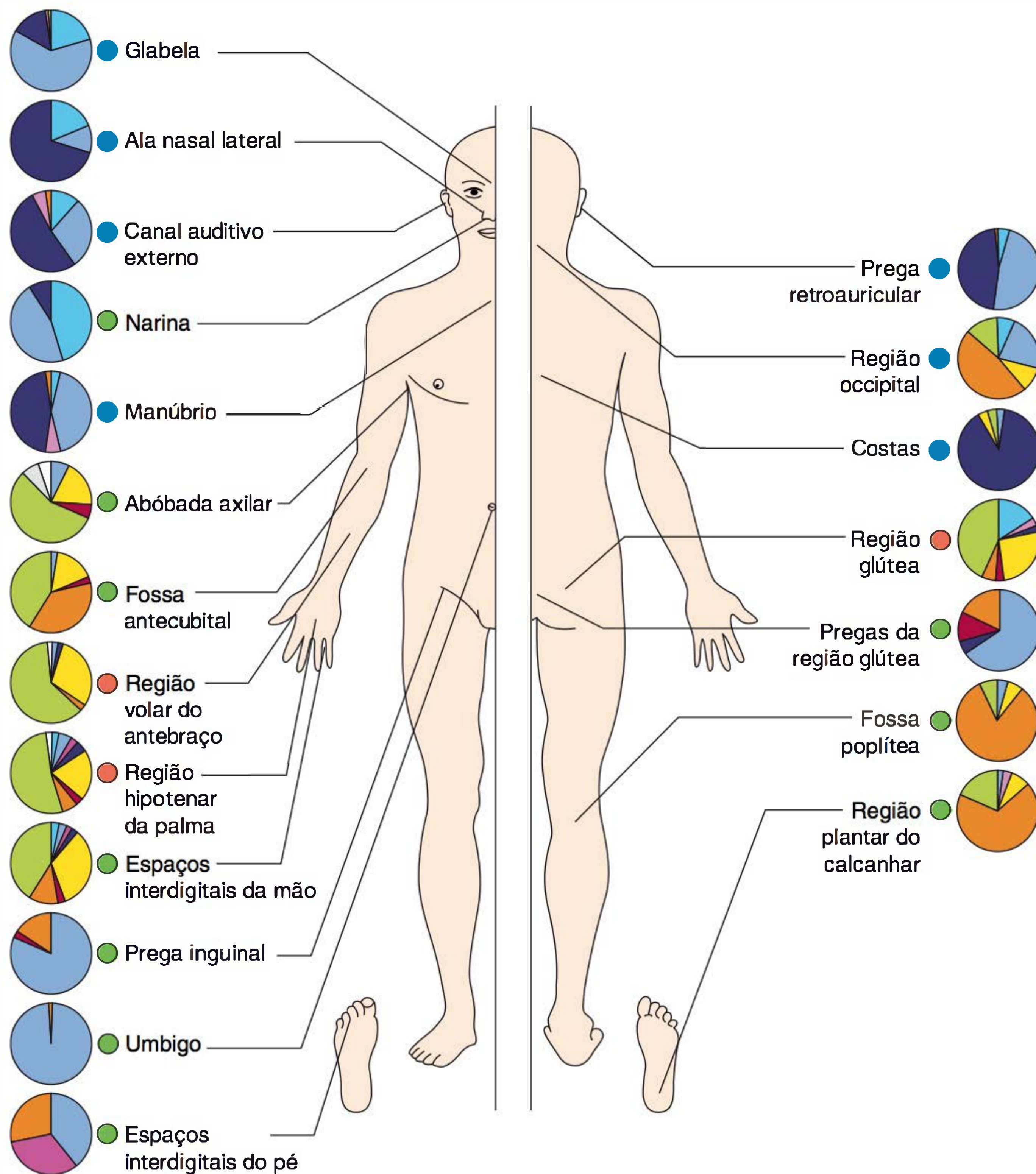


FIGURA 10.1 Distribuição topográfica das bactérias em diferentes sítios da pele. O microbioma da pele é extremamente dependente do microambiente de um determinado sítio. A classificação por famílias das bactérias colonizadoras em um indivíduo está representada na figura acima, com o filo em negrito. As regiões selecionadas apresentam uma predisposição a infecções cutâneas e foram agrupadas como sebáceas ou oleosas (círculo azul), úmida, característica das regiões de pregas (círculo verde) e seca, superfícies planas, (círculo vermelho). As regiões sebáceas ou úmidas são a glabela (região entre as sobrancelhas), as pregas alares (sítio da narina e o canal auditivo externo [dentro da orelha]), a prega retroauricular (região atrás da orelha), a região occipital (atrás do couro cabeludo), a fossa antecubital (parte interna do cotovelo), os espaços interdigitais (regiões entre os dedos das mãos e dos pés), a prega inguinal (ao lado da virilha), as pregas da região glútea (parte superior da dobra entre os glúteos), a fossa poplítea (atrás do joelho), a região plantar do calcanhar (parte inferior do pé) e umbigo. As regiões secas incluem: a região volar do antebraço (região mediana do antebraço), a região hipotenar da palma e a região glútea. (Reproduzida, com autorização, de Grice EA, Segre JA: The skin microbiome. *Nat Rev Microbiol* 2011;9:244-253. Reproduzida, com autorização de Macmillan Publishers Ltd.)

substancialmente ao redor do mundo. As sequências do RNAr 16S revelaram 101 gêneros bacterianos conhecidos, nos quais 39 previamente já foram isolados da cavidade oral. Além disso, análises filogenéticas sugerem que outros 64 gêneros desconhecidos também estejam presentes na cavidade oral. As infecções da boca e das vias respiratórias frequentemente incluem anaeróbios. As infecções periodontais, abscessos periorais, sinusite e mastoidite podem envolver predominantemente *P. melaninogenica*, *Fusobacteria* e *Peptostreptococci*. A aspiração de saliva (contendo até 10^2 desses microrganismos, bem como aeróbios) pode resultar em pneumonia necrosante, abscesso pulmonar e empiema.

O papel da microbiota normal da boca na placa dental e na cárie

A placa dental pode ser definida simplificada como um depósito dental aderente que se forma sobre a superfície do esmalte dentário, composto quase que inteiramente por bactérias provenientes da microbiota normal da boca (Fig. 10.2). A placa dentária é a mais prevalente e a mais densa dos biofilmes humanos. As vantagens para os microrganismos presentes no biofilme incluem proteção contra agentes ambientais (inclusive antimicrobianos) e a otimização de arranjos espaciais que maximizam a energia através do movimento dos nutrientes. Esses microrganismos inseridos no biofilme interagem dinamicamente em inúmeros níveis metabólicos e moleculares. O biofilme dental é inicialmente formado a partir de uma estrutura denominada **película dental**, a qual é definida como uma fina camada orgânica e fisiológica que pode ser vista como um biofilme completo, que reveste a superfície mineralizada do dente composta de proteínas e glicoproteínas derivadas a partir da saliva e de outras secreções orais (Fig. 10.2). A formação do biofilme dental envolve interações com a película adquirida e não diretamente com o esmalte dentário. Ela ocorre basicamente em duas etapas. A primeira é a localização anatômica do biofilme em relação à linha gengival. No início, ele é supragengival, se estendendo gradativamente para região subgengival. A segunda etapa consiste no crescimento e maturação do biofilme em camadas, envolvendo interações bactéria-película adquirida e bactéria-bactéria. Os organismos colonizadores pioneiros são principalmente bactérias gram-positivas, que se utilizam de interações iônicas e hidrofóbicas, bem como de estruturas de superfície com atividade lectínica para se aderir na película ou para coagregarem entre si. Um exemplo de colonizador pioneiro é o *Streptococcus sanguis*^{*}, porém outros estreptococos (*S. mitis*, *S. salivarius*, *S. oralis*, *S. gordonii* e *S. mutans*^{**}) e espécies

* N. de T. A grafia correta e atual é *Streptococcus sanguinis*. Embora esse microrganismo seja uma das principais bactérias pioneiras durante a maturação do biofilme dental em indivíduos saudáveis, ele está frequentemente associado a casos esporádicos de endocardites, principalmente em indivíduos com lesão cardíaca prévia ou próteses valvulares.

** N. de T. *S. mutans* faz parte de um grupo heterogêneo denominado estreptococos do grupo mutans, incluindo sete espécies: *mutans*, *sobrinus*, *cricketus*, *rattus*, *ferus*, *macaccae* e *downei*. No entanto, só o *S. mutans* e o *S. sobrinus* têm sido associados com a cárie em seres humanos. O *S. mutans* possui um potencial patogênico particular, devido a sua capacidade de colonizar superfícies duras presentes na cavidade oral (não somente o esmalte dentário, mas também dentaduras e próteses), de produzir polisacarídeos extracelulares (glucanas e frutanas), por ser acidogênico (produz grande quantidade de ácidos orgânicos e de ser acidúrico (apresenta capacidade de sobreviver na presença de um pH muito baixo).

de *Lactobacillus* e de *Actinomyces* estão frequentemente presentes. Colonizadores tardios podem aparecer no biofilme entre 2 a 4 dias após os colonizadores pioneiros, constituindo-se primariamente por bactérias anaeróbias (p. ex. espécies de *Porphyromonas*, *Prevotella*, *Fusobacterium*^{***} e *Veillonella*), além de diferentes espécies de *Actinomyces* e de espiroquetas anaeróbias como o *Treponema denticola*. Essas bactérias geralmente usam os microrganismos pioneiros para se aderirem ao biofilme dental. Além disso, polímeros extracelulares de glucanos de alto peso molecular são sintetizados e funcionam como uma espécie de cimento, dando mais coesão ao biofilme dental. Esses polímeros são principalmente produzidos por espécies do gênero *Streptococcus* (*S. mutans*), possivelmente em associação às espécies de *Actinomyces*. Ao todo, acredita-se que exista entre 300 a 400 espécies de bactérias presentes em uma placa dental madura.

A cárie é uma desintegração do dente que começa pelo esmalte e progride para a dentina e a polpa dentária. Primeiramente, o esmalte dentário, o qual é inteiramente acelular, é desmineralizado. Esse processo é atribuído aos microrganismos presentes no biofilme dental que pela atividade metabólica glicolítica produzem ácidos orgânicos a partir de determinados substratos. Em seguida, a decomposição da dentina e do cemento da superfície radicular exposta envolve a digestão bacteriana da matriz proteica. O *S. mutans* é considerado o microrganismo predominante na iniciação da cárie, porém múltiplos membros do biofilme dental participam na evolução dessa lesão, incluindo outros *Streptococcus* (*S. sobrinus*, *S. sanguinis* e *S. salivarius*), *Lactobacillus* (*L. acidophilus*, *L. casei*) e *Actinomyces* (*A. viscosus* e *A. naeslundii*). A interação do *S. mutans* com essas outras espécies no biofilme dental é a causa secundária da cárie. Já o acúmulo dos ácidos orgânicos causa uma rápida redução do pH no biofilme dental, sendo suficiente para reagir com a hidroxiapatita do esmalte e resultar em sua desmineralização pela solubilização dos íons de cálcio e fosfato. A produção desses ácidos e a diminuição do pH são mantidos pela disponibilidade do substrato, retornando a um pH mais elevado após sua exaustão. Uma dieta à base de monossacarídeos (p. ex. glicose e frutose) e de dissacarídeos (sacarose, lactose e maltose) proporciona um substrato fundamental para a glicólise bacteriana (Cap. 6) e a produção de ácidos orgânicos que resultam em desmineralização do esmalte dentário. Alimentos com alto teor de açúcar, particularmente a sacarose, que se adere ao esmalte dentário e tem um tempo de retenção maior na cavidade oral, são mais cariogênicos em relação a alimentos líquidos menos retentivos, mesmo que contenham açúcar. Uma possível vantagem para *S. mutans* é a sua capacidade para metabolizar a sacarose de forma mais eficiente do que outras bactérias orais. Um fator adicional é que a sacarose também é utilizada para a síntese de poliglucanos extracelulares, tais como dextranas e levanas por enzimas transferases presentes na superfície bacteriana. A produção dessas moléculas contribui para a agregação e acumulação de *S. mutans* na estrutura

*** N. de T. *Fusobacterium nucleatum* é considerado um dos principais microrganismos colonizadores tardios, tanto em biofilmes dentais de pessoas saudáveis quanto em indivíduos com diferentes patologias orais, como doenças periodontais. Esse microrganismo funciona como uma ponte de ligação entre os colonizadores tardios (que não apresentam capacidade de se ligarem diretamente à película adquirida) e os colonizadores pioneiros.

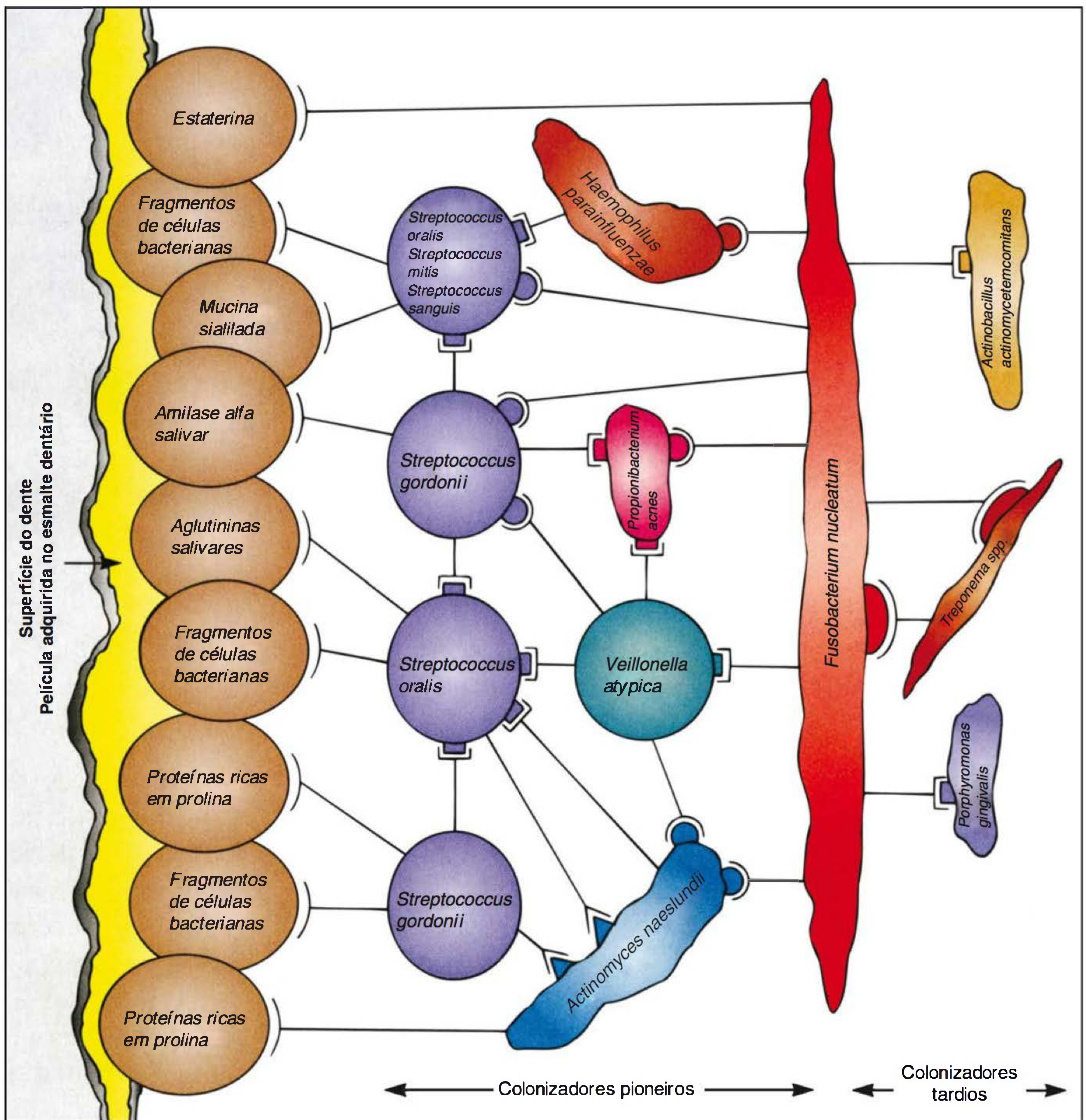


FIGURA 10.2 Biofilme dental. Os estágios na formação da placa dental também conhecida como biofilme dental. Os colonizadores iniciais se ligam diretamente à película adquirida, enquanto os colonizadores tardios a diferentes bactérias direta ou indiretamente ligadas à película adquirida. (Reproduzida, com autorização, de Willey J, Sherwood L, Woolverton C [editores]. *Prescott's Principles of Microbiology*. McGraw-Hill, 2008. © The McGraw-Hill Companies, Inc.)

dentária e também serve como reserva extracelular de nutrientes para *S. mutans* e outras bactérias do biofilme dental.

A bolsa periodontal na gengiva é particularmente uma região rica em microrganismos incluindo anaeróbios que são raramente encontrados em outros sítios da cavidade oral. As doenças periodontais induzidas por microrganismos presentes no biofilme dental compreendem duas patologias distintas: as

gingivites e as **periodontites** crônicas. Ambas as condições são causadas por bactérias do biofilme dental subgengival presente no sulco gengival. Embora possam participar nas doenças periodontais e na destruição tecidual, esses microrganismos recebem atenção quando implantados em outros locais, como, por exemplo, quando acarretam endocardite infecciosa ou bacteriemia em um hospedeiro granulocitopênico. São exemplos as

espécies de *Capnocytophaga* e *Rothia dentocariosa*. As espécies de *Capnocytophaga* são anaeróbios gram-negativos fusiformes e deslizantes, enquanto as espécies de *Rothia* são bastonetes gram-positivos aeróbios e pleomórficos. Ambos provavelmente participam da complexa microbiota das doenças periodontais com destruição óssea proeminente. Em pacientes imunodeficientes com granulocitopenia esses microrganismos podem resultar em graves lesões oportunistas em outros órgãos.

O controle das cáries envolve a remoção física da placa, limitação da ingestão de sacarose, boa nutrição com ingestão adequada de proteínas e redução da produção de ácido na boca mediante a limitação dos carboidratos disponíveis e limpeza frequente. A aplicação de fluoreto aos dentes ou sua ingestão na água resultam em aumento da resistência do esmalte aos ácidos. O controle da doença periodontal exige a remoção do cálculo dentário (depósito calcificado, tártaro) e boa higiene bucal.

Microbiota normal do trato intestinal

O trato gastrointestinal humano é dividido em diferentes compartimentos permitindo a digestão e a absorção de nutrientes na região proximal, que é separada de uma grande população microbiana presente no intestino grosso. Ao nascimento, o intestino é estéril, porém diferentes microrganismos são introduzidos com os alimentos. O ambiente (p. ex., a microbiota vaginal, fecal e da pele materna) é o principal fator determinante do perfil inicial da microbiota. Estudos anteriores apontavam que a microbiota intestinal de lactentes era composta predominantemente por espécies de *Bifidobacterium*. Contudo, estudos mais recentes, empregando ensaios de microarranjo e de PCR quantitativo, sugerem que essas bactérias não são encontradas antes de vários meses após o nascimento, persistindo posteriormente como uma população minoritária.

Nos lactentes alimentados por mamadeiras, existe uma microbiota mais diversificada no intestino, e os lactobacilos são menos proeminentes. À medida que os hábitos alimentares evoluem para o padrão do adulto, a microbiota intestinal modifica-se. A dieta exerce acentuada influência sobre a composição relativa das microbiotas intestinal e fecal. O intestino dos neonatos em berçários de tratamento intensivo tende a ser colonizado por Enterobacteriaceae, como, por exemplo, *Klebsiella*, *Citrobacter* e *Enterobacter*.

No adulto normal, o esôfago contém microrganismos transportados pela saliva e pelos alimentos. A acidez do estômago mantém o número de microrganismos em nível mínimo (10^2 a 10^3 /mL de conteúdo), a não ser que a obstrução do píloro favoreça a proliferação de cocos e bacilos gram-positivos. Das centenas de fílotipos detectados no estômago humano, somente o *Helicobacter pylori* persiste nesse ambiente. O pH ácido normal do estômago protege acentuadamente o indivíduo contra infecções por alguns patógenos entéricos (p. ex., o *Vibrio cholerae*). A administração de antiácidos, antagonistas de receptor H_2 e inibidores de bomba de prótons para úlcera péptica e refluxo gastroesofágico resulta em acentuado aumento da microbiota do estômago, inclusive muitos microrganismos em geral prevalentes nas fezes. À medida que o pH do conteúdo intestinal se torna alcalino, a microbiota residente aumenta gradualmente. No duodeno de um adulto, existem 10^3 a 10^4 bactérias/mL efluentes; uma maior população no jejuno

(10^4 - 10^5 /mL), no íleo (10^8 bactérias/mL), no ceco e no colo transversal, (10^{11} bactérias/mL). No intestino delgado a população microbiana associada à mucosa inclui os filos *Bacteroidetes* e *Clostridiales*, enquanto no lúmen incluem membros do filo *Enterobacteriales* e *Enterococcus*. No colo sigmoide e no reto as bactérias constituem 60% da massa fecal. Os anaeróbios são predominantes sobre os organismos facultativos em uma proporção de 1.000 para 1. Na diarreia o conteúdo de bactérias pode diminuir acentuadamente, ao passo que a contagem aumenta na estase intestinal.

No colo normal do adulto, 96 a 99% da microbiota residente consistem em anaeróbios. Seis filos são predominantes: *Bacteroidetes*, *Firmicutes*, *Actinobacteria*, *Verrucomicrobia*, *Fusobacteria* e *Proteobacteria*. Mais de 100 tipos distintos de microrganismos, que podem ser cultivados rotineiramente em laboratório são regularmente encontrados na microbiota fecal normal. As arqueobactérias são primariamente representadas por produtores de metano, o *Methanobrevibacter smithii*, e em menor proporção *Methanospaera stadtmannae*. Existem provavelmente mais de 500 espécies de bactérias no colo, muitas delas ainda não identificadas. Além das bactérias e das arqueobactérias, outros tipos de microrganismos estão presentes como protozoários e fungos, cuja função na microbiota é pouco compreendida. Vírus, predominantemente os fagos, são também bastantes comuns no colo. A ocorrência de traumatismo mínimo (p. ex., sigmoidoscopia, enema de bário) pode induzir bacteriemia transitória em cerca de 10% dos procedimentos.

As importantes funções da microbiota intestinal podem ser divididas em três categorias principais (ver revisão por O'Hara e Shanahan, 2006). A primeira destas são as funções de proteção*, nas quais as bactérias residentes deslocam e inibem indiretamente patógenos potenciais, pela competição por nutrientes e receptores ou indiretamente através da produção de fatores antimicrobianos, tais como bacteriocinas e ácido láctico. Em segundo lugar, organismos comensais são importantes para o desenvolvimento e a função do sistema imunológico das mucosas. Eles induzem a secreção de IgA, influenciam o desenvolvimento do sistema imunológico humoral intestinal e modulam a resposta T celular e os perfis de citocinas. A terceira categoria consiste em uma grande variedade de funções metabólicas. A microbiota do intestino delgado pode contribuir para as necessidades de aminoácidos apresentadas pelo hospedeiro, caso não fornecido pela alimentação. As bactérias intestinais produzem ácidos graxos de cadeia curta que controlam a diferenciação das células epiteliais intestinais. Elas sintetizam vitamina K, biotina e folato e melhoram a absorção de íons. Certas bactérias metabolizam substâncias carcinogênicas da dieta e auxiliam na fermentação de resíduos não digestíveis da dieta. Existem atualmente evidências de que as bactérias intestinais podem influenciar a deposição de gorduras no hospedeiro, levando a obesidade.

Nos seres humanos, a administração oral de antimicrobianos pode suprimir temporariamente os componentes da microbiota fecal suscetíveis aos fármacos. Os efeitos agudos da antibioticoterapia na microbiota intestinal nativa variam de uma diarreia autolimitada até uma colite pseudomembranosa. A supressão intencional da microbiota fecal é comumente efetuada pela administração oral pré-operatória de fármacos insolúveis. Por

* N. de R.T. Esta função também é conhecida como efeito barreira ou interferência microbiana.

exemplo, a neomicina combinada com a eritromicina pode, em 1 a 2 dias, suprimir parte da microbiota intestinal, particularmente os aeróbios. O metronidazol exerce o mesmo efeito sobre os anaeróbios. Se for efetuada uma cirurgia de intestino grosso quando as contagens microbianas estiverem em seu valor mínimo, poderá ser obtida alguma proteção contra a infecção decorrente de extravasamento acidental. Entretanto, pouco depois a contagem da microbiota fecal aumenta novamente e atinge níveis normais ou acima da faixa normal, incluindo principalmente alguns microrganismos em virtude de sua resistência relativa aos fármacos administrados. Os microrganismos sensíveis aos fármacos são substituídos por microrganismos resistentes, em particular estafilococos, enterobactérias, enterococos, *Pseudomonas*, *Clostridium difficile* e leveduras.

A ingestão de grandes quantidades de *Lactobacillus acidophilus* pode resultar em estabelecimento temporário desse microrganismo no intestino, com a supressão parcial concomitante de outra microbiota intestinal.

A microbiota anaeróbia do colo, incluindo o *B. fragilis*, clostrídeo e peptoestreptococos, desempenha importante papel na formação de abscesso, resultando em perfuração intestinal. A *Prevotella bivia* e a *P. disiens* são importantes na formação de abscessos pélvicos que se originam nos órgãos genitais femininos. A exemplo do *B. fragilis*, essas espécies são resistentes à penicilina, exigindo, portanto, o uso de outro agente.

Embora as bactérias da microbiota intestinal sejam normalmente inócuas para o hospedeiro, em indivíduos geneticamente suscetíveis alguns componentes da microbiota podem resultar em doença. Por exemplo, a doença inflamatória intestinal pode estar associada pela baixa tolerância imunológica a antígenos bacterianos. Isso leva a uma intensa inflamação causada por uma exuberante resposta imunológica. Mecanismos similares podem ser importantes em malignidades intestinais, tais como o câncer de colo.

MICROBIOTA NORMAL DA URETRA

A uretra anterior de ambos os sexos contém um pequeno número dos mesmos tipos de microrganismos encontrados na pele e no períneo. Esses microrganismos aparecem regularmente na urina normal eliminada em números de 10^2 a 10^4 /mL.

MICROBIOTA NORMAL DA VAGINA

Pouco depois do nascimento, aparecem na vagina lactobacilos aeróbios que persistem enquanto o pH permanece ácido (várias semanas). Quando o pH se torna neutro (permanecendo assim até a puberdade), verifica-se a presença de uma microbiota mista de cocos e bacilos. Na puberdade, os lactobacilos aeróbios e anaeróbios reaparecem em grande número e contribuem para manutenção do pH ácido com a produção de ácido a partir de carboidratos, em particular glicogênio. Trata-se aparentemente de um mecanismo importante para evitar o estabelecimento, na vagina, de outros microrganismos possivelmente prejudiciais. Se os lactobacilos forem suprimidos pela administração de antimicrobianos, o número de leveduras ou várias bactérias aumentará, causando irritação e inflamação. A **vaginose bacteriana** é uma síndrome caracterizada por alterações drásticas

nas espécies da microbiota vaginal e em suas proporções relativas. Ocorrem mudanças a partir de um ecossistema vaginal saudável, caracterizado pela presença de lactobacilos, para um estado de doença caracterizado pela presença de microrganismos pertencentes ao filos *Bacteroidetes* e *Actinobacteria*. Após a menopausa, o número de lactobacilos novamente diminui, e reaparece uma microbiota mista. A microbiota normal da vagina inclui os estreptococos do grupo B em aproximadamente 25% das mulheres no período da gravidez. Durante o parto, a criança pode adquirir um estreptococo do grupo B, que pode subsequentemente causar sepse neonatal e meningite. A microbiota vaginal normal também inclui estreptococos α -hemolíticos, estreptococos anaeróbios (peptoestreptococos), espécies de *Prevotella*, *Clostridium*, *Gardnerella vaginalis*, *Ureaplasma urealyticum* e, mais raramente, espécies de *Listeria* ou *Mobiluncus*. O muco cervical tem atividade antibacteriana e contém lisozima. Em algumas mulheres, o introito vaginal contém uma microbiota densa que se assemelha à microbiota do períneo e da área perineal, o que pode constituir um fator predisponente nas infecções recorrentes do trato urinário. Os microrganismos vaginais presentes na ocasião do parto podem infectar o neonato (p. ex., estreptococos do grupo B).

MICROBIOTA NORMAL DA CONJUNTIVA

Os microrganismos predominantes da conjuntiva consistem em difteroides (*Corynebacterium xerosis*), *S. epidermidis* e estreptococos não hemolíticos. Com frequência, verifica-se também a presença de *Neisseria* e bacilos gram-negativos semelhantes ao *Haemophilus* (espécies de *Moraxella*). A microbiota da conjuntiva normalmente é controlada pelo fluxo da lágrima, que contém lisozima antibacteriana.

RESUMO DO CAPÍTULO

- A microbiota normal compreende microrganismos que habitam a pele e as mucosas de indivíduos saudáveis. Ela fornece a primeira linha de defesa contra diferentes patógenos microbianos, ajuda na digestão e contribui para a maturação do sistema imunológico.
- A pele e a mucosa sempre são colonizadas por uma variedade de microrganismos que podem ser divididos em: (1) microbiota residente, a qual reflete os microrganismos regularmente encontrados em um determinado sítio e faixa etária e que, se perturbada, prontamente se reestabelece e (2) microbiota transitória, compreendendo microrganismos não patogênicos, ou potencialmente patogênicos que podem ser encontrados na pele ou mucosa por horas, dias ou semanas.
- Vários sítios na pele e mucosas são ambientes únicos com uma microbiota característica.
- Resultados do Projeto Microbioma Humano revelaram que a microbiota é mais complexa do que se imaginava anteriormente.
- A placa dental é um biofilme complexo composto por uma microbiota normal. O metabolismo de carboidratos por microrganismos pertencentes a esse biofilme, como o *Streptococcus mutans*, é responsável pela patogênese da cárie.

- Mais de 500 espécies de bactérias foram identificadas no colo. Os anaeróbios ultrapassam cerca de 1.000 vezes em números os microrganismos facultativos.

QUESTÕES DE REVISÃO

- Uma mulher de 26 anos consulta o médico por causa de um corrimento vaginal não habitual. Ao exame, o médico observa a presença de um corrimento fino, homogêneo, de coloração branco-acinzentada, aderido à parede da vagina. O pH da amostra é de 5,5 (normal: < 4,3). Na coloração pelo método de gram, observam-se muitas células epiteliais cobertas por bastonetes de coloração variável. É diagnosticada vaginose bacteriana. Qual dos seguintes microrganismos, componentes da microbiota vaginal normal, mostra-se em número muito baixo na vaginose bacteriana?
 - Espécies de *Corynebacterium*
 - Staphylococcus epidermidis*
 - Espécies de *Prevotella*
 - Candida albicans*
 - Espécies de *Lactobacillus*
- Certos microrganismos nunca são considerados membros da microbiota normal, sendo sempre tidos como patógenos. Qual dos seguintes organismos se encaixa nesta categoria?
 - Streptococcus pneumoniae*
 - Escherichia coli*
 - Mycobacterium tuberculosis*
 - Staphylococcus aureus*
 - Neisseria meningitidis*
- Uma menina de 9 anos desenvolve febre e dor intensa no lado direito da garganta. Ao exame, foram vistos vermelhidão e inchaço na área peritonsilar direita, tendo sido diagnosticado um abscesso peritonsilar. O(s) organismo(s) mais provável(is) de ser(em) cultivado(s) a partir desse abscesso é(são):
 - Staphylococcus aureus*
 - Streptococcus pneumoniae*
 - Espécies de *Corynebacterium* e *Prevotella melaninogenica*
 - Microbiota normal oronasal
 - Streptococcus viridans* e *Candida albicans*
- Um homem de 70 anos com história de diverticulose do colo sigmoide apresenta episódio súbito de dor acentuada no quadrante inferior esquerdo do abdome, acompanhada de febre. A dor regride gradualmente, sendo substituída por uma dor constante acompanhada de acentuada sensibilidade abdominal. O diagnóstico de provável ruptura do divertículo é confirmado, sendo encontrado um abscesso próximo do colo sigmoide. A(s) bactéria(s) mais provável(is) de ser(em) encontrada(s) nesse abscesso é(são)
 - Microbiota gastrintestinal normal mista
 - Bacteroides fragilis* isolado
 - Escherichia coli* isolada
 - Clostridium perfringens* isolado
 - Espécies de *Enterococcus* isoladas
- A terapia antimicrobiana pode diminuir a quantidade de bactérias sensíveis na microbiota intestinal e permitir a proliferação de bactérias colônicas relativamente resistentes. Qual das seguintes espécies pode proliferar-se e produzir uma toxina que causa diarreia?
 - Espécies de *Enterococcus*
 - Staphylococcus epidermidis*
 - Pseudomonas aeruginosa*
 - Clostridium difficile*
 - Bacteroides fragilis*
- Qual dos seguintes microrganismos pode fazer parte da microbiota normal vaginal e causar meningite em recém-nascidos?
 - Candida albicans*
 - Espécies de *Corynebacterium*
 - Staphylococcus epidermidis*
 - Ureaplasma urealyticum*
 - Estreptococos do grupo B
- A placa dental e a doença periodontal podem ser vistas como uma continuidade de qual tipo de processo fisiológico?
 - Formação de biofilme
 - Envelhecimento normal
 - Digestão anormal
 - Resposta imunológica exagerada
 - Goma de mascar
- Qual dos seguintes microrganismos está estreitamente relacionado com a cárie dentária?
 - Candida albicans*
 - Streptococcus mutans*
 - Prevotella melaninogenica*
 - Neisseria subflava*
 - Staphylococcus epidermidis*
- Bactérias anaeróbias, como o *Bacteroides fragilis*, são encontradas no colo sigmoide em uma concentração de cerca de 10^{11} /g de fezes. Que concentração de organismos facultativos, como a *Escherichia coli*, pode ser encontrada?
 - 10^{11} /g
 - 10^{10} /g
 - 10^9 /g
 - 10^8 /g
 - 10^7 /g
- O *Streptococcus pneumoniae* pode fazer parte da microbiota normal de 5 a 40% das pessoas. Em qual local anatômico esse microrganismo pode ser encontrado?
 - Conjuntiva
 - Nasofaringe
 - Colo
 - Uretra
 - Vagina
- Milhares de filamentos foram identificados no estômago humano, porém somente o único microrganismo que persiste é:
 - Lactobacillus casei*
 - Lactobocillus acidophilus*
 - Escherichia coli*
 - Helicobacter pylori*
 - Bifidobacteria*
- Uma microbiota residente é comumente encontrada:
 - Fígado
 - Uretra
 - Rins
 - Glândulas salivares
 - Intestino delgado
- Uma microbiota é ausente:
 - Faringe
 - Pulmões
 - Intestino delgado
 - Líquido sinovial
 - Conjuntiva

14. Mulher de 65 anos foi admitida com carcinoma celular escamoso do endocérvix. Após extensiva cirurgia ginecológica, foi mantida no pós-operatório com antibióticos intravenosos de largo espectro. A paciente teve um cateter venoso colocado no dia da cirurgia. Após 3 dias do pós-operatório, a paciente se encontrou febril. No oitavo dia, a hemocultura e a cultura da ponta do cateter central revelaram o crescimento de um microrganismo gram-positivo ovoide e de crescimento em brotamento. Qual dos seguintes microrganismos é o mais provável da condição da paciente?
- (A) *Staphylococcus aureus*
 (B) *Staphylococcus epidermidis*
 (C) *Enterococcus faecalis*
 (D) *Candida albicans*
 (E) *Saccharomyces cerevisiae*
15. A mais provável porta de entrada do microrganismo na questão é:
- (A) Durante a cirurgia ginecológica
 (B) Aspiração
 (C) Durante o troca do cateter central
 (D) Durante a troca da linha para administração da antibioticoterapia por via intravenosa
 (E) Intubação durante a anestesia

Respostas

- | | | | |
|------|------|-------|-------|
| 1. E | 5. D | 9. D | 13. D |
| 2. C | 6. E | 10. B | 14. D |
| 3. D | 7. A | 11. D | 15. C |
| 4. A | 8. B | 12. B | |

REFERÊNCIAS

Costello EK, Lauber CL, Hamady M et al.: Bacterial community variation in human body habitats across space and time. *Science* 2009;326:1694.

Dethlefsen L, Huse S, Sogin ML, Relman DA: The pervasive effects of an antibiotic on the human gut microbiota, as revealed by deep 16S rRNA sequencing. *PLoS Biol* 2008;6:2383.

Dominguez-Bello MG, Costello EK, Contreras M et al.: Delivery mode shapes the acquisition and structure of the initial microbiota across multiple body habitats in newborns. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2010;107:11971.

Duerkop BA, Vaishnava S, Hooper LV: Immune responses to the microbiota at the intestinal mucosal surface. *Immunity* 2009;31:368.

Fierer N, Hamady M, Lauber CL, Knight R: The influence of sex, handedness, and washing on the diversity of hand surface bacteria. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008;105:17994.

Fredericks DN, Fielder TL, Marrazzo JM: Molecular identification of bacteria associated with bacterial vaginosis. *N Engl J Med* 2005;353:1899.

Granato PA: Pathogenic and indigenous microorganisms of humans. In Murray PR et al. (editors). *Manual of Clinical Microbiology*, 9th ed. ASM Press, 2007.

Grice EA, Segre JA: The skin microbiome. *Nat Rev Microbiol* 2011;9:244.

Hentges DJ: The anaerobic microflora of the human body. *Clin Infect Dis* 1993;16(Suppl 4):S175.

Iwase T, Uehara Y, Shinji H et al.: *Staphylococcus epidermidis* Esp inhibits *Staphylococcus aureus* biofilm formation and nasal colonization. *Nature* 2010;465:346.

Khachatryan ZA, Ktsoyan ZA, Manukyan GP et al.: Predominant role of host genetics in controlling the composition of gut microbiota. *PLoS One* 2008;3:e3064.

Nasidze I, Li J, Quinque D et al.: Global diversity in the human salivary microbiome. *Genome Res* 2009;19:636.

Oakley BB, Fiedler TL, Marrazzo JM, Fredricks DN: Diversity of human vaginal bacterial communities and associations with clinically defined bacterial vaginosis. *Appl Env Microbiol* 2008;74:4898.

O'Hara AM, Shanahan F: The gut flora as a forgotten organ. *EMBO Rep* 2006;7:688.

Palmer C, Bik EM, DiGiulio DB et al.: Development of the human infant intestinal microbiota. *PLoS Biol* 2007;5:1556.

Price LB, Liu CM, Johnson KE et al.: The effects of circumcision on the penis microbiome. *PLoS One* 2010;5:e8422.

Spor A, Koren O, Ley R: Unravelling the effects of the environment and host genotype on the gut microbiome. *Nat Rev Microbiol* 2011;9:279.

Thomas JG, Nakaishi LA: Managing the complexity of a dynamic biofilm. *J Am Dent Assoc* 2006;137(Suppl):10S-15S.

Turnbaugh PJ, Ley RE, Hamady M et al.: The human microbiome project. *Nature* 2008;449:804.

Turnbaugh PJ, Ley RE, Mahowald MA et al.: An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest. *Nature* 2006;444:1027.

Walter J, Ley R: The human gut microbiome: Ecology and recent evolutionary changes. *Annu Rev Microbiol* 2011;65:411.

Willing BP, Russell SL, Finlay BB: Shifting the balance: Antibiotic effects on host-microbiota mutualism. *Nat Rev Microbiol* 2011;9:233.

Bacilos gram-positivos formadores de esporos: espécies *Bacillus* e *Clostridium*

Os bacilos gram-positivos formadores de esporos são representados pelas espécies *Bacillus* e *Clostridium*, bacilos onipresentes e que, em virtude de sua capacidade de formar esporos, podem sobreviver no meio ambiente durante muitos anos. As espécies *Bacillus* são aeróbias, enquanto as espécies de *Clostridium* clostrídeo são anaeróbias.

Entre as inúmeras espécies dos gêneros *Bacillus* e gêneros relacionados, a maioria não provoca doença nem está bem caracterizada na microbiologia médica. Entretanto, existem poucas espécies que causam doenças importantes nos seres humanos. O antraz*, doença clássica na história da microbiologia, é causado pelo *Bacillus anthracis* e continua sendo uma doença importante em animais, bem como, em certas ocasiões, em seres humanos. Além disso, esse microrganismo pode constituir um destacado agente em bioterrorismo e na guerra biológica em virtude de sua potente toxina. O *Bacillus cereus* e o *Bacillus thuringiensis* provocam intoxicação alimentar e, às vezes, infecções oculares ou outras infecções localizadas.

O gênero *Clostridium* é extremamente heterogêneo e mais de 190 espécies foram descritas. A lista de microrganismos patogênicos, bem como de novas espécies isoladas de fezes humanas, cujo potencial patogênico permanece indeterminado, continua a crescer. Os clostrídeos provocam diversas doenças importantes mediadas por toxinas, incluindo tétano (*Clostridium tetani*); botulismo (*Clostridium botulinum*); gangrena gasosa (*Clostridium perfringens*) e colite pseudomembranosa (*Clostridium difficile*). Outros clostrídeos também são encontrados em infecções anaeróbias mistas em seres humanos (Cap. 21).

ESPÉCIES DO GÊNERO *BACILLUS*

O gênero *Bacillus* inclui grandes bastonetes gram-positivos aeróbios que ocorrem em cadeias. A maioria dos membros desse gênero consiste em microrganismos saprofíticos que prevalecem no solo, na água, no ar e na vegetação, como o *Bacillus cereus* e o *Bacillus subtilis*. Alguns são patógenos de insetos, como o *B. thuringiensis*. Esse microrganismo é capaz de provocar infecções humanas. O *B. cereus* pode desenvolver-se em alimentos e causar intoxicação alimentar pela produção, tanto de enterotoxina (diarreia), quanto de toxina emética (vômitos). Além disso, o *B. cereus* e o *B. thuringiensis* podem,

* N. de R.T. O antraz também é conhecido como *carbúnculo*, em especial nos países europeus.

ocasionalmente, provocar doença em seres humanos imunocomprometidos (p. ex., meningite, endocardite, endoftalmite, conjuntivite ou gastroenterite aguda). Já o *B. anthracis*, responsável pelo antraz, é o principal patógeno do gênero.

Morfologia e identificação

A. Microrganismos típicos

As células típicas, que medem 1×3 a $4 \mu\text{m}$, têm extremidades quadradas e dispõem-se em cadeias longas. Os esporos estão localizados no centro dos bacilos imóveis.

B. Cultura

As colônias do *B. anthracis* são arredondadas e têm aspecto de “vidro lapidado” à luz transmitida. A hemólise é raramente observada na infecção pelo *B. anthracis*, sendo, porém, comum nas infecções causadas por *B. cereus* e pelos bacilos saprofíticos. A gelatina é liquefeita, e o crescimento em gelatina solidificada assemelha-se a um pinheiro invertido.

C. Características do crescimento

Os bacilos saprofíticos utilizam fontes simples de nitrogênio e carbono para obter energia, bem como para o seu crescimento. Os esporos são resistentes a alterações ambientais, suportando o calor seco e certos desinfetantes químicos por períodos moderados, e persistindo durante anos em terra seca. Produtos animais contaminados com esporos do antraz (p. ex., couro, pelos, cerdas, lã, osso) podem ser esterilizados por autoclavagem.

BACILLUS ANTHRACIS

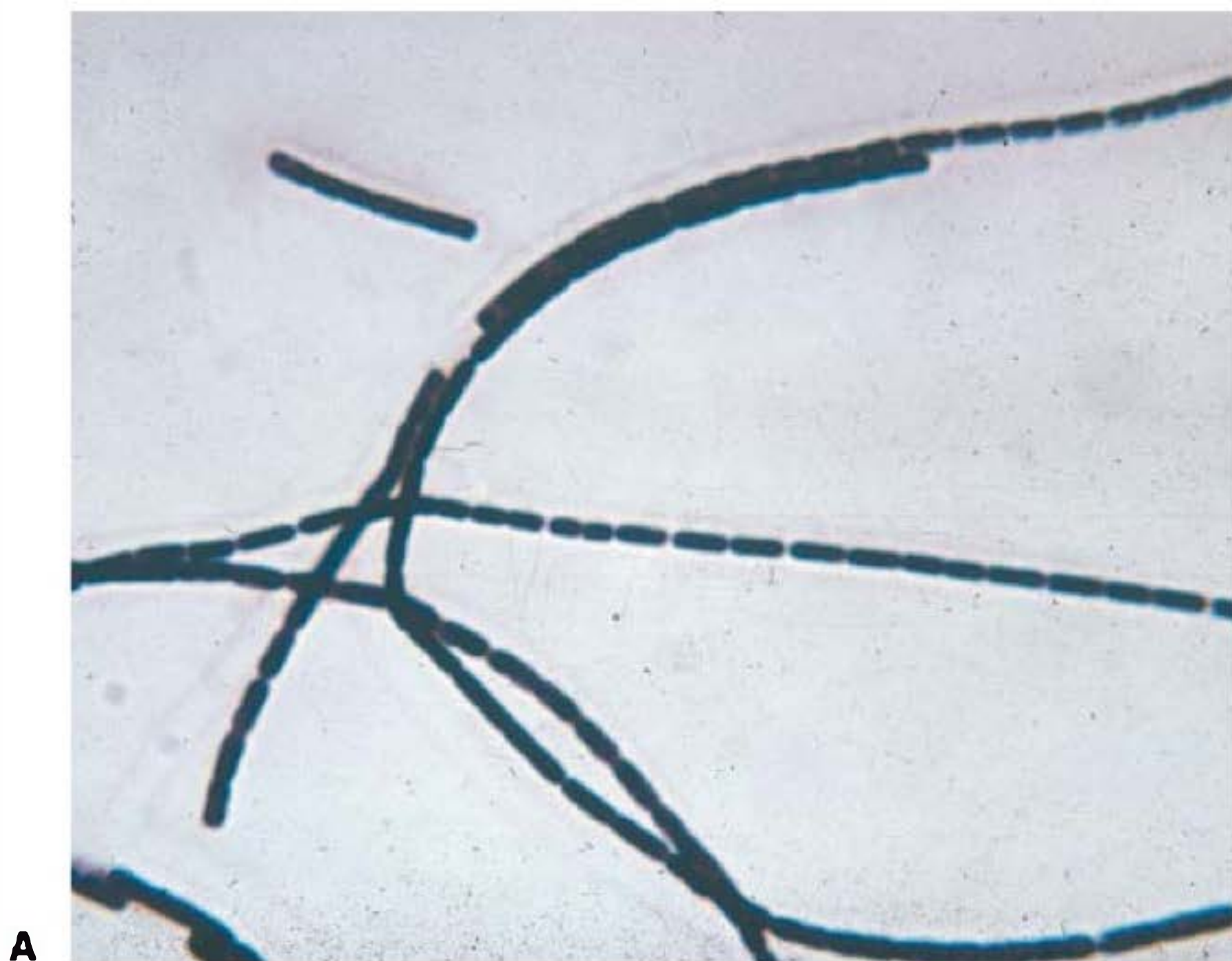
Patogênese

O antraz é primariamente uma doença de herbívoros, como, por exemplo, bovinos, caprinos, ovinos e equinos. Outros animais (p. ex., ratos) são relativamente resistentes à infecção. Essa doença é endêmica entre sociedades agrárias em países em desenvolvimento na África, Oriente Médio e América Central. Uma página na Internet mantida pela OMS fornece informações atualizadas sobre a doença em animais. Os seres humanos infectam-se casualmente por contato com animais infectados ou seus produtos. Nos animais, as portas de entrada são a boca e o trato gastrintestinal. Os esporos do solo contaminado têm

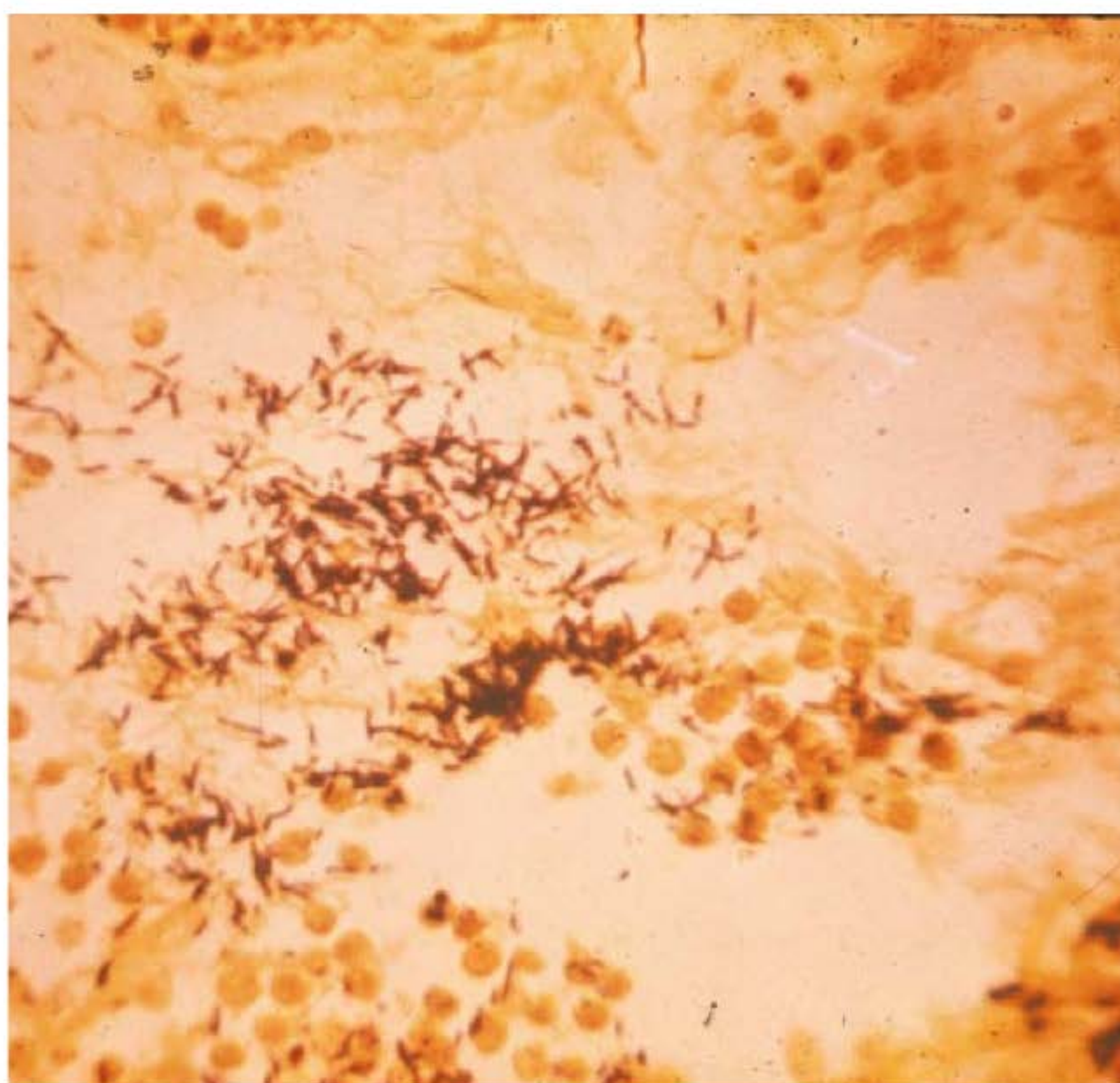
fácil acesso quando ingeridos com vegetação irritante ou que tenha espinhos. Nos seres humanos, a infecção costuma ser adquirida pela entrada de esporos através de pele lesionada (antraz cutâneo), raramente pelas mucosas (antraz gastrointestinal) ou por inalação de esporos no pulmão (antraz por inalação).

Os esporos germinam no tecido da porta de entrada, e o crescimento dos microrganismos na forma vegetativa leva à formação de edema gelatinoso e congestão. Os bacilos propagam-se pelos vasos linfáticos para a corrente sanguínea, multiplicando-se livremente no sangue e nos tecidos pouco antes e depois da morte do animal.

As amostras de *B. anthracis* (Fig. 11.1) que não produzem cápsula não são virulentas nem provocam antraz em animais de laboratório. A cápsula do ácido poli-D-glutâmico é antifagocítica. O gene da cápsula localiza-se em um ideoplasmídeo (pXO2).



A



B

FIGURA 11.1 (A) *Bacillus anthracis* em cultura em caldo (ampliada 1.000 vezes). (B) Em tecido (ampliada 400 vezes). (Cortesia de PS Brachman.)

A toxina do antraz consiste em três proteínas, o antígeno protetor (PA), o fator de edema (EF) e o fator letal (LF). O PA liga-se a receptores celulares específicos e, após ativação proteolítica, forma um canal na membrana que medeia a entrada do EF e do LF no interior da célula. O EF é uma adenililciclase que, com o PA, forma uma toxina conhecida como toxina de edema. O LF, junto com o PA, forma uma toxina letal que constitui importante fator de virulência, causando morte nos animais infectados e em seres humanos. Quando injetada em animais de laboratório (p. ex., ratos), a toxina letal pode matar rapidamente os animais. Os genes da toxina do antraz estão codificados em outro plasmídeo (pXO1). Os mecanismos exatos de ação de ambas as toxinas não são completamente compreendidos, porém essas toxinas apresentam potentes efeitos imunomoduladores.

No antraz por inalação (“doença dos classificadores de lã”), os esporos na poeira de lã, nos pelos ou no couro são inalados, fagocitados nos pulmões e transportados pela drenagem linfática até os linfonodos mediastínicos, onde ocorre germinação, seguida de produção da toxina, bem como desenvolvimento de mediastinite hemorrágica e sepse, que costumam ser rapidamente fatais. Na sepse do antraz, o número de microrganismos no sangue ultrapassa 10^7 /mL pouco antes da morte. No surto por inalação de antraz ocorrido em 1979 em Sverdlovsk, e no bioterrorismo, nos EUA, em 2001 (Cap. 48), a patogênese foi a mesma observada na inalação de antraz a partir de produtos animais.

Patologia

Nos animais suscetíveis e em seres humanos, os microrganismos proliferam-se na porta de entrada. As cápsulas permanecem intactas, e os microrganismos são circundados por uma grande quantidade de líquido proteináceo que contém alguns leucócitos; a partir desse local, disseminam-se rapidamente, atingindo a corrente sanguínea.

Nos animais resistentes, os microrganismos proliferam-se por algumas horas, havendo o acúmulo maciço de leucócitos. As cápsulas sofrem desintegração gradual e desaparecem. Os microrganismos permanecem localizados.

Manifestações clínicas

Nos seres humanos, cerca de 95% dos casos consistem em antraz cutâneo, e 5% em antraz por inalação. O antraz gastrointestinal é muito raro, tendo sido relatado na África, Ásia e EUA após ocasiões em que os indivíduos ingeriram carne de animais infectados.

Os eventos de bioterrorismo ocorridos no outono de 2001 (Cap. 48) resultaram em 22 casos de antraz, 11 por inalação e 11 cutâneos. Cinco dos pacientes infectados por inalação morreram, enquanto os demais sobreviveram.

O antraz cutâneo geralmente ocorre em superfícies expostas dos braços ou das mãos, seguidas, por ordem de frequência, do rosto e do pescoço. Verifica-se a formação de pápula pruriginosa 1 a 7 dias após a penetração dos microrganismos ou esporos através de uma solução de continuidade da pele. A princípio, a pápula assemelha-se a uma picada de inseto, transformando-se rapidamente em uma vesícula ou um pequeno anel de vesículas que coalescem, havendo a formação de úlcera

necrótica. Com frequência, as lesões têm 1 a 3 cm de diâmetro e apresentam uma escara negra central característica. Ocorre edema pronunciado. Podem ocorrer linfangite e linfadenopatia, bem como sinais e sintomas sistêmicos de febre, mal-estar e cefaleia. Depois de 7 a 10 dias, a escara fica totalmente desenvolvida. Por fim, seca e solta-se; a cicatrização ocorre por granulação, deixando uma cicatriz. Podem ser necessárias muitas semanas para haver a cicatrização da lesão e desaparecimento do edema. A antibioticoterapia não parece modificar a evolução natural da doença, porém previne a disseminação. Em até 20% dos pacientes, o antraz cutâneo pode levar a infecções sistêmicas (incluindo meningite e sepse) e morte.

No antraz por inalação, o período de incubação pode ser de até 6 semanas. As manifestações clínicas iniciais estão associadas a necrose hemorrágica pronunciada e edema de mediastino. A dor subesternal pode ser proeminente, e a radiografia de tórax revela alargamento mediastínico pronunciado. O comprometimento da pleura é seguido de derrames pleurais hemorrágicos; a tosse é secundária aos efeitos sobre a traqueia. Ocorre sepse e pode haver disseminação hematogênica para o trato gastrointestinal, causando ulceração intestinal, ou para as meninges, provocando meningite hemorrágica. A taxa de mortalidade no antraz por inalação é alta em caso de exposição conhecida e maior quando não se suspeita do diagnóstico logo no início.

Os animais adquirem antraz por ingestão de esporos e propagação dos microrganismos a partir do trato gastrointestinal, situação rara nos seres humanos, de modo que o antraz gastrointestinal é extremamente incomum. Dor abdominal, vômitos e diarreia sanguinolenta constituem sinais clínicos.

Exames diagnósticos laboratoriais

As amostras a serem examinadas são líquido ou pus da lesão local, sangue, fluido pleural e líquido cefalorraquidiano, nos casos de antraz por inalação associados à sepse. Já em casos de antraz gastrointestinal deve-se analisar as fezes e outros conteúdos intestinais. Os esfregaços corados, a partir da lesão local ou de amostra de sangue de animais mortos, frequentemente revelam cadeias de grandes bastonetes gram-positivos. O antraz pode ser identificado em esfregaços secos por técnicas de imunofluorescência.

Quando crescem em placas de ágar-sangue, os microrganismos produzem colônias acinzentadas a brancas não hemolíticas, com textura rugosa e aspecto de vidro moído. Protuberâncias em forma de vírgula (cabeça de medusa ou cabelo enrolado) podem projetar-se da colônia. A demonstração da cápsula necessita do crescimento do microrganismo em meio de cultura, contendo bicarbonato e 5 a 7% de dióxido de carbono. A coloração pelo método de Gram revela grandes bastonetes gram-positivos. A fermentação de carboidratos não é útil. Em meio de cultura semissólido, os bacilos do antraz são sempre imóveis, enquanto os microrganismos não patogênicos relacionados (p. ex., *B. cereus*) exibem motilidade por “formação de véu”. Os laboratórios clínicos que isolam grande quantidade de bacilos gram-positivos do sangue, do líquido cefalorraquidiano ou de lesões suspeitas de pele, que apresentam características fenotípicas comuns à descrição de *B. anthracis*, como mencionado anteriormente, devem contactar imediatamente os laboratórios de saúde pública e enviar o material para confirmação. A identificação definitiva requer lise por um bacteriófago- γ específico para *B. anthracis*, detecção

da cápsula por imunofluorescência ou identificação dos genes para a toxina por reação em cadeia da polimerase (PCR). Um ensaio imunoenzimático rápido (Elisa) que mede a concentração de anticorpos totais foi aprovado pela U.S. Food and Drug Administration [FDA] (Agência Reguladora Norte-Americana de Medicamentos e de Alimentos), porém o teste não é positivo na fase inicial da doença.

Resistência e imunidade

A imunização para prevenção contra o antraz baseia-se nos experimentos clássicos de Louis Pasteur. Em 1881, Pasteur provou que os microrganismos cultivados em caldo entre 42 e 52°C durante vários meses perdiam grande parte de sua virulência, podendo ser injetados vivos em ovinos e bovinos sem provocar doença; subsequentemente, constatou que tais animais estavam imunizados. A imunidade ativa contra o bacilo do antraz pode ser induzida em animais suscetíveis por vacinação com bacilos vivos atenuados, suspensões de esporos ou PA de filtrados de cultura. Os animais que pastam em regiões que apresentam antraz devem ser imunizados anualmente.

Nos EUA, uma vacina recém-aprovada pela FDA (AVA BioThrax) é baseada no sobrenadante de uma cultura de *B. anthracis* acapsular, porém toxinogênica, que contém PA absorvido com hidróxido de alumínio. O protocolo de vacinação é de 0,5 mL administrado por via intramuscular nas 0 e 4 semanas e, então, em 6, 12 e 18 meses, seguido de doses de reforço anuais. A vacina está disponível apenas para o U.S. Department of Defense and to persons at risk for repeated exposure to *B. anthracis* (Departamento de Defesa dos EUA e para pessoas sob risco de exposição repetida ao *B. anthracis*). Novas vacinas estão em desenvolvimento, devido a vacina atual contra o antraz ter imunidade de curta duração, necessitando doses de reforço periódicas. Vacinas baseadas em PA recombinante (PA_r) absorvido em hidróxido de alumínio estão atualmente em estudos clínicos de fase II. Essas vacinas mostraram-se muito bem toleradas e altamente imunogênicas. Outras imunoterapias disponíveis ou em desenvolvimento incluem imunoglobulina antiantraz e anticorpos monoclonais humanos com alta afinidade a PA (p. ex., raxibacumabe). Essas terapias estão disponíveis para uso sob consulta do Centers for Disease Control and Prevention [CDC] (Centro de Controle e Prevenção de Doenças).

Tratamento

Muitos antibióticos são eficazes contra o antraz em seres humanos; todavia, é necessário iniciar o tratamento em um estágio precoce. O ciprofloxacino é recomendado para o tratamento; a penicilina G, juntamente com gentamicina ou estreptomicina tem sido empregada para tratar o antraz.

No contexto da exposição potencial ao *B. anthracis* como agente de guerra biológica, a profilaxia com doxiciclina ou ciprofloxacino deve ser mantida por 4 semanas, enquanto se administram três doses de vacina, ou por 8 semanas se não for administrada vacina alguma.

Alguns dos outros bacilos gram-positivos, como o *B. cereus*, são resistentes à penicilina em virtude da produção de betalactamases. Doxiciclina, eritromicina e ciprofloxacino podem ser alternativas eficazes à penicilina.

Epidemiologia, prevenção e controle

O solo é contaminado por esporos do antraz a partir de carcaças de animais mortos. Esses esporos permanecem viáveis durante décadas. É possível que os esporos possam germinar no solo com pH de 6,5 a uma temperatura apropriada. Os animais que pastam infectam-se através de lesões das mucosas e servem para perpetuar a cadeia da infecção. O contato com animais infectados ou com o couro, pelos e cerdas desses constitui a fonte de infecção em seres humanos. As medidas de controle consistem em (1) eliminação das carcaças de animais por incineração ou enterro em cova profunda coberta com cal; (2) descontaminação (geralmente por autoclavagem) dos produtos animais; (3) uso de roupas protetoras e luvas para manipulação de materiais potencialmente infectados; assim como (4) imunização ativa de animais domésticos com vacinas vivas atenuadas. As pessoas sob alto risco ocupacional devem ser imunizadas.

BACILLUS CEREUS

A intoxicação alimentar causada pelo *B. cereus* manifesta-se de duas formas: a emética, associada a arroz cozido; e a diarreica, associada a carnes e molhos. O *B. cereus* produz toxinas causadoras de doença, que se manifesta mais como intoxicação do que como infecção transmitida por alimentos. A forma emética manifesta-se por náuseas, vômitos, cólica abdominal e, em certas ocasiões, diarreia autolimitada, e a recuperação ocorre em 24 horas. Aparece 1 a 5 horas após a ingestão de arroz e, em certas ocasiões, de massas. O *B. cereus* é um microrganismo do solo que costuma contaminar o arroz. Quando grandes quantidades de arroz são cozidas e esfriadas lentamente, os esporos do *B. cereus* germinam, e as células vegetativas produzem a toxina durante a fase *log* de crescimento ou durante a esporulação. A forma diarreica apresenta um período de incubação de 1 a 24 horas e manifesta-se por diarreia profusa com dor e cólicas abdominais; não é comum a ocorrência de febre e vômitos. A enterotoxina pode estar pré-formada no alimento ou ser produzida no intestino. A presença da bactéria nas fezes do paciente não é suficiente para se estabelecer o diagnóstico de doença por *B. cereus*, visto que as bactérias podem estar presentes em amostras de fezes normais; a identificação de uma concentração de 10^5 bactérias ou mais por grama de alimento é considerada diagnóstica.

O *B. cereus* representa causa importante de infecções oculares, ceratite grave, endoftalmite e panoftalmite. Os microrganismos são introduzidos no olho por corpos estranhos associados a traumatismo. O *B. cereus* também foi associado a infecções localizadas e sistêmicas, como endocardite, meningite, osteomielite e pneumonia; a presença de dispositivos médicos ou o uso de medicações intravenosas predispõem a essas infecções. O *B. cereus* é resistente a uma variedade de agentes antimicrobianos, inclusive penicilinas e cefalosporinas. Infecções sérias de origem extra-alimentar devem ser tratadas com vancomicina ou clindamicina, com ou sem um aminoglicosídeo.

Outras espécies *Bacillus* estão raramente associadas a doença humana. É difícil distinguir a contaminação superficial por *Bacillus* de doença genuína causada pelo microrganismo. Cinco espécies *Bacillus* (*B. thuringiensis*, *B. popilliae* [atualmente chamado *Paenibacillus popilliae*], *B. sphaericus*, *B. larvae* e *B. lentimorbus* [*Paenibacillus lentimorbus*]) são patógenos de insetos, e algumas delas foram utilizadas como inseticidas comerciais.

Genes de *B. thuringiensis* codificando para compostos inseticidas foram inseridos no material genético de algumas plantas comerciais. Isso tem sido associado à preocupação dos ambientalistas sobre plantas e produtos alimentares geneticamente modificados.

Verificação de conceitos

- As espécies de *Bacillus* compreendem um grande grupo de microrganismos ubíquos do solo, primariamente saprófitos, aeróbios e esporulados.
- O principal patógeno do gênero *Bacillus* é o *B. anthracis*, um microrganismo virulento, toxinogênico e de importância histórica.
- Os seres humanos são infectados pela inoculação de esporos por meio de animais e produtos animais contaminados.
- O *B. anthracis* causa três categorias de doenças em seres humanos, dependendo do ponto de entrada do esporo: cutâneo (95%), por inalação (5%) e gastrointestinal (raro).
- A combinação do antígeno protetor com dois fatores (fator edema e fator letal) forma duas toxinas potentes: a toxina edema e a toxina letal. Ambas apresentam atividade citotóxica e imunomoduladora. Essas toxinas são responsáveis pelo edema, destruição tecidual e hemorragia característica do antraz.
- *B. cereus* e *B. thuringiensis* causam intoxicação alimentar e infecções oportunistas em indivíduos imunocomprometidos.
- *B. cereus* pode ser diferenciado de *B. anthracis* com base na morfologia colonial, na β -hemólise e no padrão de suscetibilidade a antibióticos.

ESPÉCIES DO GÊNERO CLOSTRIDIUM

Os clostrídeos são bastonetes gram-positivos grandes, anaeróbios e móveis. Muitos decompõem proteínas ou formam toxinas, e alguns fazem ambos os processos. Seu *habitat* natural é o solo ou o trato intestinal de animais e seres humanos, onde vivem como saprófitas. Entre os patógenos, estão os microrganismos responsáveis pelo botulismo, pelo tétano, pela gangrena gasosa e pela colite pseudomembranosa.

Morfologia e identificação

A. Microrganismos típicos

Em geral, os esporos dos clostrídeos são maiores do que o diâmetro dos bastonetes nos quais se formam. Nas várias espécies, o esporo é de localização central, subterminal ou terminal. As espécies de clostrídeos são, em sua maioria, móveis e possuem flagelos peritríquios. Uma coloração pelo método de Gram de uma espécie de *Clostridium* com esporos terminais é mostrada na Figura 11.2.

B. Cultura

Os clostrídeos, que são anaeróbios, crescem em condições anaeróbias; algumas espécies são aerotolerantes e também crescem no ar ambiente. As condições anaeróbias são discutidas no Capítulo 21. Em geral, os clostrídeos crescem de modo satisfatório em meios enriquecidos com sangue e outros meios de cultura empregados para o cultivo de anaeróbios.

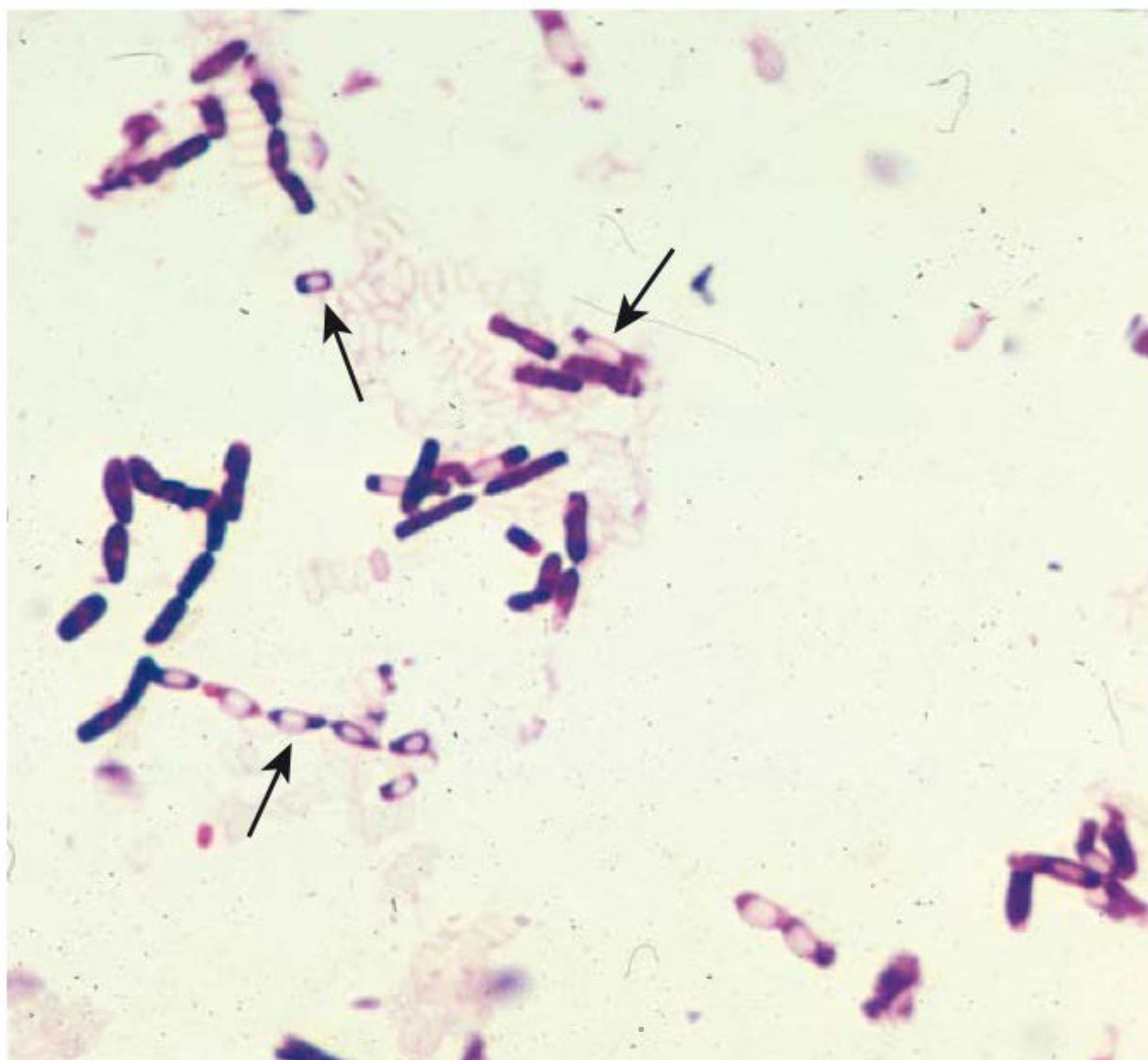


FIGURA 11.2 *Clostridium* corado pelo método de Gram. Observam-se bacilos gram-positivos. Muitos estão em cadeias. Alguns bacilos apresentam esporos, que estão descoloridos ou em formas ovóides claras (setas).

C. Formas das colônias

Alguns clostrídeos produzem grandes colônias elevadas (p. ex., *C. perfringens*); outros produzem colônias menores (p. ex., *C. tetani*). Alguns clostrídeos formam colônias que se espalham sobre a superfície do ágar. Muitos clostrídeos produzem uma zona de β -hemólise em ágar-sangue. Caracteristicamente, o *C. perfringens* produz uma dupla zona de β -hemólise ao redor das colônias.

D. Características do crescimento

Os clostrídeos são capazes de fermentar uma variedade de açúcares, e muitos deles podem digerir proteínas. Essas características 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” (*i. e.*, o coágulo é rompido pela ação do gás) por um terceiro grupo (p. ex., *C. perfringens*). Várias enzimas são produzidas por diferentes espécies (ver adiante).

E. Características antigênicas

Os clostrídeos compartilham alguns antígenos, mas também possuem antígenos solúveis específicos que permitem o seu agrupamento por meio de testes de precipitina.

CLOSTRIDIUM BOTULINUM

O *C. botulinum*, responsável pelo **botulismo**, tem distribuição mundial, sendo encontrado no solo e, às vezes, em fezes de animais.

Os tipos do *C. botulinum* distinguem-se pelo tipo antigênico de toxina que produzem. Os esporos dos microrganismos são altamente resistentes ao calor, suportando temperaturas de

100°C por várias horas. A resistência ao calor diminui em pH ácido ou em altas concentrações de sal.

Toxina

Durante o crescimento do *C. botulinum* e a autólise das bactérias ocorre a liberação de toxina no ambiente. São conhecidas sete variedades antigênicas de toxina (A a G). Os tipos A, B, E e F constituem as principais causas de doença humana. Os tipos A e B foram associados a uma variedade de alimentos, enquanto o tipo E predomina em produtos à base de peixe. O tipo C provoca a hipotonia do pescoço em aves; e o tipo D, botulismo nos mamíferos. Até o momento, não determinou-se a participação do tipo G na patogênese da doença. A toxina é uma proteína com massa molecular (MM) de 150.000, clivada em proteínas de MM de 100.000 e 50.000 ligadas por ponte de dissulfeto. A toxina do botulismo, absorvida pelo intestino, liga-se a receptores de membranas pré-sinápticas de neurônios motores do sistema nervoso periférico e de nervos cranianos. A proteólise — pela cadeia leve da toxina do botulismo — de proteínas-alvo SNARE nos neurônios inibe a liberação da acetilcolina na sinapse, resultando em ausência de contração muscular e paralisia. As proteínas SNARE são a sinaptobrevina, a SNAP 25 e a sintaxina. As toxinas do *C. botulinum* tipos A e E clivam a proteína de MM de 25.000 SNAP 25. A toxina tipo B cliva a sinaptobrevina. As toxinas do *C. botulinum* estão entre as substâncias mais tóxicas conhecidas: a dose letal provável para o ser humano é de cerca de 1 a 2 $\mu\text{g}/\text{kg}$. As toxinas são destruídas pelo calor a 100°C durante 20 minutos. Também se demonstrou que raras cepas de *C. butyricum* e *C. baratii* produzem neurotoxina botulínica em seres humanos. As cepas que produzem toxinas E e F estão associadas ao botulismo infantil.

Patogênese

O ressurgimento do botulismo de feridas causadas pelas toxinas tipos A e B aumentou nos EUA, Reino Unido e Alemanha, em associação com usuários de heroína contaminada. Contudo, a maioria dos casos é representado por intoxicação em decorrência da ingestão de alimentos, nos quais o *C. botulinum* cresceu e produziu toxina. Os alimentos mais comumente envolvidos são os condimentados, defumados, embalados a vácuo ou alcalinos enlatados, ingeridos sem cozimento e nos quais os esporos do *C. botulinum* germinam; em condições anaeróbias, as formas vegetativas crescem e produzem toxina.

No botulismo infantil, o mel é o veículo mais frequente de infecção. A patogênese difere da via pela qual o adulto adquire a infecção. A criança ingere esporos de *C. botulinum* (ou *C. butyricum* ou *C. baratii*) e os esporos germinam dentro do trato intestinal. As células vegetativas produzem toxina quando se multiplicam; a neurotoxina é então absorvida pela corrente sanguínea.

A toxina atua ao bloquear a liberação da acetilcolina nas sinapses e nas junções neuromusculares (ver adiante discussão prévia). Em consequência, ocorre paralisia flácida. O eletromiograma e os testes de força com edrofônio são típicos.

Manifestações clínicas

Os sintomas, que aparecem 18 a 24 horas após a ingestão do alimento contaminado com toxina, consistem em distúrbios

visuais (descoordenação dos músculos oculares, visão dupla), incapacidade de deglutir e dificuldade na fala; os sinais de paralisia bulbar são progressivos, e ocorre morte por paralisia respiratória ou parada cardíaca. Os sintomas gastrintestinais não são regularmente proeminentes. Não há febre. O paciente permanece totalmente consciente até pouco antes da morte. A taxa de mortalidade é elevada. Os pacientes que se recuperam não desenvolvem antitoxina no sangue.

Nos EUA, o botulismo em lactentes é tão ou até mais comum que a forma clássica de botulismo paralítico associado à ingestão de alimentos contaminados com a toxina. Lactentes nos primeiros meses de vida apresentam pouco apetite, fraqueza e sinais de paralisia (“bebê desengonçado”). O botulismo do lactente pode constituir uma das causas de síndrome da morte súbita em lactentes. O *C. botulinum* e a toxina botulínica são encontrados nas fezes, mas não no soro.

Exames diagnósticos laboratoriais

Com frequência, pode-se demonstrar a toxina no soro, na secreção gástrica e nas fezes do paciente. A toxina também pode ser encontrada em restos de alimentos. Camundongos inoculados por via intraperitonal com essas espécies toxinogênicas morrem rapidamente. O tipo antigênico de toxina é identificado pela neutralização por antitoxinas específicas em testes com camundongos. Esses ensaios são importantes para confirmação do botulismo. O *C. botulinum* pode crescer a partir de restos de alimentos e ser testado quanto à produção de toxina; todavia, esse procedimento, de significado questionável, é raramente efetuado. No botulismo do lactente, o *C. botulinum* e a toxina podem ser encontrados no conteúdo intestinal, mas não no soro. Outros testes usados para detecção da toxina incluem Elisa e PCR, porém esse último teste pode detectar amostras que carregam o gene, mas não expressam a toxina.

Tratamento

Foram preparadas antitoxinas potentes contra três tipos de toxina botulínica em cavalos. 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. Deve-se monitorar o paciente até mesmo com ventilação mecânica, caso necessário. Tais medidas reduziram a taxa de mortalidade de 65% para menos de 25%.

Embora a maioria das crianças se recupere apenas com o tratamento de suporte, a terapia com antitoxina é recomendada.

Epidemiologia, prevenção e controle

Como os esporos de *C. botulinum* se encontram amplamente distribuídos no solo frequentemente contaminam legumes, verduras, frutas e outros produtos. Um grande surto em restaurantes foi associado ao consumo de cebolas fritas. Quando esses alimentos são enlatados ou conservados de outra maneira, precisam ser aquecidos o suficiente para assegurar a destruição dos esporos ou fervidos durante 20 minutos antes do consumo. A rigorosa regulamentação para os enlatados comerciais superou, em grande parte, o perigo dos surtos disseminados; todavia, o consumo de enlatados tem causado mortes. Atualmente, o principal fator de risco para botulismo reside nas conservas caseiras, particularmente vagem, milho, pimenta,

azeitona, ervilha e peixe defumado ou fresco embalado a vácuo em sacos plásticos. Os alimentos contaminados podem ficar estragados ou rançosos, e os recipientes podem “estufar” ou ter aspecto normal. O risco desses alimentos poderá ser reduzido se os mesmos forem fervidos durante mais de 20 minutos antes do consumo. Na África do Sul, são utilizados toxoides para a imunização ativa do gado bovino.

A toxina botulínica é considerada um dos principais agentes para bioterrorismo e guerra biológica (Cap. 48).

CLOSTRIDIUM TETANI

O *C. tetani*, responsável pelo **tétano**, tem distribuição mundial, e está presente no solo e nas fezes de equinos e de outros animais. Podem-se distinguir vários tipos de *C. tetani* com base nos antígenos flagelares específicos. Todos têm em comum o antígeno O (somático), que pode estar mascarado, e produzem o mesmo tipo antigênico de neurotoxina, a tetanospasmína.

Toxina

As células vegetativas de *C. tetani* produzem a toxina tetanospasmína (MM de 150.000), que é clivada por uma protease bacteriana em dois peptídeos (MM de 50.000 e 100.000) ligados por ponte de dissulfeto. Inicialmente, a toxina liga-se a receptores nas membranas pré-sinápticas dos neurônios motores. Em seguida, migra pelo sistema de transporte axônico retrógrado, para os corpos celulares desses neurônios até a medula espinal e o tronco cerebral. A toxina difunde-se para as terminações de células inibitórias, inclusive interneurônios glicinérgicos e neurônios secretores do ácido γ -aminobutírico (GABA) do tronco encefálico. A toxina degrada a sinaptobrevina, uma proteína necessária para a ancoragem de vesículas neurotransmissoras sobre a membrana pré-sináptica. A liberação da glicina e do GABA inibitórios é bloqueada, e os neurônios motores não são inibidos. Em consequência, ocorrem hiper-reflexia, espasmos musculares e paralisia espástica. Quantidades extremamente pequenas da toxina podem ser letais para os seres humanos.

Patogênese

C. tetani não é um microrganismo invasor. A infecção permanece estritamente localizada na área do tecido morto (ferida, queimadura, lesão, coto umbilical, sutura cirúrgica) onde os esporos foram introduzidos. O volume de tecido infectado é pequeno, e a doença consiste quase totalmente em toxemia. A germinação do esporo e o desenvolvimento de microrganismos na forma vegetativa que produzem toxinas são favorecidos (1) pela presença de tecido necrótico, (2) por sais de cálcio e (3) por infecções piogênicas associadas. Todos esses fatores contribuem para o estabelecimento de um baixo potencial de oxidação-redução.

A toxina liberada pelas células vegetativas atinge o sistema nervoso central e fixa-se rapidamente a receptores na medula espinal e tronco cerebral, exercendo as ações descritas anteriormente.

Manifestações clínicas

O período de incubação pode variar de 4 a 5 dias a muitas semanas. A doença caracteriza-se pela contração tônica dos músculos voluntários. Com frequência, os espasmos musculares

afetam, a princípio, a área de lesão e infecção, bem como, em seguida, os músculos da mandíbula (trismo), que se contraem de tal modo que a boca não pode ser aberta. Gradualmente, outros músculos voluntários são acometidos, resultando em espasmos tônicos. Qualquer estímulo externo pode desencadear espasmo muscular generalizado tetânico. O paciente fica totalmente consciente, podendo a dor ser intensa. Em geral, a morte resulta da interferência na mecânica da respiração. A taxa de mortalidade do tétano generalizado é muito elevada.

Diagnóstico

O diagnóstico baseia-se no quadro clínico e na história de lesão, embora apenas 50% dos pacientes com tétano tenham uma lesão que os leve a procurar assistência médica. O diagnóstico diferencial primário do tétano é envenenamento por estricnina. A cultura dos tecidos das feridas contaminadas em condição anaeróbia pode levar ao crescimento do *C. tetani*. Todavia, nunca se deve aguardar a demonstração do microrganismo para o uso preventivo ou terapêutico da antitoxina. A prova do isolamento do *C. tetani* deve basear-se na produção de toxina e na sua neutralização por antitoxina específica.

Prevenção e tratamento

Os resultados do tratamento do tétano não são satisfatórios. Por conseguinte, a prevenção é de suma importância. A prevenção do tétano depende (1) da imunização ativa com toxoides, (2) dos cuidados apropriados das feridas contaminadas com o solo, (3) do uso profilático de antitoxina e (4) da administração de penicilina.

A administração intramuscular de 250 a 500 unidades de antitoxina humana (imunoglobulina antitetânica) proporciona uma proteção sistêmica adequada (0,01 unidade ou mais por mililitro de soro) durante 2 a 4 semanas, o que neutraliza a toxina que ainda não se fixou ao tecido nervoso. A profilaxia com antitoxina deve ser acompanhada de imunização ativa com toxoide tetânico.

Os pacientes que desenvolvem sintomas de tétano devem receber relaxantes musculares, sedação e ventilação assistida. Algumas vezes, são administradas doses muito grandes de antitoxina (3.000 a 10.000 unidades de imunoglobulina antitetânica) por via intravenosa, em um esforço de neutralizar a toxina que ainda não se fixou ao tecido nervoso. Todavia, a eficácia da antitoxina como tratamento é duvidosa, exceto no tétano neonatal, em que pode salvar vidas.

O desbridamento cirúrgico é de vital importância, pois remove o tecido necrótico essencial para a proliferação dos microrganismos. A administração de oxigênio hiperbárico não tem qualquer efeito comprovado.

A penicilina inibe fortemente o crescimento do *C. tetani* e interrompe qualquer produção adicional de toxina. Os antibióticos também podem controlar a infecção piogênica associada.

Quando um indivíduo previamente imunizado sofre um ferimento potencialmente perigoso, convém injetar uma dose adicional de toxoide para estimular novamente a produção de antitoxina. Essa injeção de “reforço” do toxoide poderá ser acompanhada de uma dose de antitoxina se o paciente não tiver recebido imunização atual nem reforços, ou se a história de imunização for desconhecida.

Controle

O tétano é uma doença que pode ser totalmente evitada. A imunização ativa universal com toxoide tetânico deve ser obrigatória. O toxoide tetânico é produzido por destoxificação da toxina com formol e sua concentração posterior. São empregados toxoides adsorvidos em sais de alumínio. O esquema inicial de imunização consiste em três injeções, seguidas de outra dose em cerca de 1 ano. A imunização inicial deve ser efetuada em todas as crianças durante o primeiro ano de vida. Administra-se uma dose de reforço de toxoide na época do ingresso escolar. Posteriormente, os reforços podem ser administrados a intervalos de 10 anos para manter níveis séricos de mais de 0,01 unidade de antitoxina por mililitro. Nas crianças menores, o toxoide tetânico é frequentemente combinado com toxoide diftérico e vacina acelular contra coqueluche.

As medidas de controle não são possíveis devido à ampla disseminação do microrganismo no solo e à sobrevivência prolongada de seus esporos.

CLOSTRÍDEOS QUE CAUSAM INFECÇÕES INVASIVAS

Diferentes clostrídeos produtores de toxina (*C. perfringens* e clostrídeos relacionados) (Fig. 11.3) podem causar infecção invasiva (como **mionecrose** e **gangrena gasosa**) se forem introduzidos em tecidos lesionados. Cerca de 30 espécies de clostrídeos podem exercer esse efeito, porém a mais comum encontrada na doença invasiva é o *C. perfringens* (90%), cuja enterotoxina constitui uma causa comum de intoxicação alimentar.

Toxinas

Os clostrídeos invasivos produzem uma grande variedade de toxinas e enzimas que resultam em infecção disseminada.

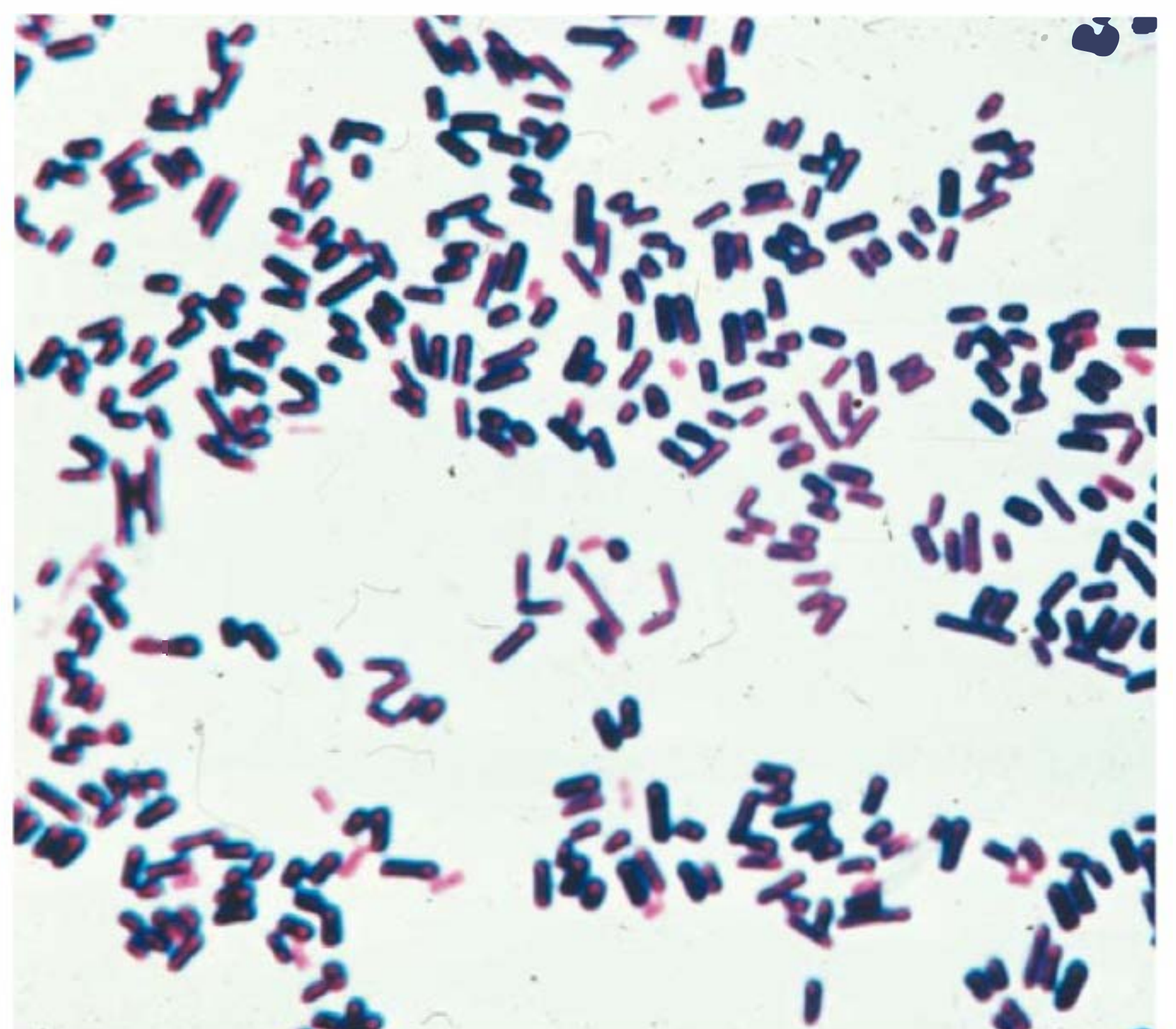


FIGURA 11.3 Bacilos da gangrena gasosa. Tipicamente, o *C. perfringens* não forma esporos quando cresce em meios laboratoriais.

Muitas dessas toxinas têm propriedades letais, necrosantes e hemolíticas. Em alguns casos, trata-se de propriedades diferentes de uma única substância; em outros casos, são decorrentes de entidades químicas diferentes. A toxina α do *C. perfringens* tipo A consiste em uma lecitinase cuja ação letal é proporcional à velocidade com que degrada a lecitina (importante componente das membranas celulares) em fosforilcolina e diglicerídeo. A toxina teta exerce efeitos hemolíticos e necrosantes semelhantes, mas não é uma lecitinase. Também são produzidas DNase e hialuronidase, uma colagenase que digere o colágeno do tecido subcutâneo e do músculo.

Algumas cepas do *C. perfringens* produzem poderosa enterotoxina, particularmente quando crescem em pratos feitos à base de carne. Quando são ingeridas mais de 10^8 células vegetativas, que esporulam no intestino, ocorre a formação da enterotoxina, uma proteína (MM de 35.000) que parece um componente não essencial do revestimento do esporo, distinta de outras toxinas de clostrídeos e que provoca diarreia intensa em 7 a 30 horas. A ação da enterotoxina do *C. perfringens* envolve hipersecreção acentuada no jejuno e no íleo, com perda de líquidos e eletrólitos na diarreia. Sintomas observados com menor frequência consistem em náuseas, vômitos e febre. A doença, que tende a ser autolimitada, assemelha-se àquela causada por *B. cereus*. Além disso, amostras de *C. perfringens* produtoras de enterotoxina podem desempenhar um papel importante em casos de diarreia associada ao uso de antibióticos.

Patogênese

Nas infecções por clostrídeos invasivos, os esporos atingem o tecido pela contaminação (pelo solo, fezes) de áreas traumatizadas ou a partir do trato intestinal. Os esporos germinam a um baixo potencial de oxidação-redução; as células vegetativas multiplicam-se, fermentam os carboidratos presentes nos tecidos e produzem gás. A distensão do tecido e a interferência no suprimento sanguíneo, juntamente com a secreção de toxina necrosante e hialuronidase, favorecem a disseminação da infecção. A necrose tecidual estende-se, proporcionando oportunidade de maior crescimento bacteriano, desenvolvimento de anemia hemolítica, bem como, por fim, toxemia grave e morte.

Na gangrena gasosa (mionecrose por clostrídeos), o desenvolvimento de uma infecção mista é a regra geral. Além dos clostrídeos toxigênicos, verifica-se habitualmente a presença de clostrídeos proteolíticos, bem como vários cocos e microrganismos gram-negativos. O *C. perfringens* ocorre no trato genital de 5% das mulheres. Antes da legalização do aborto nos EUA, os abortos provocados por instrumentos eram seguidos de infecções urinárias por clostrídeos. O *Clostridium sordellii* tem muitas das propriedades do *C. perfringens*, sendo descrito como causador de uma síndrome do choque tóxico após procedimento de aborto medicamentoso com mifepristona e misoprostol vaginal. A infecção do endométrio está relacionada com a presença do *C. sordellii*. A bacteriemia por clostrídeos, especialmente por *C. septicum*, é frequente em pacientes com neoplasia. Na Nova Guiné, o *C. perfringens* tipo C provoca enterite necrosante (*pigbel*), que pode ser altamente fatal em crianças. A imunização com toxoide tipo C parece ter valor preventivo.

Manifestações clínicas

A partir de uma ferida contaminada (p. ex., fratura exposta, útero pós-parto), a infecção dissemina-se em 1 a 3 dias, causando crepitação no tecido subcutâneo e no músculo, secreção de odor fétido, necrose rapidamente progressiva, febre, hemólise, toxemia, choque e morte. O tratamento consiste em cirurgia precoce (amputação) e administração de antibióticos. Antes do advento da terapia específica, a amputação precoce era o único tratamento. Algumas vezes, a infecção resulta apenas em fascíte ou celulite anaeróbia.

Em geral, a intoxicação alimentar por *C. perfringens* ocorre após a ingestão de grande número de clostrídeos que cresceram em carnes aquecidas. A toxina forma-se quando os microrganismos esporulam no intestino, com o aparecimento de diarreia — geralmente sem vômitos ou febre — em 7 a 30 horas. A duração da doença é de apenas 1 a 2 dias.

Exames diagnósticos laboratoriais

As amostras consistem em material coletado de feridas, pus e tecido. A presença de grandes bastonetes gram-positivos em esfregaços corados pelo método de Gram sugere clostrídeos produtores de gangrena gasosa; todavia, os esporos não estão presentes regularmente.

O material é inoculado em meio de glicose com carne moída e meio de tioglicolato, bem como em placa de ágar-sangue com incubação anaeróbia. O crescimento de um desses meios é transferido para o leite. A ruptura do coágulo por gás em 24 h sugere a presença do *C. perfringens*. Culturas puras obtidas pela seleção das colônias a partir das placas de sangue incubadas em condições anaeróbias, são identificadas por reações bioquímicas (vários açúcares em tioglicolato, ação sobre o leite), hemólise e morfologia colonial. A atividade da lecitinase é avaliada pelo precipitado formado ao redor das colônias em meio de gema de ovo. A identificação final baseia-se na produção de toxinas e na sua neutralização por antitoxina específica. *C. perfringens* raramente produz esporos quando cultivado em ágar em laboratório.

Tratamento

O aspecto mais importante do tratamento consiste em desbridamento cirúrgico imediato e extenso da área acometida, bem como excisão de todo o tecido desvitalizado, em que os microrganismos tendem a crescer. Ao mesmo tempo, inicia-se a 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. Uma antitoxina polivalente (que contém anticorpos dirigidos contra várias toxinas) tem sido utilizada. Embora essa antitoxina seja, algumas vezes, administrada a indivíduos com feridas contaminadas contendo grande quantidade de tecido morto, não há evidências de sua eficácia. A intoxicação alimentar causada pela enterotoxina do *C. perfringens* geralmente só exige tratamento sintomático.

Prevenção e controle

A limpeza precoce e adequada das feridas contaminadas, assim como o desbridamento cirúrgico, juntamente com a administração de antimicrobianos contra clostrídeos (p. ex., penicilina), constituem as melhores medidas preventivas disponíveis. Não se deve confiar nas antitoxinas. Embora tenham sido preparados toxoides para imunização ativa, estes ainda não têm aplicação clínica.

CLOSTRIDIUM DIFFICILE E DOENÇA DIARREICA

Colite pseudomembranosa

A colite pseudomembranosa pode ser diagnosticada pela detecção de uma ou ambas as toxinas do *C. difficile* nas fezes, e pela observação endoscópica de pseudomembranas ou microabscessos em pacientes com diarreia que receberam antibióticos. Pode-se verificar a presença de placas e microabscessos localizados em uma área do intestino. A diarreia pode ser aquosa ou sanguinolenta, e com frequência o paciente apresenta cólicas abdominais associadas, leucocitose e febre. Embora muitos antibióticos tenham sido associados a colite pseudomembranosa, os mais comuns consistem em ampicilina e clindamicina e, mais recentemente, as fluoroquinolonas. A doença é tratada com suspensão do uso do antibiótico agressor e administração oral de metronidazol ou vancomicina.

A administração de antibióticos resulta em proliferação do *C. difficile* resistente aos fármacos, que produz duas toxinas. A toxina A, potente enterotoxina que também exerce certa atividade citotóxica, liga-se às membranas com borda em escova do intestino, nos locais receptores. A toxina B é uma poderosa citotoxina. Ambas as toxinas são encontradas nas fezes dos pacientes com colite pseudomembranosa. Embora, infecções tenham sido reportadas com amostras toxina A negativa e toxina B positiva. Nem todas as cepas do *C. difficile* produzem as toxinas. Os genes *tox* são encontrados em uma ilha de patogenicidade cromossômica, juntamente com três outros genes que regulam a expressão das toxinas.

Diarreia associada a antibióticos

A administração de antibióticos resulta frequentemente em uma forma leve a moderada de diarreia, denominada diarreia associada a antibióticos. Em geral, essa doença é menos grave que a forma clássica de colite pseudomembranosa. Até 25% dos casos de diarreia associada a antibióticos são causados por infecções por *C. difficile*. Em adição, outras espécies de *Clostridium*, como *C. perfringens* e *C. sordelli*, também têm sido implicadas nessa patologia, mas não em colite pseudomembranosa.

Verificação de conceitos

- As espécies de *Clostridium* são bastonetes grandes, gram-positivos anaeróbios formadores de esporos, anaeróbios, que são encontrados no ambiente e no trato gastrintestinal humano e de diferentes animais.
- As espécies de *Clostridium* são caracterizadas pela habilidade de fermentar carboidratos e degradar proteínas.
- A produção de toxinas pelas espécies de *Clostridium* é responsável pela variedade de doenças, incluindo botulismo, tétano e gangrena gasosa.
- *C. botulinum* produz a toxina botulínica, uma das mais potentes neurotoxinas conhecidas no planeta, responsável pelo botulismo, uma doença caracterizada pela paralisia flácida.
- *C. tetani* produz uma neurotoxina, a tenanospasmina, que bloqueia a liberação de neurotransmissores inibitórios, resultando no tétano, uma doença caracterizada por paralisia espástica.
- Outras espécies de *Clostridium* causam infecções cutâneas invasivas (gangrena), sepse, diarreia associada a antibióticos e intoxicação alimentar, dependendo das circunstâncias epidemiológicas e dos tipos de enzimas e toxinas envolvidas.

QUESTÕES DE REVISÃO

1. Uma dona de casa que vive em uma pequena fazenda é encaminhada a um serviço de emergência, queixando-se de visão dupla e dificuldade de falar. Nas últimas 2 h, sentiu a boca seca e fraqueza generalizada. Na noite anterior, servira vagens (feijão verde) em conserva feitas em casa. Experimentou as vagens antes de fervê-las. Nenhum outro membro da família ficou doente. Ao exame médico, foi observada paralisia descendente simétrica dos nervos cranianos, dos membros superiores e do tronco. O diagnóstico correto entre as seguintes alternativas é:
 - (A) Tétano
 - (B) Envenenamento por estricnina
 - (C) Botulismo
 - (D) *Overdose* de morfina
 - (E) Intoxicação por ricina
2. Qual das seguintes alternativas é um importante fator de virulência do *Bacillus anthracis*?
 - (A) Antígeno protetor
 - (B) Lipopolissacarídeo
 - (C) *Pili*
 - (D) Uma toxina que inibe a cadeia peptídica do fator de elongação EF-2
 - (E) Lecitinase
3. Um homem jovem sofre uma grande lesão cutânea e fratura exposta na perna direita, em um acidente de motocicleta. No dia seguinte, sua temperatura é de 38°C, e verificam-se aumento dos batimentos cardíacos, suores e inquietação. Ao exame médico, observou-se que a perna mostra-se inchada e tensa, com uma secreção fina e escura drenando das feridas. A pele da perna mostra-se fria, pálida, branca e brilhante. Pode-se sentir crepitação na perna. O hepatócrito é de 20% (~ 50% do normal), enquanto a hemoglobina circulante se apresenta normal. O soro encontra-se livre de hemoglobina. Qual dos seguintes microrganismos é o mais provável de estar causando tal infecção?
 - (A) *Clostridium tetani*
 - (B) *Staphylococcus aureus*
 - (C) *Escherichia coli*
 - (D) *Bacillus anthracis*
 - (E) *Clostridium perfringens*

4. Para o paciente descrito na questão anterior, qual dos seguintes é responsável pela hemólise?
- (A) Fator de edema (EF)
 (B) Tetanospasmina
 (C) Lecitinase
 (D) Estreptolisina O
 (E) Toxina B
5. O período de incubação relatado para a inalação do antraz pode ser de até:
- (A) 2 dias
 (B) 10 dias
 (C) 3 semanas
 (D) 6 semanas
 (E) 6 meses
6. Um alimento comumente associado a intoxicação alimentar pelo *Bacillus cereus* é:
- (A) Arroz frito
 (B) Batata cozida
 (C) Arroz fresco cozido ao vapor
 (D) Feijão verde (vagem)
 (E) Mel
7. A toxina do tétano (tetanospasmina) difunde-se para os terminais das células inibitórias no cordão espinal e na medula cerebral, bem como bloqueia:
- (A) A liberação de acetilcolina
 (B) A clivagem das proteínas SNARE
 (C) A liberação da glicina e do ácido γ -aminobutírico inibitórios
 (D) A liberação do antígeno protetor (PA)
 (E) A ativação da acetilcolina esterase
8. Um homem de 45 anos que imigrou para os EUA há 5 anos queixa-se de lesão causada por picada na parte inferior da perna direita, quando uma máquina cortadora de grama arremessou uma pequena vara em sua direção. Seis dias depois, queixou-se de espasmos nos músculos da perna direita, e no sétimo dia os espasmos aumentaram. Hoje — no 8º dia — apresenta espasmos musculares generalizados, particularmente nos músculos da mandíbula. Mostra-se incapaz de abrir a boca, tendo sido encaminhado a um serviço de emergência. No quarto da emergência, você vê um homem em estado de alerta, quieto em um leito. A porta da entrada se abre e repentinamente o homem tem um espasmo muscular que o faz arquear o corpo para trás. Qual entre as alternativas a seguir corresponde ao diagnóstico correto do quadro descrito?
- (A) Botulismo
 (B) Antraz
 (C) Gangrena gasosa
 (D) Tétano
 (E) Síndrome do choque tóxico
9. Qual das seguintes afirmativas sobre o tétano e o toxoide tetânico está correta?
- (A) A toxina tetânica mata os neurônios
 (B) A imunização com o toxoide tetânico tem uma taxa de 10% de falhas
 (C) A taxa de mortalidade generalizada do tétano é menos de 1%
 (D) Visão dupla geralmente é o primeiro sinal de tétano
 (E) A toxina tetânica atua inibindo as sinapses interneuronais
10. Um homem de 67 anos de idade sofreu uma cirurgia pela ruptura em um divertículo no colo sigmoide com um abscesso. O reparo foi feito e o abscesso, drenado. O paciente foi tratado com gentamicina e ampicilina intravenosas. Dez dias depois e 4 dias após sua alta do hospital, o paciente apresentou mal-estar, febre, dores e cólicas abdominais. Teve vários episódios de diarreia. As fezes foram positivas para o teste de sangue oculto e a presença de células polimorfonucleares. A sigmoidoscopia revelou mucosa eritematosa e aparentando estar inflamada, onde foram vistas muitas pequenas placas branco-amareladas de 4 a 8 mm de diâmetro. Qual das seguintes alternativas é a causa mais provável desse quadro no paciente?
- (A) Enterotoxina do *Staphylococcus aureus*
 (B) Toxina do *Bacillus cereus*
 (C) Toxinas do *Clostridium difficile*
 (D) Toxina do *Clostridium perfringens*
 (E) *Escherichia coli* entero-hemorrágica
11. O botulismo infantil tem sido associado a todas as seguintes espécies *Clostridium*, exceto:
- (A) *Clostridium baratii*
 (B) *Clostridium septicum*
 (C) *Clostridium butyricum*
 (D) *Clostridium botulinum*
12. Qual dos seguintes itens alimentares está mais frequentemente associado ao botulismo infantil?
- (A) Xarope de milho
 (B) Leite em pó infantil enlatado
 (C) Polivitamínicos líquidos
 (D) Mel
 (E) Papinha infantil industrializada
13. Todas as seguintes propriedades são características de *Bacillus anthracis*, EXCETO:
- (A) Motilidade ao exame de placa úmida
 (B) Colônias em cabeça de medusa
 (C) Cápsula de ácido poli-D-glutâmico
 (D) Suscetibilidade *in vitro* à penicilina
 (E) Ausência de hemólise em ágar-sangue a 5%
14. Qual das seguintes afirmativas a respeito da vacinação contra *Bacillus anthracis* está correta?
- (A) Está disponível para todos os cidadãos nos EUA
 (B) Os testes de uma vacina recombinante têm mostrado boa segurança e eficácia
 (C) A vacina atualmente em uso é bem tolerada
 (D) Uma única dose é suficiente, após exposição a esporos
 (E) A vacinação de animais não tem utilidade
15. Todas as seguintes afirmativas sobre *Clostridium perfringens* estão corretas, EXCETO:
- (A) A bactéria produz uma enterotoxina
 (B) Produz uma zona de dupla β -hemólise quando cultivada em ágar-sangue
 (C) Algumas cepas são aerotolerantes
 (D) É a causa mais comum de diarreia associada a resistência a antibiótico
 (E) Pode causar hemólise intravascular

Respostas

- | | | | |
|------|------|-------|-------|
| 1. C | 5. D | 9. E | 13. A |
| 2. A | 6. A | 10. C | 14. B |
| 3. E | 7. C | 11. B | 15. D |
| 4. C | 8. D | 12. D | |

REFERÊNCIAS

- Chitlaru T, Altboum Z, Reuveny S, Shafferman A: Progress and novel strategies in vaccine development and treatment of anthrax. *Immunol Rev* 2011;221-236.
- Fekete F: *Bacillus* species and related genera other than *Bacillus anthracis*. In Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (editors). *Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*, 7th ed. Churchill Livingstone, 2010.
- Kalka-Moll WM, Aurbach U, Schaumann R et al.: Wound botulism in injection drug users. *Emerg Infect Dis* 2007;13:942-943.
- Logan NA, Hoffmaster AR, Shadomy SV, Stauffer KE: In Versalovic J, Carroll KC, Funke G et al. (editors). *Bacillus* and other aerobic endospore-forming bacteria. *Manual of Clinical Microbiology*, 10th ed. ASM Press, 2011.
- Martin GJ, Friedlander AM: *Bacillus anthracis* (anthrax). In Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (editors). *Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*, 7th ed. Churchill Livingstone, 2010.
- Onderdonk AB, Garrett WS: Gas gangrene and other *Clostridium*-associated diseases. In Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (editors). *Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*, 7th ed. Churchill Livingstone, 2010.
- Reddy P, Bleck TP: *Clostridium botulinum* (Botulism). In Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (editors). *Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*, 7th ed. Churchill Livingstone, 2010.
- Reddy P, Bleck TP: *Clostridium tetani* (Tetanus). In Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (editors). *Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*, 7th ed. Churchill Livingstone, 2010.
- Shapiro RL, Hatheway C, Swerdlow DL et al.: Botulism in the United States: A clinical and epidemiologic review. *Ann Intern Med* 1998;129:221.
- Stevens DL, Bryant AE, Berger A, von Eichel-Streiber C: *Clostridium*. In Versalovic J, Carroll KC, Funke G et al. (editors). *Manual of Clinical Microbiology*, 10th ed. ASM Press, 2011.
- Thielman NM, Wilson KH: Antibiotic-associated colitis. In Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (editors). *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*, 7th ed. Churchill Livingstone, 2010.
- World Health Organization: *World Anthrax Data Site*. Available at http://www.vetmed.lsu.edu/whocc/mp_world.htm.

Bacilos gram-positivos aeróbios não formadores de esporos: *Corynebacterium*, *Listeria*, *Erysipelothrix*, *Actinomyces* e patógenos relacionados

Os bacilos gram-positivos que não formam esporos constituem um grupo diverso de bactérias aeróbias e anaeróbias. Este capítulo tem como foco os membros aeróbios desse grupo. Os bacilos gram-positivos anaeróbios, não formadores de esporos, tais como as espécies *Propionibacterium* e *Actinomyces*, serão discutidos no Capítulo 21 sobre infecções anaeróbias. Os gêneros específicos dos dois grupos, espécies *Corynebacterium* e espécies *Propionibacterium*, são membros da microbiota normal da pele e das mucosas dos seres humanos e, assim, são frequentemente contaminantes de amostras clínicas submetidas a avaliação de diagnóstico. Entretanto, entre os actinomicetos aeróbios estão patógenos significativos, como *Corynebacterium diphtheriae*, o membro mais importante do grupo e um microrganismo que tem a propriedade de produzir uma poderosa exotoxina que provoca difteria em seres humanos, e o *Mycobacterium tuberculosis*, agente causador da tuberculose. *Listeria monocytogenes* e *Erysipelothrix rhusiopathiae* são encontrados principalmente em animais e às vezes causam doenças graves em seres humanos. Espécies *Nocardia*, *Gordonia* e *Tsukamurella* são patógenos emergentes em pacientes imunocomprometidos.

As espécies *Corynebacterium* e bactérias correlatas tendem a exibir uma forma claviforme ou irregular; embora nem todos os microrganismos isolados tenham formas irregulares, as denominações bactérias corineformes ou “difteroides” são convenientes para o grupo. Essas bactérias apresentam alto conteúdo de guanosina e citosina (GC) e incluem os gêneros *Corynebacterium*, *Arcanobacterium*, *Brevibacterium*, *Mycobacterium* e outros (Quadro 12.1). Os actinomicetos e as propionibactérias são classificados como anaeróbios; entretanto, alguns desses microrganismos isolados crescem bem em condições aeróbias (aerotolerantes), devendo ser diferenciados das bactérias corineformes aeróbias. Outros bacilos gram-positivos não formadores de esporos exibem formas mais regulares e com menor conteúdo de guanosina e citosina. Os gêneros incluem *Listeria* e *Erysipelothrix*, bactérias mais estreitamente relacionadas com as espécies anaeróbias *Lactobacillus*, que às vezes crescem bem na presença de ar, espécies *Bacillus* e *Clostridium* formadoras de esporos — e cocos gram-positivos das espécies *Staphylococcus* e *Streptococcus* — do que com as bactérias corineformes. Os gêneros clinicamente importantes de bacilos gram-positivos estão relacionados no Quadro 12.1 e incluem alguns gêneros

anaeróbios e formadores de esporos. As bactérias anaeróbias são discutidas no Capítulo 21.

Não existe um método de consenso para a identificação dos bacilos gram-positivos. São poucos os laboratórios equipados para determinar o conteúdo de guanosina e citosina. O crescimento que só ocorre em condições anaeróbias implica que o microrganismo isolado é um anaeróbio; entretanto, muitos microrganismos isolados das espécies *Lactobacillus*, *Actinomyces* e *Propionibacterium* e outros são aerotolerantes. A maioria dos microrganismos isolados das espécies de *Mycobacterium* de crescimento rápido bem como das espécies de *Nocardia*, *Rhodococcus*, *Gordonia* e *Tsukamurella* são acidorresistentes, de modo que são facilmente distinguidos das bactérias corineformes quando presentes. Muitas espécies dos gêneros *Bacillus* e *Clostridium* produzem esporos, cuja presença distingue rapidamente o microrganismo isolado das bactérias corineformes; entretanto, o *Clostridium perfringens* e outros clostrídeos filamentosos geralmente não produzem esporos em meios laboratoriais. A identificação do *Lactobacillus* (ou *Propionibacterium*) pode exigir o uso de cromatografia de líquido-gás para medição dos produtos metabólicos do ácido láctico (ou do ácido propiônico); todavia, esse procedimento em geral não é prático. Outros testes utilizados para ajudar a identificar um bacilo gram-positivo não formador de esporos como membro de um gênero ou de uma espécie consistem na produção de catalase, de indol, redução do nitrato e fermentação de carboidratos, entre outros. Muitos laboratórios clínicos desenvolveram tecnologias de sequenciamento do gene do RNA ribossômico 16S ou outros alvos para a identificação de muitos desses microrganismos, mas especialmente para espécies *Mycobacterium* e *Nocardia* isoladas a partir de amostras clínicas. Uma tecnologia relativamente nova que foi introduzida em laboratórios de microbiologia, consiste no uso da espectrometria de massa pela técnica de ionização por dessorção a laser, assistida por matriz seguida de análise por tempo de voo em sequência (MALDI-TOF-MS), que permite avaliar as proteínas ribossômicas, cujos padrões espectrais são únicos e suficientes para identificar organismos ao nível da espécie. Essa tecnologia identifica bem bactérias anaeróbias e outros organismos. Contudo, menos dados estão disponíveis sobre as espécies mais complexas de Actinomicetos, como as espécies de *Mycobacterium*. Essa tecnologia é discutida em mais detalhes no Capítulo 47.

QUADRO 12.1 Alguns dos bacilos gram-positivos mais comuns de importância clínica

Bacilos gram-positivos aeróbios com alto conteúdo G + C e formato irregular ^a	Bacilos gram-positivos aeróbios com baixo conteúdo G + C e formato mais regular
Gênero	Gênero
Comum	Comum
<i>Corynebacterium</i>	<i>Listeria</i>
Incomum	<i>Erysipelothrix</i>
<i>Arcanobacterium</i>	<i>Gardnerella</i>
<i>Rothia</i>	Anaeróbios aerotolerantes/ anaeróbios estritos
Álcool-ácido positivo	<i>Lactobacillus</i>
<i>Rhodococcus</i>	<i>Clostridium</i> (formador de esporo) (Cap. 11)
<i>Nocardia</i>	Aeróbios
<i>Tsukamurella</i>	<i>Bacillus</i> (formador de esporo) (Cap. 11)
<i>Gordonia</i>	
Outros gêneros da pele e da microbiota ambiental	
Anaeróbios aerotolerantes	
<i>Actinomyces</i> (Cap. 21)	
<i>Propionibacterium</i> (Cap. 21)	
Patógeno principal:	Patógenos principais:
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>
Isolados comuns ou cl clinicamente importantes do gênero <i>Corynebacterium</i>	<i>Erysipelothrix</i>
<i>Corynebacterium amycolatum</i>	<i>rhusiopathiae</i>
<i>Corynebacterium minutissimum</i>	
<i>Corynebacterium jeikeium</i>	
<i>Corynebacterium pseudodiphtheriticum</i>	
<i>Corynebacterium striatum</i>	
<i>Corynebacterium urealyticum</i>	
<i>Corynebacterium xerosis</i>	
Isolados comuns ou cl clinicamente importantes do gênero <i>Nocardia</i>	
<i>Nocardia abscessus</i>	
<i>Nocardia brasiliensis</i>	
<i>Nocardia cyriacigeorgica</i>	
<i>Nocardia farcinica</i>	
<i>Nocardia nova</i>	
<i>Nocardia otitidiscaviarum</i>	
<i>Nocardia paucivorans</i>	
<i>Nocardia pseudobrasiliensis</i>	
<i>Nocardia trasvalensis</i>	
<i>Nocardia veterana</i>	

G + C = bases guanina mais citosina.

^a Bactérias corineformes clinicamente importantes.**CORYNEBACTERIUM DIPHTHERIAE****Morfologia e identificação**

As corinebactérias têm 0,5 a 1 µm de diâmetro e alguns micrômetros de comprimento. Suas características exibem tumefações irregulares em uma das extremidades, que lhes conferem o aspecto de “clava” (Fig. 12.1). No interior do bastonete (frequentemente próximo aos polos), observam-se grânulos de distribuição irregular, que se coram intensamente com corantes de anilina (grânulos metacromáticos), conferindo ao bastonete um aspecto em contas de colar. As corinebactérias em



FIGURA 12.1 *Corynebacterium diphtheriae* a partir do meio de cultura Pai, corado com azul de metileno. A bactéria apresenta normalmente um tamanho de 0,5 a 1 × 3 a 4 µm. Algumas bactérias apresentam extremidades em forma de bastão (aumento original de 1.000 vezes).

esfregaços corados tendem a situar-se paralelamente ou em ângulos agudos umas com relação às outras. Raramente se observam ramificações verdadeiras em culturas.

Em meio de ágar-sangue, as colônias de *C. diphtheriae* são pequenas, granuladas e acinzentadas, com bordas irregulares, podendo exibir pequenas zonas de hemólise. Em ágar contendo telurito de potássio, as colônias adquirem coloração acastanhada a preta, com halo castanho-escuro, uma vez que o telurito é reduzido no interior das células (os estafilococos e estreptococos também podem produzir colônias pretas). Foram reconhecidos quatro biotipos do *C. diphtheriae*: *gravis*, *mitis*, *intermedius* e *belfanti*. Essas variantes foram classificadas com base nas características de crescimento, tais como a morfologia das colônias, reações bioquímicas e gravidade da doença produzida pela infecção. Poucos laboratórios de referência estão equipados com métodos moleculares que fornecem uma caracterização confiável dos biotipos. A incidência de difteria diminuiu acentuadamente, e a associação da gravidade da doença com o biotipo não é importante em termos clínicos nem de saúde pública para o tratamento dos casos ou surtos*. Quando necessário, em casos de epidemias podem-se utilizar métodos imunológicos e moleculares para se determinar o tipo de *C. diphtheriae*.

O *C. diphtheriae* e outras corinebactérias crescem em condições aeróbias na maioria dos meios laboratoriais comuns. Em meio de soro de Loeffler, as corinebactérias crescem muito

* N. de T. Contudo, após três décadas de controle da doença, a difteria resurgiu de maneira epidêmica no final da década de 1990 em diversos países do Continente Europeu: Rússia e Ucrânia (157.000 casos), Bielorrússia (230 casos), Estônia (7 casos), Lituânia (31 casos), Moldávia (372 casos) e Polônia (250 casos). Além disso, segundo a Organização Mundial de Saúde, ainda hoje há um número elevado de casos epidêmicos e endêmicos em diferentes países da Ásia, Europa oriental e América Latina.

mais rapidamente do que os outros patógenos das vias respiratórias, e sua morfologia é típica nos esfregaços feitos a partir dessas colônias.

As corinebactérias tendem a exibir pleomorfismo na morfologia microscópica e das colônias. Quando alguns microrganismos não toxigênicos produtores de difteria são infectados por bacteriófagos de determinados bacilos diftéricos toxigênicos, a progênie das bactérias expostas é lisogênica e toxigênica, sendo esse caráter subsequentemente hereditário. Quando bacilos diftéricos toxigênicos são cultivados de modo seriado em antissoro específico contra o fago temperado que transportam, tendem a tornar-se não toxigênicos. Por conseguinte, a aquisição do fago resulta em toxigenicidade (conversão lisogênica). A verdadeira produção de toxina só ocorre talvez quando o pró-fago do *C. diphtheriae* lisogênico é induzido e causa a lise da célula. Enquanto a toxigenicidade está sob controle do gene do fago, a capacidade de invasão é controlada por genes bacterianos.

Patogênese

O principal patógeno humano do gênero *Corynebacterium* é o *C. diphtheriae*, agente causador da difteria cutânea ou respiratória que, na natureza, ocorre nas vias respiratórias, em feridas ou na pele de indivíduos infectados ou portadores normais, propagando-se por perdigotos ou contato com indivíduos suscetíveis; os bacilos crescem nas mucosas ou em abrasões cutâneas, e os microrganismos toxigênicos começam a produzir toxina.

Todos os *C. diphtheriae* toxigênicos são capazes de elaborar a mesma exotoxina produtora de doença. A produção dessa toxina *in vitro* depende, em grande parte, da concentração de ferro, sendo ótima na presença de uma concentração de 0,14 µg de ferro por mililitro de meio, porém ela é praticamente suprimida em uma concentração de 0,5 µg/mL. Outros fatores que influenciam a produção da toxina *in vitro* são pressão osmótica, concentração de aminoácidos, pH e disponibilidade de fontes adequadas de carbono e nitrogênio. Os fatores que controlam a produção de toxina *in vivo* ainda não foram bem esclarecidos.

A **toxina diftérica** é um polipeptídeo termolábil (MM de 62.000) que pode ser letal em uma dose de 0,1 µg/kg. Se as pontes de dissulfeto forem rompidas, a molécula poderá ser clivada em dois fragmentos. O fragmento B (MM de 38.000) não tem atividade independente, mas é necessário para o transporte do fragmento A, funcionalmente dividido em um domínio receptor e um domínio de translocação. A ligação do domínio receptor às proteínas de membrana da célula hospedeira CD-9 e ao precursor fator de crescimento epidermal de ligação à heparina (HB-EGF) desencadeia a entrada da toxina na célula por endocitose mediada por receptores. A acidificação do domínio de translocação dentro de um endossomo em desenvolvimento leva à criação de um canal proteico que facilita o deslocamento do fragmento A para o citoplasma da célula hospedeira. O fragmento A inibe o alongamento da cadeia polipeptídica — contanto que haja dinucleotídeo de nicotinamida-adenina (NAD) — ao inativar o fator de alongamento EF-2 (*elongation factor*), necessário à translocação do polipeptidil-RNA de transferência do aceptor para o local doador no ribossomo eucariótico. O fragmento A da toxina inativa o EF-2 ao catalisar uma reação que produz nicotinamida livre mais um complexo inativo de adenosina difosfato-ribose-EF-2 (ADP-ribosilação). Acredita-

se que a parada abrupta na síntese da proteína seja responsável pelos efeitos necrosantes e neurotóxicos da toxina diftérica. Uma exotoxina com modo de ação semelhante pode ser produzida por cepas da *Pseudomonas aeruginosa*.

Patologia

A toxina diftérica é absorvida pelas mucosas e provoca a destruição do epitélio, bem como resposta inflamatória superficial. O epitélio necrótico fica imerso em fibrina exsudativa, eritrócitos e leucócitos, com a conseqüente formação de uma “pseudomembrana” acinzentada, que surge comumente nas tonsilas, na faringe ou na laringe. Qualquer tentativa de remover a pseudomembrana expõe os capilares e os rompe, resultando em sangramento. Os linfonodos regionais no pescoço aumentam de tamanho, podendo ocorrer edema pronunciado de todo o pescoço, com alterações nas vias respiratórias frequentemente referidas como pescoço de touro. Os bacilos diftéricos no interior da membrana continuam a produzir ativamente a toxina. Esta é absorvida, o que resulta em lesão tóxica a distância, em particular degeneração parenquimatosa, infiltração gordurosa e necrose do músculo cardíaco (miocardite), do fígado, dos rins (necrose tubular) e das suprarrenais, às vezes acompanhadas de hemorragia visível. A toxina também provoca lesão nervosa (desmielinização, resultando em paralisia do palato mole, dos músculos oculares ou dos membros).

A difteria de feridas ou cutânea ocorre principalmente nos trópicos, embora casos tenham sido descritos em regiões de clima temperado em indivíduos alcoolistas, moradores de rua e de baixa condição socioeconômica. Pode-se verificar sobre a ferida infectada a formação de uma membrana que não cicatriza. Entretanto, a absorção da toxina costuma ser pequena, com efeitos sistêmicos desprezíveis. A reduzida quantidade de toxina absorvida durante a infecção cutânea promove o desenvolvimento de anticorpos antitoxina. A “virulência” dos bacilos diftéricos deve-se à sua capacidade de estabelecer infecção, crescer rapidamente e elaborar também rapidamente uma toxina que é absorvida de modo efetivo. O *C. diphtheriae* não precisa ser toxigênico para induzir infecção localizada — por exemplo, na nasofaringe ou na pele —, mas as cepas não toxigênicas não exercem os efeitos tóxicos localizados ou sistêmicos. O *C. diphtheriae* não invade ativamente os tecidos profundos e praticamente nunca penetra na corrente sanguínea, embora tenham sido descritos raros casos de endocardite.

Manifestações clínicas

Quando a inflamação diftérica começa nas vias respiratórias, em geral verifica-se o desenvolvimento de faringite e febre baixa. Em pouco tempo, surgem prostração e dispnéia, em virtude da obstrução causada pela membrana, que pode até causar asfixia se não for imediatamente aliviada por intubação ou traqueostomia. As irregularidades do ritmo cardíaco indicam lesão cardíaca. Posteriormente, podem surgir dificuldades de visão, de fala, de deglutição ou do movimento dos braços ou das pernas. Todas essas manifestações tendem a desaparecer espontaneamente.

Em geral, a variedade *gravis* tende a causar doença mais grave que a variedade *mitis*, porém todos os tipos podem provocar doença semelhante.

Exames diagnósticos laboratoriais

Servem para confirmar a impressão clínica e, além disso, têm importância epidemiológica. **Observação:** o tratamento específico nunca deve ser adiado à espera dos resultados laboratoriais se o quadro clínico for fortemente sugestivo de difteria. Os médicos devem notificar o laboratório clínico antes da coleta ou do envio de amostras para cultivo.

Antes da administração de antimicrobianos, devem ser obtidos *swabs* de dácron do nariz, da garganta ou de outras lesões sob suspeita. Os *swabs* devem ser coletados abaixo de qualquer membrana visível. O *swab* deve ser colocado em meio de transporte semissólido, como o meio de Amies. Os esfregaços corados com azul de metileno alcalino ou pelo método de Gram revelam bastonetes em disposição típica em contatos de colar.

As amostras devem ser inoculadas em uma placa de ágar-sangue (para se excluir a possibilidade de estreptococos hemolíticos), além de um meio seletivo como o ágar-sangue cistina-telurito (CTBA), ou o meio Tinsdale modificado, que são incubados a 37°C em 5% de CO₂. As placas devem ser examinadas em 18 a 24 horas. Em 36 a 48 horas, as colônias em meio de telurito são suficientemente definidas para a identificação do *C. diphtheriae*, produzindo colônias negras (pela redução do telurito a telúrio livre) com halo marrom.

Um provável isolado do *C. diphtheriae* deve ser submetido a um teste para avaliação de sua toxigenicidade. Esses testes são realizados somente por laboratórios públicos de referência. Existem diversos métodos, como os seguintes:

1. Um disco de filtro de papel contendo antitoxina (10 UI/disco) é colocado em uma placa de ágar. As culturas a serem testadas (pelo menos 10 colônias devem ser usadas) quanto à toxigenicidade são semeadas em ponto (*spot*) a 7 a 9 mm de distância do disco. Depois de um período de incubação de 48 horas, a antitoxina se difunde do disco de papel, precipitando a toxina que se difunde das culturas toxigênicas, resultando em bandas de precipitado entre o disco de papel e o crescimento bacteriano. Este é o método de Elek modificado, descrito pela Unidade de Referência em Difteria da OMS.
2. Métodos baseados na reação em cadeia da polimerase (PCR) foram descritos para a detecção do gene da toxina diftérica (gene *tox*). Os ensaios de PCR para detecção de *tox* também podem ser usados diretamente em amostras de pacientes antes de o resultado da cultura estar disponível. Uma cultura positiva confirma o teste positivo por PCR. Cultura negativa, seguida de antibioticoterapia, com um resultado de PCR positivo sugere que o paciente provavelmente teve difteria.
3. Ensaios imunoabsorventes ligados a enzima (Elisa) podem ser usados para detectar a toxina diftérica a partir de isolados clínicos do *C. diphtheriae*.
4. Um ensaio imunocromatográfico em fita possibilita a detecção da toxina diftérica em algumas horas. Este ensaio é altamente sensível.

Os dois últimos ensaios não estão amplamente disponíveis.

Resistência e imunidade

Como a difteria resulta principalmente da ação da toxina formada pelo microrganismo, mais do que da invasão, a resistência

à doença depende, em grande parte, da existência de antitoxina neutralizante específica na corrente sanguínea e nos tecidos. Em geral, é verdadeira a afirmação de que a difteria só ocorre em indivíduos que não possuem antitoxina (ou cujos níveis sejam < 0,01 unidade Lf/mL). A melhor maneira de se avaliar a imunidade dos pacientes à toxina diftérica consiste em rever as imunizações documentadas com toxoide diftérico e proceder a uma imunização primária ou de reforço, se necessário.

Tratamento

O tratamento da difteria baseia-se, em grande parte, na rápida supressão das bactérias produtoras de toxina com antimicrobianos e administração precoce de antitoxina específica contra a toxina formada pelos microrganismos no local de penetração e multiplicação. A antitoxina diftérica é produzida em vários animais (cavalos, carneiros, cobras e coelhos) mediante injeções repetidas de toxoide purificado e concentrado. O tratamento com antitoxina é obrigatório se houver forte suspeita clínica de difteria. Devem ser injetadas 20.000 a 120.000 unidades por via intramuscular ou intravenosa, dependendo da duração dos sintomas e da severidade da doença e após serem tomadas as devidas precauções (testes cutâneos), para se excluir a possibilidade de hipersensibilidade ao soro animal. A antitoxina deve ser administrada por via intravenosa, no mesmo dia em que se estabelece o diagnóstico clínico de difteria, não havendo necessidade de repetir a administração. Pode-se utilizar a injeção intramuscular nos casos leves.

Os antimicrobianos (penicilina, eritromicina) inibem o crescimento dos bacilos diftéricos. Embora praticamente não exerçam efeito algum sobre o processo mórbido, esses fármacos interrompem a produção de toxina. Além disso, ajudam a eliminar os estreptococos coexistentes e o *C. diphtheriae* das vias respiratórias dos pacientes ou portadores.

Epidemiologia, prevenção e controle

Antes da imunização artificial, a difteria era uma doença que acometia principalmente crianças pequenas. A infecção ocorria nas formas clínica ou subclínica, nos primeiros anos de vida, e resultava em produção disseminada de antitoxina na população. A infecção assintomática durante a adolescência e a vida adulta servia como estímulo à manutenção de níveis elevados de antitoxina. Por conseguinte, a maioria dos membros da população, à exceção das crianças, era imune.

Nos países em desenvolvimento, onde as infecções cutâneas por *C. diphtheriae* são comuns, cerca de 75% das crianças com idade entre 6 e 8 anos apresentam níveis séricos protetores de antitoxina. A absorção de pequenas quantidades da toxina diftérica a partir da infecção cutânea fornece, presumivelmente, o estímulo antigênico para desencadear a resposta imunológica; a quantidade de toxina absorvida não provoca doença.

A imunização ativa na infância com o toxoide diftérico resulta em níveis de antitoxina geralmente adequados até a vida adulta. Os adultos jovens devem receber reforços do toxoide, visto que os bacilos diftéricos toxigênicos não são suficientemente prevalentes na população de muitos países desenvolvidos para proporcionar o estímulo da infecção subclínica, com estimulação da resistência. Os níveis de antitoxina declinam com o decorrer do tempo, e muitos indivíduos idosos apresentam concentrações de antitoxina circulante insuficientes para protegê-los da difteria.

Os principais objetivos da prevenção consistem em limitar a distribuição dos bacilos diftéricos toxigênicos na população e manter o nível mais alto possível de imunização ativa.

Para limitar o contato com bacilos diftéricos, tornando-o mínimo, é necessário isolar os pacientes que têm difteria. Sem tratamento, grande porcentagem de indivíduos infectados continua eliminando bacilos diftéricos durante semanas ou meses após a recuperação (portadores convalescentes), e esse risco pode ser bastante reduzido mediante tratamento precoce e ativo com antibióticos.

Um filtrado de cultura em caldo de uma cepa toxigênica é tratado com formol a 0,3% e incubado a 37°C até o desaparecimento da toxicidade. Esse **toxóide líquido** deve ser purificado e padronizado em unidades de floculação (doses Lf). Os toxóides líquidos, preparados conforme descrito anteriormente, são adsorvidos em hidróxido de alumínio ou fosfato de alumínio. Esse material permanece por mais tempo em depósito após a injeção, atuando melhor como antígeno. Em geral, tais toxóides são combinados com o toxóide tetânico (Td) e, às vezes, com a vacina contra a coqueluche (DPT ou DaPT) em forma de injeção única a ser administrada na imunização inicial de crianças. Para a injeção de reforço em adultos, são utilizados apenas toxóides Td ou toxóide Td combinado com a vacina contra *Pertussis* acelular (Tdap) (para uma injeção em dose única a indivíduos que receberam a vacina contra *Pertussis* celular quando crianças), que combinam uma dose total de toxóide tetânico com uma dose 10 vezes menor de toxóide diftérico, para diminuir a probabilidade de reações adversas.

Todas as crianças devem receber tratamento inicial de imunização e reforços. Os reforços regulares com o Td são particularmente importantes para adultos que viajam para países em desenvolvimento, onde a incidência de difteria clínica pode ser 1.000 vezes maior do que nos países desenvolvidos, nos quais a imunização é universal*.

OUTRAS BACTÉRIAS CORINEFORMES

Muitas outras espécies de *Corynebacterium* têm sido associadas a doenças em seres humanos. As bactérias corineformes são classificadas como lipofílicas ou não lipofílicas, dependendo da ocorrência de um aumento de seu crescimento com o acréscimo de lipídeo ao meio de crescimento. As colônias de corinebactérias lipofílicas crescem lentamente em ágar-sangue de carneiro, produzindo colônias com menos de 0,5 mm de diâmetro após 24 horas de incubação. Outras reações importantes para a classificação das bactérias corineformes incluem os seguintes testes: metabolismo fermentativo ou oxidativo, produção de catalase, motilidade, redução do nitrato, produção de urease e hidrólise da esculina. As espécies de *Corynebacterium* são geralmente imóveis e catalase-positivas. As bactérias corineformes são habitantes normais das mucosas da pele, das vias respiratórias, do trato urinário e da conjuntiva.

* N. de T. Cabe ressaltar que, a vacinação com o toxóide diftérico protege apenas contra toxigenicidade, mas não elimina o processo de aderência, colonização e invasão do bacilo diftérico não toxigênico, por exemplo. Assim, deve-se observar com preocupação a presença desse microrganismo em uma população sem cobertura vacinal ou incompleta, primeiramente porque ele é capaz de causar infecções invasivas. Além disso, a introdução de uma amostra carreadora do gene *tox* pode desencadear uma epidemia de difteria por conversão lisogênica.

Corinebactérias não lipofílicas

O grupo das corinebactérias não lipofílicas inclui várias espécies que podem ser posteriormente diferenciadas com base no metabolismo fermentativo ou oxidativo. O *Corynebacterium ulcerans* e o *Corynebacterium pseudotuberculosis* estão estreitamente relacionados com o *C. diphtheriae*, e podem transportar o gene *tox* da difteria. O *C. ulcerans* toxigênico pode causar doença semelhante à difteria clínica, enquanto o *C. pseudotuberculosis* raramente provoca doença em seres humanos. Outras espécies do grupo fermentativo não lipofílico são o *Corynebacterium xerosis*, *Corynebacterium striatum*, *Corynebacterium minutissimum* e *Corynebacterium amycolatum*. Estas espécies estão entre as bactérias corineformes mais comumente isoladas de material clínico. Muitos microrganismos anteriormente considerados *C. xerosis* podem ter sido identificados de modo incorreto, tratando-se, na verdade, do *C. amycolatum*. Existem poucos casos bem documentados de doença causada por *C. minutissimum*, apesar de o microrganismo ser frequentemente isolado de amostras clínicas. Em termos históricos, o *C. xerosis* e o *C. striatum* causaram uma variedade de infecções em seres humanos. *C. striatum* tem sido isolado de infecções respiratórias hospitalares.

Três corinebactérias não fermentativas estão associadas com maior frequência às infecções clínicas. O *Corynebacterium auris* tem sido associado a infecções de orelha em crianças, enquanto o *Corynebacterium pseudodiphtheriticum* tem sido associado a infecções do trato respiratório. O *Corynebacterium glucuronolyticum* é geralmente urease-positivo, sendo um patógeno do trato urinário.

Corinebactérias lipofílicas

Corynebacterium jeikeium é uma das bactérias corineformes mais comumente isoladas de pacientes com enfermidade aguda. Pode causar doença em pacientes imunocomprometidos, e é importante por induzir infecções, incluindo a bacteriemia, que apresentam altas taxas de mortalidade, e ser resistente a muitos antimicrobianos de uso comum. *Corynebacterium urealyticum* é uma espécie de crescimento lento, resistente a vários antibióticos. Como o nome indica, é urease-positivo, sendo associado a infecções do trato urinário agudas ou crônicas manifestadas por pH urinário alcalino e formação de cristais.

Outros gêneros corineformes

Existem muitos outros gêneros e espécies de bactérias corineformes. *Arcanobacterium haemolyticum* provoca β-hemólise em ágar-sangue. Em certas ocasiões, essa espécie está associada a faringite, podendo crescer em meios de cultura seletivos para os estreptococos. *A. haemolyticum* é catalase-negativo, devendo, à semelhança dos estreptococos do grupo A, ser diferenciado com base na sua morfologia através da coloração pelo método de Gram (bastonetes *versus* cocos) e nas características bioquímicas. A maioria das bactérias corineformes dos outros gêneros constitui uma causa infrequente de doença, e esses microrganismos não costumam ser identificados no laboratório clínico.

Rothia dentocariosa é um bastonete gram-positivo que forma filamentos ramificados, sendo associada a abscessos e endocardite, presumivelmente após sua entrada na corrente sanguínea a partir da boca. *Stomatococcus mucilaginosus*, um coco gram-positivo, foi transferido para o gênero *Rothia*

(*Rothia mucilaginosa*). Trata-se de um habitante comum da cavidade oral e tem sido associado a bacteriemia em hospedeiros imunodeprimidos, bem como a endocardites em usuários de drogas injetáveis.

Verificação de conceitos

- O grupo de bastonetes gram-positivos anaeróbios é um grande grupo heterogêneo, compreendendo microrganismos da microbiota normal a patógenos virulentos.
- O gênero *Corynebacterium* inclui o microrganismo patogênico *C. diphtheriae*, agente etiológico da difteria, pela ação de uma potente exotoxina (toxina diftérica) que causa inibição da síntese proteica.
- A toxina diftérica é codificada por um bacteriófago lisogênico, sendo responsável, tanto pelas manifestações locais (faringite membranosa) quanto sistêmica (miocardite e falência renal).
- Em países desenvolvidos, a difteria é geralmente rara, condição sustentada por um programa de vacinação.

LISTERIA MONOCYTOGENES

Existem várias espécies do gênero *Listeria*, entre as quais *L. monocytogenes* que é importante como causa de um amplo espectro de doenças em animais e seres humanos. *L. monocytogenes* é capaz de crescer e sobreviver em uma ampla variedade de condições ambientais. Esta bactéria pode sobreviver a temperaturas do interior de refrigeradores (4°C), em condições de baixo pH e altas concentrações salinas. Portanto, é capaz de superar as barreiras de segurança e preservação de alimentos, o que o torna um importante patógeno de origem alimentar. Dados recentes do CDC (Centers for Disease Control and Prevention) indicam um declínio dos casos de intoxicação alimentar por *Listeria*. Contudo, ocorreu nos EUA um dos maiores e mais graves surtos de listeriose (com 84 casos em 19 Estados com mais de 15 mortes), causado por contaminação de melão Cantaloupe de uma empresa de processamento e de empacotamento no Colorado. Esse surto enfatiza a natureza ubíqua desse microrganismo e sua habilidade de facilmente contaminar uma variedade de alimentos durante os estágios de processamento e manipulação.

Morfologia e identificação

L. monocytogenes é um bastonete gram-positivo curto e não formador de esporos (Fig. 12.2). É catalase-positiva, com motilidade rotatória de uma extremidade sobre a outra de 22 a 28°C, mas não a 37°C. O teste de motilidade distingue rapidamente entre *Listeria* e os difteroides que fazem parte da microbiota normal da pele.

Cultura e características de crescimento

Listeria cresce bem em meios de cultura como ágar-sangue de carneiro a 5%, onde apresenta a pequena zona característica de hemólise ao redor das colônias e sob elas. O microrganismo é um anaeróbio facultativo, catalase-positivo, hidrólise da esculina positivo e móvel. A *Listeria* produz ácido, mas não gás, a partir da utilização de uma variedade de carboidratos.

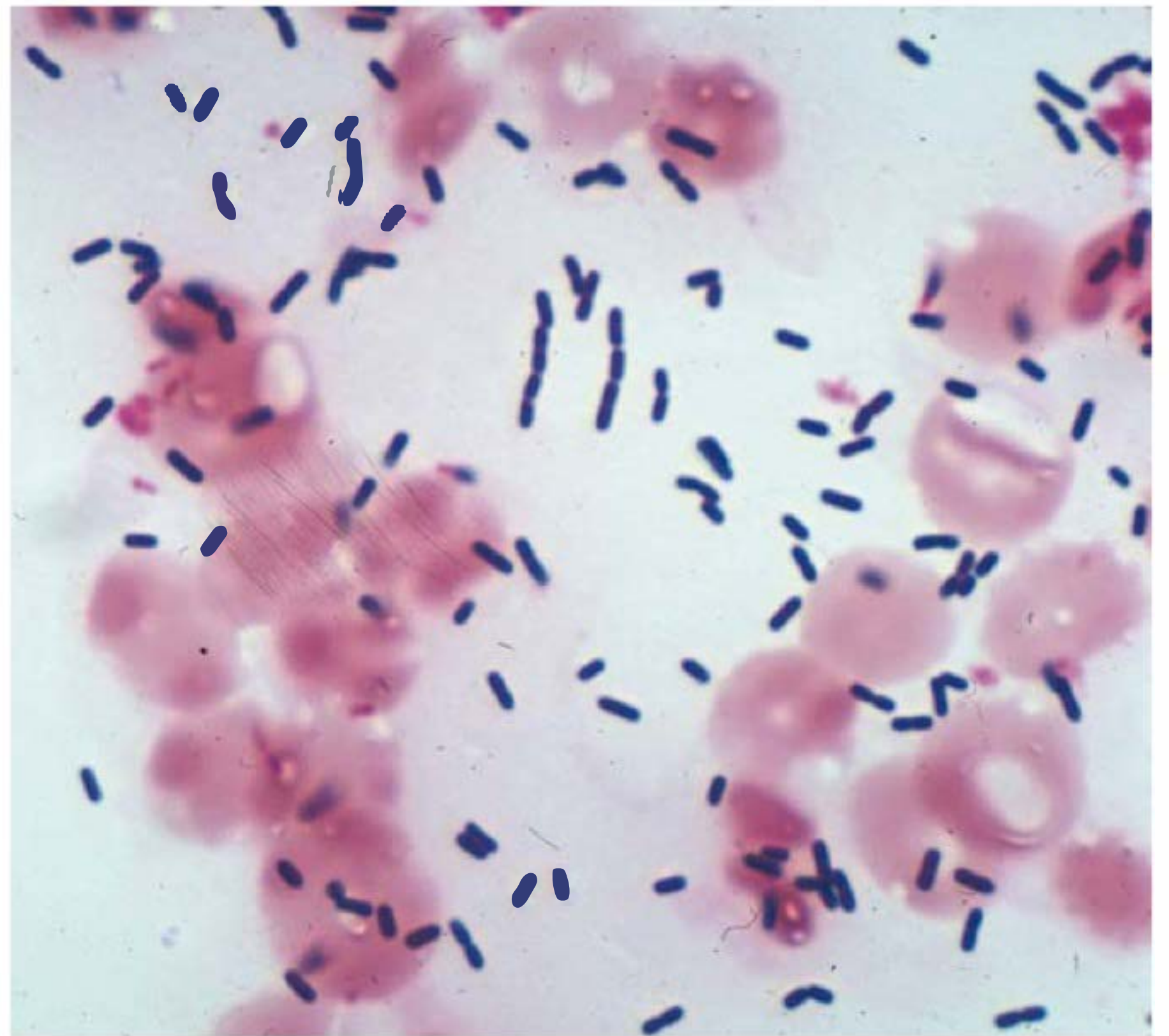


FIGURA 12.2 Filamentos gram-positivos do bacilo de *Listeria monocytogenes* em hemocultura. Aumento original de 1.000 vezes. Hemácias estão presentes no plano de fundo. *Listeria* isoladas de amostras clínicas frequentemente apresentam variação no comprimento e, às vezes, na forma. Em geral, apresentam 0,4 a 0,5 µm de diâmetro e 0,5 a 2 µm de comprimento. (Cortesia de H Tran.)

A motilidade à temperatura ambiente e a produção de hemolisina constituem achados primários que ajudam a diferenciar entre a *Listeria* e as bactérias corineformes.

Classificação antigênica

A classificação sorológica só é feita em laboratórios de referência, e é utilizada principalmente para estudos epidemiológicos. Há 13 sorotipos conhecidos baseados no antígeno O (somático) e no antígeno H (flagelar). Os sorotipos 1/2a, 1/2b e 4b constituem mais de 95% dos microrganismos isolados de seres humanos. O sorotipo 4b causa a maioria dos surtos a partir de alimentos.

Patogênese e imunidade

L. monocytogenes penetra no corpo através do trato gastrointestinal, após a ingestão de alimentos contaminados, como queijo ou vegetais. O microrganismo possui diversas adesinas proteicas (proteínas Ami, Fbp A e flagelina) que facilitam a ligação da bactéria com as células hospedeiras, contribuindo para a virulência. Ele também possui proteínas de superfície na parede celular denominadas internalina A e B, que interagem com a caderina E, um receptor existente nas células epiteliais, promovendo a fagocitose nessas células. Após a fagocitose, a bactéria é envolvida em um fagolisossomo, onde o pH baixo estimula a bactéria a produzir listeriolisina O. Esta enzima provoca a lise da membrana do fagolisossomo, de modo que os microrganismos escapam para o citoplasma da célula epitelial, proliferam-se, e a ActA, uma proteína de superfície de *Listeria*, induz a polimerização da actina na célula do hospedeiro, propulso-os para a membrana celular. Ao serem empurrados contra a membrana da célula hospedeira, causam a formação

de protrusões alongadas, denominadas filópodes, ingeridos por células epiteliais adjacentes, macrófagos e hepatócitos; as listérias são liberadas e o ciclo recomeça. *L. monocytogenes* pode migrar de uma célula para outra sem se expor a anticorpos, complemento ou células polimorfonucleares. *Shigella flexneri* e as riquetsias também usurpam a actina e o sistema contrátil das células do hospedeiro para propagar suas infecções.

O ferro constitui um importante fator de virulência. As listérias produzem sideróforos e são capazes de obter ferro a partir da transferrina.

A imunidade contra *L. monocytogenes* é primariamente mediada por células, conforme mostram a localização intracelular da infecção e a notável associação da infecção a condições de comprometimento da imunidade celular, como gravidez, Aids, linfoma e transplante de órgãos. A imunidade pode ser transferida por linfócitos sensibilizados, mas não por anticorpos.

Manifestações clínicas

Existem duas formas de listeriose humana perinatal. A síndrome de início precoce (**granulomatose infantil-séptica**) é o resultado de uma infecção no útero, sendo uma forma disseminada da doença caracterizada por sepsse neonatal, lesões pustulares e granulomas contendo *L. monocytogenes* em vários órgãos. A morte pode ocorrer antes ou depois do parto. A síndrome de início tardio leva ao desenvolvimento de meningite entre o nascimento e a terceira semana de vida; com frequência, é causada pelo sorotipo 4b e está associada a uma taxa de mortalidade significativa.

Os adultos podem desenvolver meningoencefalite, bacteriemia e (raramente) infecções focais por *Listeria*. A meningoencefalite e a bacteriemia são observadas mais comumente em pacientes imunossuprimidos, nos quais a *Listeria* representa uma das causas mais comuns de meningite. A apresentação clínica da meningite por *Listeria* nesses pacientes varia de insidiosa a fulminante, sendo inespecífica. Em indivíduos imunocompetentes, a doença pode não ocorrer após a ingestão de alimentos contaminados, ou o paciente pode desenvolver uma gastroenterite febril sintomática. A listeriose desenvolve-se após um período de incubação de 6 a 48 horas. Os sintomas incluem febre, tremores, cefaleia, dor abdominal e diarreia. A doença é geralmente autolimitada (1 a 3 dias) e a maioria dos laboratórios clínicos não faz rotineiramente o cultivo para *Listeria* a partir das fezes dos pacientes.

O diagnóstico de listeriose baseia-se no isolamento do microrganismo em hemoculturas e culturas do líquido cefalorraquidiano.

Ocorre infecção espontânea em muitos animais selvagens e domésticos. Em ruminantes (p. ex., carneiros), *Listeria* pode causar meningoencefalite com ou sem bacteriemia. Em animais de menor porte (p. ex., coelhos, galinhas), ocorre septicemia com abscessos focais no fígado e no músculo cardíaco, além de monocitose pronunciada.

Muitos antimicrobianos inibem as espécies de *Listeria in vitro*, tendo sido obtidas curas clínicas com a administração de ampicilina, eritromicina ou sulfametoxazol-trimetoprima intravenoso. As cefalosporinas e as fluoroquinolonas não são ativas contra a *L. monocytogenes*. Com frequência, recomenda-se como tratamento o uso de ampicilina combinada com gentamicina, mas esta não penetra nas células do hospedeiro nem pode ajudar a tratar a infecção por *Listeria*. O sulfametoxazol-trimetoprima é

o fármaco de escolha terapêutica para infecções do sistema nervoso central em pacientes com alergia a penicilinas.

ERYSIPELOTHRIX RHUSIOPATHIAE

Erysipelothrix rhusiopathiae (que também se denomina *Erysipelothrix insidiosa*) é um bacilo gram-positivo que produz pequenas colônias brilhantes e transparentes. Pode ser α -hemolítico em ágar-sangue. Na coloração pelo método de Gram, adquire às vezes um aspecto de microrganismo gram-negativo devido à fácil descoloração. As bactérias podem aparecer isoladamente, em cadeias curtas, aleatoriamente ou em longos filamentos não ramificados. A morfologia das colônias e o aspecto na coloração pelo método de Gram variam conforme o meio de crescimento, a temperatura de incubação e o pH. O *Erysipelothrix* é negativo para a catalase, a oxidase e o indol. Quando cresce em ágar-ferro-açúcar triplice (TSI), ocorre a produção de sulfeto de hidrogênio, que torna o TSI preto.

E. rhusiopathiae deve ser diferenciado de *L. monocytogenes*, de *Arcanobacterium pyogenes* e de *A. haemolyticum*, mas essas três espécies são β -hemolíticas e não produzem sulfeto de hidrogênio quando crescem em meio TSI. É mais difícil distinguir *E. rhusiopathiae* dos lactobacilos aerotolerantes, pois ambos podem ser α -hemolíticos, são catalase-negativos e resistentes à vancomicina (80% dos lactobacilos). Além disso, assim como *E. rhusiopathiae*, alguns lactobacilos produzem H_2S .

E. rhusiopathiae apresenta distribuição mundial em animais terrestres e marinhos, inclusive uma variedade de vertebrados e invertebrados. Provoca doença em suínos, perus, patos e carneiros domésticos. O impacto mais importante é observado em suínos, nos quais causa erisipela. Nos seres humanos, a erisipela é provocada por estreptococos β -hemolíticos do grupo A e difere acentuadamente da erisipela dos suínos. Os indivíduos adquirem a infecção por *E. rhusiopathiae* por inoculação direta de animais ou produtos de origem animal. Os indivíduos que correm maior risco são os pescadores, manipuladores de peixes, pessoas que trabalham em matadouros, açougueiros e outros que têm contato com produtos de origem animal.

Nos seres humanos, a infecção mais comum causada por *E. rhusiopathiae* é denominada erisipeloide. Em geral, ocorre nos dedos das mãos em consequência de inoculação direta no local de um corte ou escoriação (denominada “dedo de foca” e “dedo de baleia”). Depois de um período de incubação de 2 a 7 dias, ocorrem dor, que pode ser intensa, e edema. A lesão apresenta-se elevada e de cor violácea. Em geral, não há pus no local de infecção, o que ajuda a diferenciá-la das infecções cutâneas estafilocócicas e estreptocócicas. O erisipeloide pode regredir depois de 3 a 4 semanas ou mais rapidamente com tratamento antibiótico. As outras formas clínicas de infecção (raras) consistem em uma forma cutânea difusa e em bacteriemia com endocardite. O *Erysipelothrix* é altamente sensível à penicilina G, que constitui o fármaco de escolha para as infecções graves. O microrganismo é intrinsecamente resistente à vancomicina.

Verificação de conceitos

- Tanto *L. monocytogenes* quanto *E. rhusiopathiae* são espécies amplamente distribuídas na natureza, podendo causar doenças significativas na espécie humana.

- *L. monocytogenes* é normalmente transmitida pela ingestão de alimentos processados contaminados, como carnes e derivados, leites e derivados, vegetais e frutas.
- Após a ingestão induz sua endocitose por uma variedade de tipos celulares, sendo capaz de sobreviver no ambiente intracelular e de se disseminar, resultando em bacteriemia e meningite em indivíduos com deficiência na resposta de base celular.
- *Erysipelothrix* é normalmente adquirido pelo contato direto com animais ou produtos de origem animal, resultando em erisipeloide, uma celulite do tipo nodular.
- *E. rhusiopathiae* é o único bastonete gram-positivo a produzir H₂S em meio TSI.

ACTINOMICETOS

Os actinomicetos aeróbios representam um grande grupo de bacilos gram-positivos diversos, com tendência a formar cadeias ou filamentos. Estão relacionados com as corinebactérias, e incluem vários gêneros de importância clínica, como as micobactérias (Cap. 23) e microrganismos saprofíticos, como os estreptomicetos. Com o crescimento dos bacilos, as células permanecem unidas após a divisão, formando cadeias alongadas de bactérias (com 1 µm de largura) com ramificações ocasionais. A extensão desse processo varia em diferentes membros, sendo rudimentar em alguns actinomicetos — as cadeias são curtas, rompem-se após a sua formação e assemelham-se aos difteroides —, enquanto outros desenvolvem extensos substratos ou filamentos aéreos (ou ambos), podendo produzir esporos ou fragmentar-se, dando origem a formas cocobacilares. Os membros dos actinomicetos aeróbios podem ser classificados com base na coloração álcool-ácida. As micobactérias são fortemente positivas (álcool-acidorresistentes); os gêneros fracamente positivos compreendem a *Nocardia*, *Rhodococcus* e alguns outros de menor significado clínico. *Streptomyces* e *Actinomadura*, dois agentes que causam micetomas actinomicóticos, são álcool-ácido negativos.

R. equi pode assemelhar-se a um bacilo após poucas horas de incubação em caldo, mas, com uma incubação mais prolongada, passa a apresentar forma cocoide. Estas espécies de *Rhodococcus* também produzem, com frequência, colônias pigmentadas após 24 horas de incubação, que varia do rosa-salmão ao vermelho. Essas bactérias são geralmente álcool-ácido positivas fracas, quando coradas pelo método de Kinyoun modificado. *R. equi* ocasionalmente causa infecções, tais como pneumonia necrosante em pacientes imunossuprimidos com imunidade celular anormal (p. ex., pacientes com Aids). Está presente no solo e no esterco de herbívoros; é um causador ocasional de doença no gado, ovelhas e suínos, e pode causar infecções graves nos pulmões de potros. Outras espécies do gênero *Rhodococcus* estão presentes no ambiente, mas raramente causam doença em seres humanos.

NOCARDIOSE

O gênero *Nocardia* continua a sofrer extensiva reclassificação taxonômica. Novas espécies continuam a ser reconhecidas, e pelo menos 30 foram associadas a infecções humanas.

As espécies mais comuns associadas a maioria dos casos de infecções humanas estão listadas no Quadro 12.1. Cada uma

destas é responsável por uma variedade de doenças e cada espécie/complexo possui um único padrão de suscetibilidade a fármacos. As nocárdias patogênicas, a exemplo de muitas espécies não patogênicas de *Nocardia*, são encontradas no mundo inteiro, presentes no solo e na água. A nocardiose surge em consequência de inalação dessas bactérias. A manifestação habitual consiste em infecção pulmonar subaguda a crônica que pode disseminar-se para outros órgãos, em geral o cérebro ou a pele. A nocardiose não é transmitida de uma pessoa para outra.

Morfologia e identificação

As espécies de *Nocardia* são aeróbias e crescem em uma variedade de meios. No decorrer de vários dias a 1 semana ou mais, surgem colônias cerosas, irregulares e empilhadas. As cepas variam quanto à sua pigmentação, que pode ser branca, laranja ou vermelha. Essas bactérias são bacilos gram-positivos, catalase-positivos e parcialmente álcool-acidorresistentes. Produzem urease e podem digerir a parafina. As nocárdias formam extensos substratos ramificados e filamentos aéreos que se fragmentam, dando origem a células cocobacilares. As paredes celulares contêm ácidos micólicos, que possuem cadeias mais curtas que as das micobactérias. São consideradas fracamente acidorresistentes — mas, se forem coradas com o reagente álcool-acidorresistente de rotina (carbol-fucsina) e descoradas com ácido sulfúrico a 1 a 4% em vez do descolorante ácido-álcool, mais forte, a maioria dos microrganismos isolados será acidorresistente. As espécies *Nocardia* são identificadas principalmente por metodologias moleculares como o sequenciamento do gene do RNA ribossômico 16S e análise por polimorfismo de fragmentos de restrição (restriction fragment length polymorphism [RFLP]) de fragmentos de genes amplificados, tais como *hsp* ou *secA*.

Patogênese e manifestações clínicas

Na maioria dos casos, a nocardiose é uma infecção oportunista associada a diversos fatores de risco, a maioria dos quais compromete as respostas imunológicas celulares, incluindo tratamento com corticosteroides, imunossupressão, transplante de órgãos, Aids e alcoolismo. A nocardiose começa em forma de pneumonia lobar crônica, podendo-se verificar a ocorrência de uma variedade de sintomas, como febre, perda de peso e dor torácica. As manifestações clínicas não são típicas, simulando a tuberculose e outras infecções. Pode haver o desenvolvimento de consolidações pulmonares, porém a formação de granulomas com caseificação é rara. O processo patológico habitual consiste na formação de abscessos. A disseminação a partir dos pulmões frequentemente afeta o sistema nervoso central, com a formação de abscessos no cérebro, resultando em uma variedade de manifestações clínicas. Alguns pacientes apresentam comprometimento pulmonar subclínico e lesões cerebrais (infamação neutrofílica). Além disso, pode ocorrer disseminação para a pele, os rins, os olhos ou outras partes do corpo.

Exames diagnósticos laboratoriais

As amostras consistem em escarro, pus, líquido cefalorraquidiano e material de biópsia. Os esfregaços corados pelo método de Gram revelam bacilos gram-positivos, células cocobacilares

e filamentos ramificados. Com a coloração acidorresistente modificada, a maioria dos microrganismos isolados é álcool-acidorresistente. As espécies *Nocardia* crescem na maioria dos meios laboratoriais. Os testes sorológicos disponíveis não são úteis. Como mencionado, métodos moleculares são necessários para identificação das espécies, sendo importante para o tratamento e estudos epidemiológicos.

Tratamento

O tratamento de escolha consiste na administração de sulfametoxazol-trimetoprima. Se não houver resposta, poderão ser utilizados com sucesso vários outros antibióticos, como amicacina, imipenem, minociclina, linezolida e cefotaxima. Contudo, como o perfil de resistência e suscetibilidade varia entre as espécies, o teste de suscetibilidade aos antimicrobianos deve ser realizado para auxiliar o tratamento. Pode ser necessário recorrer à drenagem ou ressecção cirúrgica.

Actinomicetos emergentes: *Gordonia* e *Tsukamurella*

Os membros dos gêneros *Gordonia* e *Tsukamurella* são bactérias álcool-acidorresistentes modificadas que estão se tornando responsáveis, com maior frequência, por infecções oportunistas entre pacientes hospitalizados imunodeprimidos. *Gordonia* produz colônias alaranjadas e rugosas. Estes microrganismos, quando corados pelo método de Gram, apresentam forma corineforme sem ramificações. Quando são isolados a partir de fontes não estéreis como escarro, esses microrganismos podem passar despercebidos como microbiota normal ou como contaminantes. *Tsukamurella* forma colônias esbranquiçadas a alaranjadas e após coloração apresenta-se como bastonetes longos, retos, às vezes encurvados. Os membros de ambos os gêneros são mais bem identificados pelo conteúdo de ácidos graxos da parede celular ou por sequenciamento do gene do RNA ribossômico 16S. Esses microrganismos têm sido associados a uma variedade de infecções, inclusive as de feridas pós-operatórias, cateteres associados a infecções sanguíneas, drenos de ouvido e infecções pulmonares. O tratamento tem sido baseado em experiências anedóticas, mas requer a remoção do cateter e drenagem de abscessos. Para as infecções causadas por espécies *Gordonia*, vancomicina, carbapenêmicos, aminoglicosídeos, fluoroquinolonas e linezolida têm sido utilizados com sucesso no tratamento. No caso de infecções por *Tsukamurella*, os testes *in vitro* têm mostrado suscetibilidade a aminoglicosídeos, sulfametoxazol, fluoroquinolonas, carbapenêmicos e claritromicina.

Verificação de conceitos

- Diversos membros dos actinomicetos aeróbios são bactérias álcool-acidorresistentes modificadas, como as espécies de *Nocardia*, *Tsukamurella* e *Gordonia*.
- As espécies de *Nocardia* são bastonetes gram-positivos ramificados e filamentosos encontrados no solo e em outras fontes ambientais, causando infecções principalmente em pacientes imunossuprimidos.
- As espécies de *Tsukamurella* e *Gordonia* são menos comumente isoladas e estão associadas a infecções nosocomiais.

- Os três grupos são melhores identificados, após cultura, por métodos moleculares, como sequenciamento do gene do RNAr 16S.
- O sulfametoxazol-trimetoprima é o fármaco de escolha terapêutica para as infecções por *Nocardia*. O uso de outros antibióticos deve ser feito após teste de sensibilidade a antimicrobianos (TSA).

ACTINOMICETOMA

O micetoma (pé de Madura) é uma infecção crônica localizada e lentamente progressiva, que começa no tecido subcutâneo e dissemina-se para os tecidos adjacentes. Mostra-se destrutivo, sendo frequentemente indolor. Em muitos casos, o micetoma é causado por um fungo do solo implantado no tecido subcutâneo em consequência de pequeno traumatismo. Essa forma de micetoma é discutida no Capítulo 45. O actinomicetoma é um micetoma causado por bactérias filamentosas ramificadas. O grânulo do actinomicetoma é constituído de elementos teciduais, bem como bacilos em cadeias ou filamentos bacilares (com 1 µm de diâmetro) gram-positivos. As causas mais comuns do actinomicetoma são *Nocardia asteroides*, *Nocardia brasiliensis*, *Streptomyces somaliensis* e *Actinomadura madurae*. A *N. brasiliensis* pode ser acidorresistente. Essas espécies e outros actinomicetos patogênicos são diferenciados por testes bioquímicos e análise cromatográfica dos componentes da parede celular. Os actinomicetomas respondem de modo satisfatório a várias combinações de estreptomicina, sulfametoxazol-trimetoprima e dapsona se o tratamento for iniciado precocemente, antes da ocorrência de lesão extensa.

Com frequência, os estudantes ficam confusos com os termos actinomicetos e actinomicose. Os actinomicetos foram descritos anteriormente; a actinomicose é uma infecção causada por membros do gênero gram-positivo anaeróbico *Actinomyces*. As espécies *Actinomyces* e a doença actinomicose são descritas em mais detalhe no Capítulo 21.

QUESTÕES DE REVISÃO

1. Há 3 meses, uma mulher de 53 anos passou por cirurgia e quimioterapia para um câncer de mama. Quatro semanas atrás, desenvolveu uma tosse ocasional, produtiva de escarro purulento. Cerca de 2 semanas atrás, sentiu uma fraqueza leve mas progressiva no braço e na perna esquerdos. Ao exame de pulmão, foi escutado um sopro na parte posterossuperior do pulmão esquerdo enquanto a paciente respirava fundo. O exame neurológico confirmou fraqueza no braço e na perna esquerdos. A radiografia de pulmão mostrou a presença de infiltrado no lobo superior do pulmão esquerdo. A tomografia computadorizada por contraste do cérebro mostrou duas lesões no hemisfério direito. A coloração de Gram do escarro purulento revelou a presença de bacilos gram-positivos ramificados parcialmente álcool-acidorresistente. Qual dos seguintes microrganismos é o causador da doença dessa paciente?
 - (A) *Actinomyces israelii*
 - (B) *Corynebacterium pseudodiphtheriticum*
 - (C) *Aspergillus fumigatus*
 - (D) *Nocardia farcinica*
 - (E) *Erysipelothrix rhusiopathiae*

2. O fármaco de escolha para tratar a infecção da paciente em questão é:
- Penicilina G
 - Sufametoxazol-trimetoprima
 - Gentamicina
 - Anfotericina B
 - Uma cefalosporina de terceira geração
3. É particularmente difícil diferenciar o *Erysipelothrix rhusiopathiae* de:
- Corynebacterium diphtheriae*
 - Bacillus cereus*
 - Actinomyces israelii*
 - Nocardia asteroides*
 - Espécies *Lactobacillus*
4. O movimento da *Listeria monocytogenes* no interior das células do hospedeiro é causado por:
- Indução da polimerização da actina da célula hospedeira
 - Formação de *pili* (fímbrias) na superfície da bactéria
 - Formação de pseudópodes
 - Movimento do flagelo da listéria
 - Motilidade rotatória
5. Um menino de 8 anos desenvolve forte dor de garganta. Ao exame, observou-se um exsudato acinzentado com pseudomembrana na região das tonsilas e da faringe. O diagnóstico diferencial de faringite grave como este caso inclui infecção por estreptococo do grupo A, infecção pelo vírus Epstein-Barr (EBV), faringite por *Neisseria gonorrhoeae* e difteria. A causa mais provável da faringite do menino é:
- Um bacilo gram-negativo
 - Um vírus RNA de fita simples e polaridade positiva
 - Um coco gram-positivo, catalase-positivo, que cresce em aglomerados
 - Um bacilo gram-positivo em forma de clava
 - Um vírus RNA de fita dupla
6. O mecanismo primário da patogênese da doença do menino da Questão 5 é:
- Um aumento acentuado na adenosina monofosfato intracelular
 - Ação de uma exotoxina pirogênica (um superantígeno)
 - Inativação da acetilcolina esterase
 - Ação da enterotoxina A
 - Inativação do fator 2 de alongação
7. O *Corynebacterium jeikeium* é:
- Catalase-negativo
 - Gram-negativo
 - Geralmente multirresistente
 - Móvel
 - Comum, mas pouco importante clinicamente
8. Qual dos seguintes bacilos aeróbios gram-positivos é álcool-acidorrésistente positivo?
- Nocardia brasiliensis*
 - Lactobacillus acidophilus*
 - Erysipelothrix rhusiopathiae*
 - Listeria monocytogenes*
9. A difteria cutânea que se verifica em crianças em áreas tropicais, normalmente:
- Não ocorre em crianças vacinadas com o toxoide diftérico
 - É clinicamente distinta das infecções de pele (piodermites, impetigo) causadas por *Streptococcus pyogenes* e *Staphylococcus aureus*
 - Também é comum no Hemisfério Norte
 - Resulta na produção de níveis protetores de antitoxina na maior parte das crianças quando têm entre 6 e 8 anos de idade
 - Produz miocardiopatia mediada por toxina
10. Um pescador de 45 anos de idade enganchou um anzol no dedo indicador direito. Retirou o objeto e não procurou tratamento médico imediato. Cinco dias depois, notou febre, dor e inchaço nodular do dedo. Buscou então tratamento médico. Um nódulo violáceo foi aspirado e, depois de 48 horas de incubação, foram observadas colônias de bacilo gram-positivo que causaram manchas esverdeadas do ágar e formaram filamentos longos no caldo de cultura. O causador mais provável dessa infecção é:
- Lactobacillus acidophilus*
 - Erysipelothrix rhusiopathiae*
 - Listeria monocytogenes*
 - Rhodococcus equi*
 - Nocardia brasiliensis*
11. Uma reação bioquímica útil para identificação do agente causador da infecção na Questão 10 é:
- Catalase positiva
 - Álcool-acidorrésistência, usando a coloração de Kinyoun modificada
 - Hidrólise da esculina
 - Motilidade rotatória
 - Produção de H₂S
12. *Listeria monocytogenes* é frequentemente um patógeno associado à contaminação de alimentos, pois:
- Sobrevive a 4°C
 - Sobrevive em condição de pH baixo
 - Sobrevive em condição de alta concentração de sal
 - Todas as respostas acima
13. Após isolamento convencional, os actinomicetos aeróbios são melhores identificados por:
- Sistema de automação usado em laboratório clínico
 - Bioquímica clássica
 - Teste de detecção de antígeno como Elisa
 - Métodos moleculares como sequenciamento do gene rRNA 16S
14. Qual das afirmações sobre o *Rhodococcus* é correta?
- É transmitido de pessoa para pessoa
 - Causa tuberculose em bovinos
 - Raramente causa infecções pulmonares em seres humanos
 - Produz pigmento negro em ágar-sangue
15. Paciente hospitalizado com sonda vesical desenvolveu febre, calafrios, dor suprapúbica e dificuldade miccional, 48 horas após a remoção da sonda. Apresentou obstrução da bexiga com a presença de piúria e de bacteriúria na urinálise. A citoscopia revelou grandes cálculos urinários na bexiga e a urinocultura a presença um bastonete curto gram-positivo irregular em contagem superior a 10⁵ UFC mL⁻¹. O provável microrganismo causador dessa infecção é
- Corynebacterium urealyticum*
 - Nocardia brasiliensis*
 - Actinomyces madurae*
 - Erysipelothrix rhusiopathiae*

Respostas

- | | | | |
|------|------|-------|-------|
| 1. D | 5. D | 9. D | 13. D |
| 2. B | 6. E | 10. B | 14. C |
| 3. E | 7. C | 11. E | 15. A |
| 4. A | 8. A | 12. D | |

REFERÊNCIAS

- Brown-Elliott BA, Brown JM, Conville PS, Wallace RJ Jr: Clinical and laboratory features of the *Nocardia* spp. based on current molecular taxonomy. *Clin Microbiol Rev* 2006;9:259–282.
- Centers for Disease Control and Prevention: Multistate outbreak of listeriosis associated with Jensen Farms cantaloupe — United States, August–September 2011. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2011;60:1357–1358.
- Conville PS, Witebsky FG. *Nocardia*, *Rhodococcus*, *Gordonia*, *Actinomyces*, and other aerobic Actinomycetes. In Versalovic J, Carroll KC, Funke G et al. (editors). *Manual of Clinical Microbiology*, 9th ed. ASM Press, 2011.
- Deng Q, Barbieri JT: Molecular mechanisms of the cytotoxicity of ADP-ribosylating toxins. *Annu Rev Microbiol* 2008;62:271–288.
- Drevets DA, Bronze MS: *Listeria monocytogenes*: epidemiology, human disease, and mechanisms of brain invasion. *FEMS Immunol Med Microbiol* 2008;53:151–165.
- Freitag NE, Port GC, Miner MD: *Listeria monocytogenes*—from saprophyte to intracellular pathogen. *Nat Rev Microbiol* 2009;7:623–628.
- Funke G, Bernard KA: Coryneform gram-positive rods. In Versalovic J, Carroll KC, Funke G et al. (editors). *Manual of Clinical Microbiology*, 10th ed. ASM Press, 2011.
- Funke G, von Graevenitz A, Clarridge JE 3rd, Bernard KA: Clinical microbiology of coryneform bacteria. *Clin Microbiol Rev* 1997;10:125.
- MacGregor RR: *Corynebacterium diphtheriae*. In Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (editors). *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*, 7th ed. Elsevier, 2010.
- Neal SE, Efstratiou A; DIPNET; International Diphtheria Reference Laboratories: International external quality assurance for the laboratory diagnosis of diphtheria. *J Clin Microbiol* 2010;47:4037–4042.
- Reboli AC, Farrar WE: *Erysipelothrix rhusiopathiae*: An occupational pathogen. *Clin Microbiol Rev* 1989;2:354.
- Sorrell TC, Mitchell DH, Iredell JR: *Nocardia* species. In Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (editors). *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*, 7th ed. Elsevier, 2010.

Estafilococos

Os estafilococos são células esféricas gram-positivas, geralmente dispostas em cachos irregulares semelhantes a cachos de uvas. Crescem rápido em muitos tipos de meio de cultura e são metabolicamente ativos, fermentando carboidratos e produzindo pigmentos que variam do branco ao amarelo intenso. Alguns são membros da microbiota normal da pele e das mucosas dos seres humanos; outros causam supuração, formação de abscessos, várias infecções piogênicas e mesmo septicemia fatal. Com frequência, os estafilococos patogênicos hemolisam o sangue, coagulam o plasma e produzem uma variedade de enzimas e toxinas extracelulares. O tipo mais comum de intoxicação alimentar é causado por uma enterotoxina estafilocócica termoestável. Os estafilococos desenvolvem rapidamente resistência a numerosos antimicrobianos, resultando, assim, problemas na conduta terapêutica.

O gênero *Staphylococcus* é constituído por pelo menos 40 espécies. As quatro espécies de importância clínica encontradas com maior frequência são o *Staphylococcus aureus*^{*}, o *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus lugdunensis* e o *Staphylococcus saprophyticus*. O *S. aureus* é **coagulase-positivo**, o que o distingue das outras espécies; é um importante patógeno para os seres humanos. Quase todos os indivíduos sofrem algum tipo de infecção causada por *S. aureus* durante a vida, cuja gravidade varia de uma intoxicação alimentar ou infecção cutânea de pouca importância até infecções graves e potencialmente fatais. Os estafilococos coagulase-negativos são membros da microbiota humana normal, e às vezes causam infecções frequentemente associadas a dispositivos e aparelhos implantados, tais como próteses de articulações, cateteres intravasculares, especialmente em pacientes muito jovens, idosos e imunocomprometidos. Cerca de 75% dessas infecções causadas por estafilococos **coagulase-negativos** devem-se ao *S. epidermidis*; as infecções causadas por *Staphylococcus lugdunensis*, *Staphylococcus warneri*, *Staphylococcus hominis* e outras espécies são menos comuns. O *S. saprophyticus* representa uma causa relativamente comum de infecções do trato urinário em mulheres jovens, embora raramente causem infecções em pacientes hospitalizados. Outras espécies são importantes na medicina veterinária.

Morfologia e identificação

A. Microrganismos típicos

Os estafilococos são células esféricas com cerca de 1 μm de diâmetro, dispostas em cachos irregulares (Figura 13.1). Também

* N. de R.T. A espécie *Staphylococcus aureus* é composta por duas subespécies: *Staphylococcus aureus*, subespécie *aureus* e *Staphylococcus aureus*, subespécie *anaerobius*.

são observados como cocos isolados, aos pares, tétrades e cadeias em culturas líquidas. Os cocos jovens são fortemente gram-positivos; com o envelhecimento, muitas células tornam-se gram-negativas. Os estafilococos são imóveis e não formam esporos. Sob a influência de fármacos, como a penicilina, os estafilococos sofrem lise.

As espécies *Micrococcus* assemelham-se frequentemente aos estafilococos, sendo encontradas em forma de vida livre no ambiente e formando agrupamentos regulares de quatro (tétrades) ou oito cocos. Suas colônias podem ser amarelas, vermelhas ou alaranjadas. Os micrococos raramente estão associados a doenças.

B. Cultura

Os estafilococos crescem rapidamente na maioria dos meios bacteriológicos, em condições aeróbias ou microaerofílicas. Crescem com mais rapidez ainda a 37°C, mas formam melhor o pigmento à temperatura ambiente de 20 a 25°C. As colônias em meio sólido são arredondadas, lisas, elevadas e brilhantes (Figura 13.2). Em geral, o *S. aureus* forma colônias acinzentadas a amarelo-douradas intensas. No isolamento primário, as colônias de *S. epidermidis* costumam ser de cor cinza a branca; muitas colônias só apresentam pigmento após incubação prolongada. Não há produção de pigmento em condições anaeróbias ou em caldo. Vários graus de hemólise são provocados pelo *S. aureus* e ocasionalmente por outras espécies. As espécies de *Peptostreptococcus* e *Peptoniphilus*, que são cocos anaeróbios, frequentemente assemelham-se aos estafilococos quanto a sua morfologia. O gênero *Staphylococcus* contém duas espécies, *S. saccharolyticus* e *S. aureus* subespécie *anaerobius*, que inicialmente só crescem em condições de anaerobiose, mas tornam-se aerotolerantes em subculturas. Esse fenômeno pode também ser observado, mais raramente, em algumas amostras de *S. epidermidis*.

C. Características de crescimento

Os estafilococos produzem catalase, o que os distingue dos estreptococos, eles fermentam lentamente muitos carboidratos, produzindo ácido láctico, mas não gás. A atividade proteolítica varia bastante de uma cepa para outra. Os estafilococos patogênicos produzem muitas substâncias extracelulares, que serão discutidas adiante.

Os estafilococos mostram-se relativamente resistentes a ressecamento, calor (suportam temperatura de 50°C durante 30 min.) e cloreto de sódio a 9%, porém são rapidamente inibidos por certas substâncias químicas, como, por exemplo, hexaclorofeno a 3%.

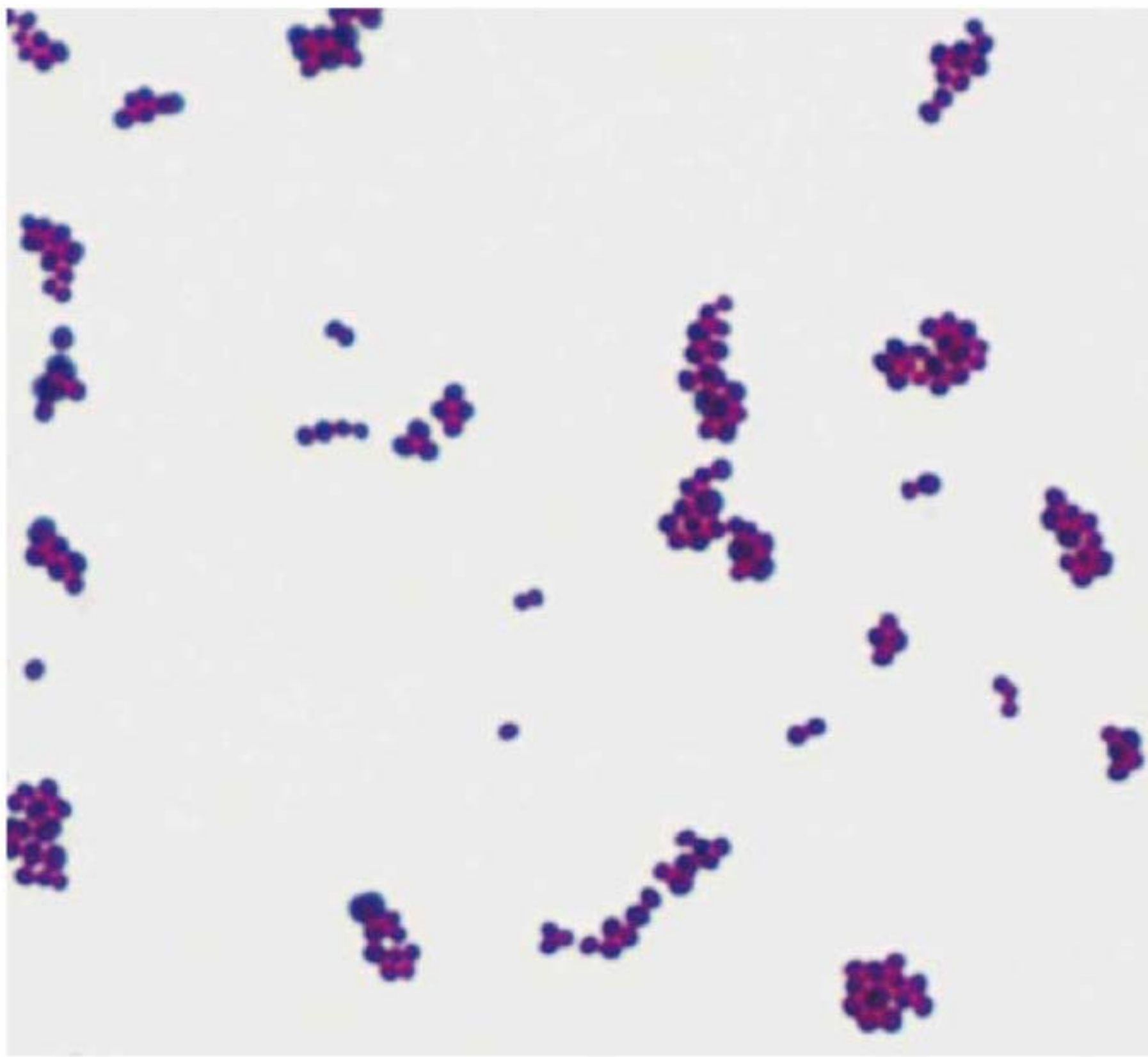


FIGURA 13.1 Coloração do *Staphylococcus aureus* pelo método de Gram mostrando cocos gram-positivos em pares, tétrades e cachos. Amplificação original de 1.000 vezes. (Cortesia de L. Ching.)

Os estafilococos exibem sensibilidade variável a muitos antimicrobianos. A resistência pode ser causada por diferentes mecanismos:

1. A produção de β -lactamase, sob o controle dos plasmídeos, é comum e torna os microrganismos resistentes a muitas penicilinas (penicilina G, ampicilina, ticarcilina,



FIGURA 13.2 Colônias de *Staphylococcus aureus* em uma placa de ágar-sangue após incubação de 24 horas. As colônias amarelo-acinzentadas apresentam 3 a 4 mm de diâmetro em uma placa de 10 cm. As colônias são cercadas por zonas claras de β -hemólise de cerca de 1 cm de diâmetro. (Cortesia de H. Reyes.)

piperacilina e similares). Os plasmídeos são transmitidos por transdução e talvez também por conjugação.

2. A resistência à nafcilina (bem como à meticilina e à oxacilina) independe da produção de β -lactamase. A resistência à nafcilina é codificada e regulada por uma sequência de genes encontrados em uma região do cromossomo chamado cassete cromossômico estafilocócico (*staphylococcal cassette chromosome mec* [SCC*mec*]). O gene *mecA* nesse locus codifica especificamente uma proteína de ligação à penicilina (*protein binding penicillin* [PBP]) de baixa afinidade (PBP2a), que é responsável pela resistência. Existem 12 tipos diferentes de SCC*mec*. Os tipos I, II e III estão associados a infecções adquiridas em hospitais e podem conter genes que codificam resistência a outros antimicrobianos. O SCC*mec* tipo IV tem sido encontrado principalmente em cepas de *S. aureus* resistentes à meticilina adquiridas na comunidade (CA-MRSA), e tende a ser menos resistente e mais transmissível. Esse tipo de SCC*mec* também foi responsável por surtos epidêmicos na última década nos EUA e em alguns países da Europa. Outros tipos têm a sua distribuição limitada em diferentes localizações geográficas no mundo.
3. Nos EUA, o *S. aureus* e o *S. lugdunensis* são considerados sensíveis à vancomicina se a concentração inibitória mínima (CIM) for $\leq 2 \mu\text{g/mL}$; de sensibilidade intermediária se a CIM for de 4 a 8 $\mu\text{g/mL}$; e resistente se a CIM for $\geq 16 \mu\text{g/mL}$. Cepas do *S. aureus* com sensibilidade intermediária à vancomicina foram isoladas no Japão, nos EUA e em alguns outros países. Essas cepas são conhecidas como VISA (*vancomycin-intermediate S. aureus*). Em geral, essas cepas de *S. aureus* têm sido isoladas de pacientes com infecções complexas que receberam terapia prolongada com vancomicina. Às vezes há falha do tratamento com vancomicina. O mecanismo de resistência está associado a uma síntese aumentada de parede celular e alterações na parede celular, e não é provocado pelos genes *van* encontrados nos enterococos. As cepas de *S. aureus* com suscetibilidade intermediária à vancomicina costumam ser resistentes à nafcilina, mas em geral são sensíveis a oxazolidinonas e a quinupristina/dalfopristina.
4. Desde 2002, diversas cepas de *S. aureus* resistentes à vancomicina (VRSA) foram isoladas de pacientes nos EUA. Essas amostras continham o gene de resistência à vancomicina *vanA* dos enterococos (Cap. 14) e o gene *mecA* de resistência à nafcilina (ver anteriormente). Essas cepas eram sensíveis a outros antimicrobianos. A resistência à vancomicina é uma grande preocupação no mundo inteiro.
5. A resistência mediada por plasmídeos às tetraciclina, eritromicina, aminoglicosídeos e outros fármacos é frequente nos estafilococos.
6. O termo “tolerância” implica que os estafilococos são inibidos, mas não destruídos por um fármaco — isto é, existe uma grande diferença entre a concentração inibitória mínima e a concentração bactericida mínima de um antimicrobiano. Os pacientes com endocardite causada por *S. aureus* tolerante podem apresentar uma evolução clínica prolongada em comparação com os pacientes que têm endocardite provocada por *S. aureus* totalmente suscetível. Às vezes, a tolerância pode ser atribuída à ausência de ativação das enzimas autolíticas na parede celular.

D. Variação

Uma cultura de estafilococos contém algumas bactérias que diferem da maioria da população na expressão de determinadas características da colônia (tamanho, presença de pigmento, ocorrência de hemólise), na elaboração de enzimas, na resistência a fármacos e na patogenicidade. A expressão dessas características *in vitro* é influenciada pelas condições de crescimento: quando o *S. aureus* resistente à nafcilina é incubado a 37°C em ágar-sangue, um em cada 10⁷ microrganismos expressa resistência à nafcilina; quando incubado a 30°C em ágar contendo cloreto de sódio a 2 a 5%, um em cada 10³ microrganismos expressa tal resistência; esse fenômeno é também conhecido como resistência heterogênea.

Estrutura antigênica

Os estafilococos contêm polissacarídeos e proteínas antigênicas, bem como outras substâncias importantes na estrutura da parede celular. O peptidoglicano, um polímero de polissacarídeos contendo subunidades ligadas, proporciona o rígido esqueleto da parede celular. O peptidoglicano é destruído por ácido forte ou por exposição à lisozima, sendo importante na patogênese da infecção, pois induz a produção de interleucina 1 (pirogênio endógeno) e de anticorpos opsonicos pelos monócitos. Além disso, pode atuar como quimioatraente para os leucócitos polimorfonucleares, apresenta atividade semelhante a uma endotoxina e ativa o complemento.

Os ácidos teicoicos, que são polímeros polirribitol-fosfato, são ligados cruzadamente ao peptidoglicano e podem ser antigênicos. Em pacientes com endocardite ativa causada por *S. aureus*, pode-se verificar a presença de anticorpos contra o ácido teicoico detectáveis por difusão em gel.

A proteína A é um componente da parede celular de amostras de *S. aureus*, sendo caracterizada como uma proteína de superfície dentro do grupo de adesinas, denominadas, componentes de superfície microbiana reconhecedores de moléculas adesivas de matriz (*microbial surface components recognizing adhesive matrix molecules* [MSCRAMMs]). A fixação bacteriana à célula hospedeira é mediada por MSCRAMMs, sendo estes importantes fatores de virulência. A proteína A liga-se à porção Fc das moléculas de IgG, exceto IgG₃. A porção Fab da IgG ligada à proteína A permanece livre para combinar-se com um antígeno específico. A proteína A tornou-se um importante reagente em imunologia e na tecnologia laboratorial diagnóstica. Assim, por exemplo, a proteína A, ligada a moléculas de IgG dirigidas contra um antígeno bacteriano específico, aglutina bactérias que apresentam esse antígeno em sua superfície (“coaglutinação” [*clumping factor*]). Outro importante MSCRAMM é o fator de agregação* presente na superfície da parede celular. O fator de agregação se liga, de forma não enzimática, ao fibrinogênio e a plaquetas, resultando em agregação da bactéria. Existem muitos outros MSCRAMMs para serem descritos (ver referências) que desempenham importantes funções na colonização e invasão de *S. aureus*.

A maioria das amostras clínicas de *S. aureus* é dotada de cápsulas de origem polissacarídica que inibem a fagocitose por leucócitos polimorfonucleares, a não ser que haja anticorpos

* N. de R.T. O fator de agregação também é denominado coagulase ligada.

específicos. Pelo menos 11 sorotipos já foram identificados, onde os sorotipos 5 e 8 são responsáveis pela maioria das infecções. Esses tipos capsulares são alvos para vacinas conjugadas. Testes sorológicos apresentam utilidade limitada na indentificação dos estafilococos.

Enzimas e toxinas

Os estafilococos podem causar doença em virtude de sua capacidade de multiplicação e ampla disseminação nos tecidos, bem como pela produção de muitas substâncias extracelulares, algumas delas enzimas e outras consideradas toxinas, embora possam atuar como enzimas. Muitas das toxinas estão sob o controle genético dos plasmídeos; outras podem estar sob controle tanto cromossômico quanto extracromossômico. Em outros casos, o mecanismo de controle genético não está bem definido.

A. Catalase

Os estafilococos produzem catalase, que converte o peróxido de hidrogênio em água e oxigênio. O teste da catalase diferencia os estafilococos, que são positivos, dos estreptococos, que são negativos.

B. Coagulase e fator de agregação

S. aureus produz coagulase, uma proteína semelhante a enzima que coagula o plasma oxalatado ou citratado na presença de um fator contido no soro. A coagulase liga-se à protrombina e, juntas, tornam-se enzimaticamente ativas, iniciando a polimerização da fibrina. A coagulase pode depositar fibrina na superfície dos estafilococos, alterando talvez sua ingestão por células fagocíticas ou sua destruição no interior dessas células. A produção de coagulase é considerada sinônimo de potencial patogênico invasivo.

O fator de agregação (*clumping factor*), outro exemplo de MSCRAMM (ver anteriormente) é responsável pela aderência dos microrganismos ao fibrinogênio e à fibrina. Quando misturados com o plasma, os *S. aureus* formam agregados. O fator de agregação é distinto da coagulase. Uma vez que induz uma forte resposta imunogênica do hospedeiro. Esse antígeno tem sido investigado como possível candidato vacinal, porém até o momento nenhuma vacina humana baseada nesse fator está disponível.

C. Outras enzimas

Outras enzimas produzidas pelos estafilococos são a hialuronidase, ou fator de propagação; estafiloquinase, que provoca fibrinólise, mas tem ação muito mais lenta que a estreptoquinase; proteinases; lipases; e β -lactamase.

D. Hemolisinas

A α -hemolisina é uma proteína heterogênea que atua em um largo espectro de membranas das células eucarióticas. A β -toxina degrada a esfingomiéline sendo, portanto, tóxica para muitos tipos de célula, inclusive os eritrócitos humanos. A δ -toxina é heterogênea, dissociando-se em subunidades em detergentes não iônicos. Desestrutura membranas biológicas e pode ter um papel nas doenças diarreicas causadas por *S. aureus*. A γ hemolisina é uma leucocidina que lisa leucócitos sendo composta por duas proteínas denominadas S e F. Essa hemolisina pode interagir com duas proteínas, compreendendo

a leucocidina de Panton-Valentine (PVL) (ver adiante), para formar seis potenciais toxinas de dois componentes. Todas estas seis toxinas proteicas são capazes de lisar de maneira eficiente os leucócitos pela formação de poros nas membranas intracelulares, o que aumenta a permeabilidade dos cátions. Isso leva a uma liberação maciça de mediadores inflamatórios, como a IL 8, leucotrienos e histamina, que são responsáveis por necrose e inflamação grave.

E. Leucocidina de Panton-Valentine

A toxina PVL do *S. aureus* possui dois componentes que ao contrário das hemolisinas codificadas cromossomicamente são codificadas por um fago móvel. Essa toxina pode destruir os leucócitos humanos e de coelhos. Os dois componentes, designados como S e F, atuam sinergisticamente na membrana dos leucócitos, como descrito anteriormente para a γ toxina. Esta toxina constitui um importante fator de virulência em infecções causadas por CA-MRSA. Ambos os grupos de hemolisinas são regulados pelo gene *agr* (ver adiante).

F. Toxinas esfoliativas

As toxinas epidermolíticas do *S. aureus* são compostas por duas proteínas de massa molecular (MM) igual. A toxina esfoliativa A (esfoliatina) é codificada pelo gene *eta* localizado em um fago, sendo termoestável (resiste a fervura por 20 minutos). A esfoliatina B é mediada por plasmídeo, sendo termolábil. Essas toxinas epidermolíticas produzem descamação generalizada na síndrome estafilocócica da pele escaldada por dissolução da matriz mucopolissacarídica da epiderme. Estas toxinas são superantígenos.

G. Toxina da síndrome do choque tóxico

A maioria das cepas de *S. aureus* isoladas de pacientes com a síndrome do choque tóxico produz uma toxina denominada **toxina da síndrome do choque tóxico 1** (*toxic shock syndrome toxin-1* [TSST 1]), semelhante à enterotoxina F. A TSST 1 é o protótipo de um **superantígeno** (Cap. 8). Essa toxina se liga a molécula de histocompatibilidade principal classe II (*major histocompatibility complex* [MHC] *classe II*), levando à estimulação das células T, que promove as inúmeras manifestações da síndrome do choque tóxico. A toxina está associada a febre, choque e comprometimento multissistêmico, inclusive erupção cutânea descamativa. O gene da TSST 1 é encontrado em cerca de 20% dos isolados de *S. aureus*, inclusive MRSA.

H. Enterotoxinas

Existem várias enterotoxinas (A-E, G-J, K-R e U, V) que são consideradas superantígenos semelhantes a TSST-1. Aproximadamente 50% das cepas de *S. aureus* podem produzir uma ou mais enterotoxinas. As enterotoxinas são termoestáveis e resistem à ação das enzimas intestinais. Importante causa da intoxicação alimentar, as enterotoxinas são produzidas quando o *S. aureus* cresce em alimentos que contenham carboidratos e proteínas. A ingestão de 25 μ g de enterotoxina B resulta em vômitos e diarreia. É provável que o efeito emético da enterotoxina resulte da estimulação do sistema nervoso central (centro dos vômitos) após a toxina atuar sobre receptores neurais no intestino.

Os genes da toxina esfoliativa, da TSST 1 e das enterotoxinas estão em um elemento cromossômico chamado ilha de patogenicidade, que interage com elementos genéticos acessórios — bacteriófagos — para produzir as toxinas.

Patogênese

Os estafilococos, em particular o *S. epidermidis*, são membros da microbiota normal da pele humana, das vias respiratórias e do trato gastrointestinal. O estado de portador nasal do *S. aureus* é observado em 20 a 50% dos seres humanos. Os estafilococos também são encontrados regularmente no vestuário, nas roupas de cama e em outros fômites em ambientes humanos.

A capacidade patogênica de uma determinada cepa de *S. aureus* reside no efeito combinado dos fatores extracelulares e toxinas, juntamente com as propriedades invasivas da cepa. Em uma extremidade do espectro patológico encontra-se a intoxicação alimentar estafilocócica, atribuível meramente à ingestão de enterotoxina pré-formada; no outro extremo, estão a bacteremia estafilocócica e abscessos disseminados em todos os órgãos.

O *S. aureus* patogênico e invasivo produz coagulase, tendendo a formar um pigmento amarelo e ser hemolítico. Os estafilococos não patogênicos e não invasivos, como o *S. epidermidis*, são coagulase-negativos e tendem a ser não hemolíticos, raramente provocando supuração, mas podem infectar próteses ortopédicas ou cardiovasculares, ou causar doença em indivíduos imunossuprimidos. Podem ser refratários ao tratamento devido à formação de biofilmes. *S. lugdunensis* tem emergido como um patógeno associado a um espectro de infecções similar ao do *S. aureus*. Além disso, essas duas espécies compartilham características fenotípicas, como as hemolisinas e o fator de agregação. Em geral, o *S. saprophyticus* não é pigmentado, mostra-se resistente à novobiocina e não é hemolítico, e causa infecções das vias urinárias em mulheres jovens.

Regulação dos determinantes da virulência

A expressão dos determinantes de virulência em estafilococos é regulada por diversos sistemas sensíveis que reagem aos sinais do ambiente. O primeiro desses sistemas consiste em duas proteínas (sistema de dois componentes), como, por exemplo, o gene regulador acessório (*accessory gene regulator* [*agr*]). Outros dois sistemas incluem as proteínas de ligação a DNA (p. ex. proteínas *sar*) e os pequenos RNAs reguladores (microRNAs; p. ex. RNAIII). A ligação dos sensores a ligantes extracelulares específicos, ou a um receptor, resulta na cascata de fosforilação que leva à ligação do regulador a uma sequência de DNA específica, a qual leva posteriormente à ativação das funções de regulação-transcrição. Existem diversos sistemas regulatórios de dois componentes em *S. aureus*, como *agr*, o mais bem descrito, *saeRS*, *srrAB*, *arlSR* e *lytRS*. Um resumo de como esses sistemas interagem está brevemente descrito a seguir.

O gene regulador acessório (*agr*) é essencial no controle por *quorum sensing* da expressão gênica. Ele controla a expressão preferencial das adesinas de superfície (proteína A, coagulase e proteína de ligação ao fibrinogênio) e a produção de exoproteínas (toxinas tipo TSST 1), dependendo do momento da fase de crescimento (e, portanto, da densidade bacteriana).

Em baixa densidade celular, o promotor P2 fica reprimido, e a transcrição da proteína transmembrana, AgrB; peptídeo

precursor, AgrD; sensor transmembrana, AgrC; e o regulador da transcrição, AgrA, estão em baixos níveis. Como a densidade celular aumenta durante a fase estacionária de crescimento, o sensor AgrC ativa o regulador AgrA, uma proteína de ligação ao DNA que ativa os promotores P2 e P3. O promotor P3 inicia a transcrição da δ hemolisina e um efector chamado RNAlII, que reprime a expressão das adesinas de superfície e ativa a secreção de exoproteínas em níveis transcricional e de tradução. Agr também é controlado positivamente por uma proteína de ligação ao DNA chamada *SarA* (codificada por *sar*) e possivelmente por outros sistemas regulatórios.

Comprovou-se que pelo menos quatro sistemas regulatórios de dois outros componentes afetam a expressão dos genes de virulência, sendo chamados *sae*, exoproteínas de *S. aureus*; *srrAB*, *staphylococcal respiratory response*; *arlS*, sensor relacionado com o locus de autólise; e *lytRS*. *Sae* regula a expressão gênica em nível transcricional, sendo essencial para a produção de α -toxina, β -hemolisinas e coagulase. Sua atividade independente da atividade de *agr*. *SrrAB* é importante na regulação da expressão dos fatores de virulência influenciados pelo oxigênio do ambiente. O locus *arlSR* é importante no controle da autólise e diminui a ativação do locus *agr*. O locus *lytRS* também está envolvido na autólise.

Patologia

O protótipo de uma lesão estafilocócica é o furúnculo ou outros abscessos localizados. O *S. aureus* estabelecido em grupos, em um folículo piloso, provoca necrose tecidual (fator dermonecrotico). A coagulase produzida coagula a fibrina ao redor da lesão e no interior dos vasos linfáticos, resultando na formação de uma parede que limita o processo, sendo reforçada pelo acúmulo de células inflamatórias e, posteriormente, de tecido fibroso. No centro da lesão, ocorre liquefação do tecido necrótico (intensificada por hipersensibilidade tardia), e o abscesso “aponta” na direção da menor resistência. A drenagem do líquido do centro do tecido necrótico é seguida de lento preenchimento da cavidade por tecido de granulação, com cicatrização final.

A supuração focal (abscesso) é típica da infecção estafilocócica. A partir de qualquer foco, os microrganismos podem propagar-se, através dos vasos linfáticos e da corrente sanguínea, para outras partes do corpo. A supuração no interior das veias, associada à trombose, constitui uma característica comum dessa disseminação. Na osteomielite, o foco primário de crescimento do *S. aureus* consiste, em geral, em um vaso sanguíneo terminal da metáfise de um osso longo, resultando em necrose do osso e supuração crônica. O *S. aureus* pode causar pneumonia, meningite, empiema, endocardite ou sepse, com supuração em qualquer órgão. Os estafilococos pouco invasivos estão envolvidos em muitas infecções cutâneas (p. ex., acne, piodermatite ou impetigo). Os cocos anaeróbios (espécies de *Peptostreptococcus*) participam das infecções anaeróbias mistas.

Os estafilococos também causam doença graças à elaboração de toxinas, sem infecção invasiva aparente. A esfoliação bolhosa — a síndrome da pele escaldada — é causada pela produção de toxina esfoliativa. A síndrome do choque tóxico está associada à TSST 1.

Manifestações clínicas

A infecção estafilocócica localizada aparece em forma de “espinha”, infecção de folículo piloso ou abscesso. Em geral, verifica-se intensa reação inflamatória localizada e dolorosa que sofre supuração central e cicatriza rapidamente quando o pus é drenado. A parede de fibrina e células em torno do centro do abscesso tende a impedir a disseminação dos microrganismos, não devendo ser rompida por manipulação ou traumatismo.

A infecção por *S. aureus* também pode resultar da contaminação direta de uma ferida, como, por exemplo, infecção estafilocócica pós-operatória da ferida ou infecção após traumatismo (osteomielite crônica após fratura exposta, meningite após fratura do crânio).

Se houver disseminação do *S. aureus* e bacteriemia, poderá ocorrer endocardite, osteomielite hematogênica aguda, meningite ou infecção pulmonar. O quadro clínico assemelha-se ao observado em outras infecções hematogênicas. A localização secundária em determinado órgão ou sistema é acompanhada de sinais e sintomas de disfunção orgânica, bem como intensa supuração focal.

A intoxicação alimentar causada por enterotoxina estafilocócica caracteriza-se por um curto período de incubação (1 a 8 h), náuseas violentas, vômitos e diarreia, assim como rápida convalescença. Não ocorre febre.

A síndrome do choque tóxico manifesta-se por início abrupto com febre alta, vômitos, diarreia, mialgias, erupção escarlatiforme e hipotensão, com insuficiência cardíaca e renal nos casos mais graves. Com frequência, esta síndrome ocorre até 5 dias após o início da menstruação em mulheres jovens que usam tampões higiênicos de alta absorção, mas também é observada em crianças e em homens com infecções de feridas por estafilococos. A síndrome pode ter recidiva. O *S. aureus* associado à síndrome do choque tóxico pode ser encontrado na vagina, em tampões higiênicos, feridas ou outras infecções localizadas, ou na garganta, mas praticamente nunca na corrente sanguínea.

Exames diagnósticos laboratoriais

A. Amostras

São amostras apropriadas para cultivo: pus coletado por *swab* de superfície ou aspirado a partir de um abscesso, sangue, aspirado traqueal ou líquido cerebrospinal para cultura, dependendo da localização do processo infeccioso. A nasofaringe anterior é a região para coleta de material por *swab* para determinação de colonização nasal tanto por cultura clássica quanto por testes de amplificação do ácido nucleico.

B. Esfregaços

Estafilococos típicos aparecem como cocos gram-positivos em aglomerados, em esfregaços corados de pus ou escarro. Não é possível distinguir os microrganismos saprofíticos (*S. epidermidis*) dos patogênicos (*S. aureus*) nos esfregaços.

C. Cultura

As amostras semeadas em placas de ágar-sangue produzem colônias típicas em 18 horas a 37°C, porém a hemólise e a

formação de pigmento podem não ocorrer em um prazo de alguns dias, sendo seu aparecimento ótimo à temperatura ambiente. O *S. aureus*, mas não outros estafilococos, fermenta o manitol. As amostras contaminadas com microbiota mista podem ser cultivadas em meio que contenha NaCl a 7,5%; o sal inibe a maior parte da microbiota normal, mas não o *S. aureus*. Utilizam-se ágar com manitol hipertônico ou meio cromogênico disponível comercialmente para rastreamento dos portadores nasais de *S. aureus* e pacientes com fibrose cística.

D. Teste da catalase

Teste usado para detectar a presença de enzimas citocromo oxidase. Deposita-se uma gota de solução de peróxido de hidrogênio a 3% sobre uma lâmina e acrescenta-se uma pequena quantidade do crescimento bacteriano na solução. A formação de bolhas (liberação de oxigênio) indica resultado positivo no teste.

E. Teste da coagulase

O plasma citratado de coelhos (ou de seres humanos), diluído a 1:5, é misturado com um volume igual de caldo de cultura ou crescimento de colônias em ágar, sendo incubado a 37°C. Um tubo de plasma misturado com caldo estéril é incluído como controle. Se houver a formação de coágulos em 1 a 4 horas, o resultado do teste será positivo.

Os estafilococos coagulase-positivos são considerados patogênicos para os seres humanos; entretanto, os estafilococos coagulase-positivos de cães (*Staphylococcus intermedius*) e golfinhos (*Staphylococcus delphini*) raramente causam doença em seres humanos. As infecções de próteses podem ser causadas por microrganismos do grupo do *S. epidermidis* coagulase-negativo.

F. Teste de sensibilidade

Deve-se fazer o teste de microdiluição em caldo ou por difusão em disco rotineiramente com estafilococos isolados de infecções clinicamente significativas. É possível prever a resistência à penicilina G pelo resultado do teste positivo para a β -lactamase; cerca de 90% de *S. aureus* produzem β -lactamase. A resistência à nafcilina (e à oxacilina, bem como à meticilina) ocorre em cerca de 65% de *S. aureus* e aproximadamente 75% de *S. epidermidis*. A resistência à nafcilina (ou à oxacilina) correlaciona-se com a presença de *mecA*, o gene que codifica uma proteína de ligação à penicilina (PBP2a) que não é afetada por esses fármacos. O gene pode ser detectado por meio da reação em cadeia da polimerase (PCR). A maior parte dos laboratórios clínicos usa métodos fenotípicos, como o rastreamento em placas de ágar contendo oxacilina. Os estafilococos que crescem em ágar Muller-Hinton contendo 4% de NaCl e 6 μ g/mL de oxacilina, em geral, são positivos para o gene *mecA* e resistentes à oxacilina/nafcilina. Alternativamente, um teste para detecção do produto do gene *mecA*, a PBP2a, está disponível comercialmente, sendo muito mais rápido que uma PCR para detecção de *mecA* ou outros testes para a resistência que empreguem meios de crescimento em ágar com oxacilina.

G. Testes sorológicos e tipagem

Os testes sorológicos para o diagnóstico de infecções por *S. aureus* têm pouco valor prático.

Os padrões de sensibilidade a antibióticos mostram-se úteis na avaliação das infecções por *S. aureus* e para determinar se vários isolados do *S. epidermidis* de hemoculturas representam bacteriemia causada pela mesma cepa, disseminada por um nicho de infecção.

As técnicas de tipagem molecular têm sido utilizadas para documentar a disseminação de clones do *S. aureus* produtores de doença epidêmica. A eletroforese em gel de campo pulsado (PFGE) e a tipagem por sequenciamento de múltiplos *locus* (MLST) são altamente discriminativas.

Tratamento

A maioria dos indivíduos abriga estafilococos na pele, no nariz ou na garganta. Mesmo que fosse possível remover da pele os estafilococos (p. ex., no eczema), ocorreria reinfeção quase imediatamente por perdigotos. Como os microrganismos patogênicos se disseminam geralmente a partir de uma lesão (p. ex., furúnculo) para outras áreas da pele por meio dos dedos e das roupas, é importante proceder a uma rigorosa assepsia local para controlar a furunculose recidivante.

As infecções cutâneas múltiplas graves (acne, furunculose) ocorrem mais frequentemente em adolescentes. Verifica-se a ocorrência de infecções cutâneas semelhantes em pacientes que recebem tratamento prolongado com corticosteroides. Na acne, as lipases dos estafilococos e das corinebactérias liberam ácidos graxos dos lipídeos e, assim, causam irritação tecidual. As tetraciclinas são utilizadas para tratamento a longo prazo.

Abscessos e outras lesões supurativas fechadas são tratados por drenagem, que é essencial, e terapia com antimicrobianos, muitos dos quais exercem algum efeito contra os estafilococos *in vitro*, mas é difícil erradicar os estafilococos patogênicos dos indivíduos infectados, visto que os microrganismos desenvolvem rapidamente resistência a muitos antimicrobianos, e os fármacos não conseguem atuar na parte necrótica central da lesão supurativa. Além disso, é difícil erradicar o estado de portador de *S. aureus*.

A osteomielite hematogênica aguda responde satisfatoriamente aos antimicrobianos. Na osteomielite crônica e recidivante, a drenagem cirúrgica e remoção do osso morto são acompanhadas de administração prolongada de fármacos apropriados, embora seja difícil erradicar os estafilococos infectantes. Oxigênio hiperbárico e aplicação de retalhos miocutâneos vascularizados ajudam na cicatrização em caso de osteomielite crônica.

A bacteriemia, a endocardite, a pneumonia e outras infecções causadas por *S. aureus* exigem tratamento intravenoso prolongado com penicilina resistente à β -lactamase. Com frequência, a vancomicina é reservada para os estafilococos resistentes à nafcilina. Nos últimos anos, o aumento da concentração inibitória mínima (MIC) à vancomicina, entre diversas cepas de MRSA isoladas de pacientes hospitalizados levaram os clínicos a procurar outras terapias. Os agentes alternativos para o tratamento de bacteriemias e endocardites por MRSA incluem novos antimicrobianos, como a daptomicina, linezolida e dalfopristina-quinopristina (ver Cap. 28). Além disso, estes agentes podem ser bactericidas e oferecem alternativas quando alergias impedem o emprego de outros compostos ou quando ocorrer falha clínica no tratamento. Entretanto, o uso desses agentes deve ser discutido com os infectologistas e farmacêuticos, pois os efeitos colaterais e a farmacocinética são característicos de cada agente.

Há pouco tempo, uma nova classe de cefalosporinas denominada ceftarolina, que apresenta atividade contra MRSA (outras bactérias gram-positivas e algumas gram-negativas) foi aprovada para o tratamento de infecções cutâneas de tecidos moles e de pneumonias comunitárias. Esse fármaco ainda não apresenta indicação para o tratamento de bacteriemias. Se a infecção for causada por *S. aureus* não produtor de β -lactamase, a penicilina G é o fármaco de escolha, mas atualmente essas cepas de *S. aureus* raramente são encontradas.

É difícil curar as infecções por *S. epidermidis*, visto que ocorrem em próteses em que as bactérias podem ser sequestradas da circulação em um biofilme. O *S. epidermidis* é mais frequentemente resistente a antimicrobianos do que o *S. aureus*; cerca de 75% das cepas de *S. epidermidis* são resistentes à nafcilina.

Devido à frequência de cepas resistentes a fármacos, é conveniente fazer antibiogramas com os estafilococos isolados para ajudar na escolha dos fármacos sistêmicos. A resistência a fármacos do grupo da eritromicina tende a surgir tão rapidamente que eles não devem ser utilizados isoladamente no tratamento de infecção crônica. A resistência a fármacos (penicilinas, tetraciclínas, aminoglicosídeos, eritromicinas, etc.) determinada pelos plasmídeos pode ser transmitida entre os estafilococos por transdução e talvez por conjugação.

As cepas de *S. aureus* resistentes à penicilina G, provenientes de infecções clínicas, sempre produzem penicilinase. No momento, *S. aureus* isolados em comunidades nos EUA constituem mais de 95%. Com frequência, mostram-se sensíveis a penicilinas resistentes à β -lactamase, às cefalosporinas ou à vancomicina. A resistência à nafcilina independe da produção de β -lactamase, e sua incidência clínica varia acentuadamente em diferentes países e épocas. A pressão seletiva dos antimicrobianos resistentes a β -lactamases pode não constituir o único determinante na resistência a esses fármacos: na Dinamarca, por exemplo, o *S. aureus* resistente à nafcilina representou 40% dos microrganismos isolados em 1970 e apenas 10% em 1980, sem qualquer alteração notável no uso da nafcilina ou de fármacos semelhantes. Nos EUA, o *S. aureus* resistente à nafcilina foi responsável por apenas 0,1% dos microrganismos isolados em 1970, mas na década de 1990 passou a constituir 20 a 30% dos microrganismos isolados de infecções em alguns hospitais. Em 2003, 60% dos *S. aureus* isolados em unidades de tratamento intensivo (UTI) hospitalares eram resistentes à nafcilina. Felizmente, os isolados de *S. aureus* de sensibilidade intermediária à vancomicina têm sido relativamente incomuns, e o isolamento de cepas resistentes à vancomicina é raro.

Epidemiologia e controle

Os estafilococos são parasitos humanos onipresentes. As principais fontes de infecção consistem em lesões humanas, fômites contaminados por essas lesões, vias respiratórias e pele humana. A propagação da infecção por contato assumiu maior importância nos hospitais, onde grande proporção da equipe e dos pacientes abriga estafilococos resistentes a antibióticos no nariz ou na pele. Embora a limpeza, a higiene e a manipulação asséptica das lesões possam controlar a disseminação dos estafilococos a partir das lesões, dispõe-se de poucos métodos para impedir a ampla disseminação dos estafilococos a partir dos portadores. Os aerossóis (p. ex., glicóis) e a irradiação ultravioleta do ar têm pouco efeito.

Nos hospitais, as áreas de maior risco de infecções estafilocócicas graves são os berçários, as unidades de tratamento intensivo, o centro cirúrgico e as enfermarias de quimioterapia para tratamento do câncer. A introdução maciça de *S. aureus* patogênico “epidêmico” nessas áreas pode resultar em doença clínica grave. Os indivíduos com lesões ativas por *S. aureus* e os portadores devem ser excluídos dessas áreas. Em tais indivíduos, a aplicação de antissépticos tópicos, como a mupirocina, no nariz ou no períneo pode diminuir a disseminação de microrganismos perigosos. A rifampicina, associada a um segundo fármaco antiestafilocócico oral, às vezes proporciona supressão por longo tempo e possivelmente a eliminação do estado de portador nasal; em geral, essa forma de tratamento é reservada para os graves problemas de portador estafilocócico, visto que esses microrganismos têm a capacidade de desenvolver rapidamente resistência à rifampicina.

Para diminuir a transmissão dentro de hospitais, os pacientes de alto risco, como os internados em unidades de tratamento intensivo e pacientes transferidos para enfermarias de recuperação de pacientes crônicos, em que a prevalência é alta, precisam ser monitorados com frequência quanto à colonização das narinas anteriores. Os pacientes com culturas ou PCR positivas devem ser colocados sob precauções de contato (isolamento), para se minimizar a disseminação pelo manuseio por agentes de saúde. Os agentes de saúde devem seguir estritamente as normas de controle de infecção, usando luvas e lavando as mãos antes e depois do contato com o paciente.

Até pouco tempo, os pacientes infectados com MRSA eram confinados principalmente em hospitais. A disseminação mundial de poucos clones distintos das cepas comunitárias CA-MRSA resultou em aumento das infecções de pele e tecidos superficiais, bem como pneumonia necrosante, principalmente em pacientes jovens sem fatores de risco conhecidos para aquisição de MRSA. Essas cepas parecem mais virulentas. Os isolados de CA-MRSA são caracterizados pela presença da PVL e do SCCmec tipo IV, o que pode explicar a maior sensibilidade a outros agentes antimicrobianos quando comparados com as cepas de MRSA de origem hospitalar.

RESUMO DO CAPÍTULO

- As espécies de *Staphylococcus* são catalase-positivas, gram-positivas que crescem em agregados e são habitantes comuns da pele e das mucosas humanas de diferentes animais.
- O principal patógeno do gênero *Staphylococcus* é o *S. aureus*. Esse microrganismo provoca hemólise em ágar-sangue é positivo para o teste da coagulase e produz uma variedade de enzimas extracelulares e toxinas que o tornam virulento.
- *S. aureus* apresenta um sistema regulatório complexo, que responde a estímulos ambientais para a expressão de vários dos seus genes de virulência codificados em ilhas de patogenicidade.
- O *S. aureus* está associado a uma ampla variedade de infecções invasivas e toxigênicas. Os *Staphylococcus* coagulase negativos são menos virulentos e estão geralmente mais associados à infecções oportunistas (*S. epidermidis*) ou síndromes específicas como o *S. saprophyticus* que provoca infecções do trato urinário.

- A resistência a antimicrobianos entre as espécies de *Staphylococcus* é bem ampla e é codificada por uma variedade de mecanismos, como a produção de β -lactamases, expressão de PBP alterada (PBP2a) e codificada pelo gene cromossomal *mecA*, entre outros determinantes de resistência.

QUESTÕES DE REVISÃO

1. Uma mulher de 54 anos de idade desenvolve um abscesso no ombro direito causado por uma cepa de *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) resistente à nafcilina. Foi tratada durante duas semanas com vancomicina intravenosa e melhorou. Três semanas depois (5ª semana), a infecção reapareceu, e a paciente recebeu vancomicina intravenosa por mais duas semanas, melhorando novamente. Quatro semanas mais tarde (11ª semana), a infecção retornou, e a paciente foi de novo submetida à vancomicina intravenosa. A concentração inibitória mínima (CIM) para a vancomicina dos isolados de *S. aureus* foi: primeiro isolado (1ª dia), 1 $\mu\text{g/mL}$; 5ª semana, 2 $\mu\text{g/mL}$; e 11ª semana, 8 $\mu\text{g/mL}$. A paciente não apresentou mais melhora no terceiro tratamento com vancomicina, e foi empregada outra terapia. O mecanismo que melhor explica a resistência da cepa do *S. aureus* dessa paciente à vancomicina é:
 - (A) Aquisição do gene *vanA* de outro microrganismo
 - (B) Transporte ativo da vancomicina para fora da célula do *S. aureus*
 - (C) Ação da β -lactamase
 - (D) Síntese aumentada da parede celular e alterações na estrutura da parede celular
 - (E) Fosforilação e resultante inativação da vancomicina
2. Um menino de 11 anos de idade desenvolve febre moderada e dor na parte superior de um braço. Uma radiografia do braço mostrou uma lesão lítica (dissolução) na parte superior do úmero com elevação periosteal sobre a lesão. O paciente foi encaminhado para cirurgia, tendo sido feito desbridamento da lesão (remoção de tecido ósseo morto e pus). A cultura da lesão apresentou cocos gram-positivos. Os testes culturais mostraram que o microrganismo era um estafilococo, e não um estreptococo. Com base nesta informação, você sabe que o microrganismo é:
 - (A) Sensível à nafcilina
 - (B) β -Lactamase-positivo
 - (C) Produtor de proteína A
 - (D) Encapsulado
 - (E) Catalase-positivo
3. Um homem, de 36 anos de idade, teve um abscesso com uma cepa do *S. aureus* β -lactamase-positivo. Isso indica que o microrganismo é resistente a quais dos seguintes antimicrobianos?
 - (A) Penicilina G, ampicilina e piperacilina
 - (B) Sulfametoxazol-trimetoprima
 - (C) Eritromicina, claritromicina e azitromicina
 - (D) Vancomicina
 - (E) Cefazolina e ceftriaxona
4. Há 7 dias, uma estudante de medicina de 27 anos de idade retornou da América Central, onde passou o verão trabalhando em uma clínica de atendimento a pessoas de uma comunidade indígena. Há 4 dias, desenvolveu um eritema semelhante a queimadura de sol, tendo também dor de cabeça, dores musculares e cólicas abdominais com diarreia. A pressão sanguínea está em 70/40 mmHg. Ao exame pélvico, foi constatado que durante o período menstrual, ela utilizou um absorvente interno; afora isso, o exame pélvico mostrou-se normal. Os testes de função renal (ureia e creatinina sérica) mostraram resultados alterados, indicando falência renal moderada. O teste em lâmina para malária deu resultado negativo. Sua doença provavelmente está sendo causada por uma:
 - (A) Toxina que resulta em níveis mais altos de adenosina monofosfato cíclico intracelular (cAMP)
 - (B) Toxina que degrada a esfingomiélin
 - (C) Toxina que se liga ao complexo principal de histocompatibilidade classe II (MHC classe II) de uma célula apresentadora de antígeno e na região V β de uma célula T
 - (D) Toxina de dois componentes que forma poros em leucócitos e aumenta a permeabilidade aos cátions
 - (E) Toxina que bloqueia o fator de alongação 2 (EF2)
5. Em um período de 3 semanas, cinco recém-nascidos em uma enfermaria hospitalar desenvolveram infecção e bacteriemia por *S. aureus*. Todos os isolados tinham a mesma morfologia colonial, bem como idênticas propriedades hemolíticas e padrões de sensibilidade aos antimicrobianos, sugerindo serem os mesmos (a análise posterior por métodos moleculares mostrou que os isolados eram idênticos). Qual das seguintes alternativas deve ser agora seguida?
 - (A) Tratamento profilático dos recém-nascidos com vancomicina intravenosa
 - (B) Isolamento protetor dos recém-nascidos
 - (C) Fechamento da enfermaria e transferência das mulheres grávidas para outro hospital
 - (D) Contratação de nova equipe para as enfermarias do hospital
 - (E) Cultura empregando ágar-manitol hipertônico das narinas anteriores dos médicos, das enfermeiras e de todos os que trabalham em contato direto com os bebês
6. Toxinas esfoliativas, TSST 1 e enterotoxinas são superantígenos. Os genes para essas toxinas estão:
 - (A) Presentes em todas as cepas de *S. aureus*
 - (B) Amplamente distribuídos no cromossomo dos estafilococos
 - (C) Tanto no cromossomo (TSST 1 e toxina esfoliativa) quanto nos plasmídeos (enterotoxinas) dos estafilococos
 - (D) No cromossomo dos estafilococos em uma ilha de patogenicidade
 - (E) Nos plasmídeos
7. Em um paciente de 16 anos de idade que recebeu transplante de medula óssea foi instalado um cateter venoso central que permaneceu por duas semanas. Também foi colocado um cateter urinário, igualmente por duas semanas. O paciente desenvolveu febre, e seus leucócitos estavam muito baixos antes do transplante. Três hemoculturas foram feitas, e nas três houve o crescimento de *Staphylococcus epidermidis*. Qual das seguintes afirmativas está correta?
 - (A) Os *S. epidermidis* isolados provavelmente são sensíveis à penicilina G
 - (B) Os *S. epidermidis* isolados provavelmente estavam na superfície do cateter urinário
 - (C) Os *S. epidermidis* isolados provavelmente são resistentes à vancomicina
 - (D) Os *S. epidermidis* isolados provavelmente são originários da pele
 - (E) Os *S. epidermidis* isolados provavelmente estão em um biofilme na superfície do cateter venoso central

8. Um homem de 65 anos de idade desenvolve um abscesso na parte posterior do pescoço. A cultura mostra a presença do *S. aureus*. O isolado é testado e dá resultado positivo para o gene *mecA*, significando que o isolado é:
- Sensível à vancomicina
 - Resistente à vancomicina
 - Sensível à nafcilina
 - Resistente à nafcilina
 - Sensível à clindamicina
 - Resistente à clindamicina
9. A resistência aos antimicrobianos tornou-se um problema significativo. Qual das seguintes alternativas é uma das principais preocupações no mundo inteiro?
- Resistência à nafcilina em *S. aureus*
 - Resistência à penicilina em *Streptococcus pneumoniae*
 - Resistência à penicilina em *Neisseria gonorrhoeae*
 - Resistência à vancomicina em *S. aureus*
 - Resistência à tobramicina em *Escherichia coli*
10. Um grupo de seis crianças menores de 8 anos vive em um país semitropical. Cada uma tem diversas feridas com crostas e lesões na pele decorrentes de impetigo (piodermite). As lesões predominam na área dos braços e na face. Qual dos seguintes microrganismos é o provável causador dessas lesões?
- Escherichia coli*
 - Chlamydia trachomatis*
 - S. aureus*
 - Streptococcus pneumoniae*
 - Bacillus anthracis*
11. Qual das seguintes afirmativas em relação ao papel da proteína A em infecções causadas por *S. aureus* está correta?
- Essa proteína é responsável pelo eritema na síndrome do choque tóxico
 - Converte o peróxido de hidrogênio em água e oxigênio
 - É uma potente enterotoxina
 - É diretamente responsável pela lise de neutrófilos
 - É uma proteína de superfície bacteriana que se liga à porção Fc de IgG1
12. Qual dos seguintes estafilococos produz coagulase e está associado a infecções por mordida de cães?
- S. intermedius*
 - S. epidermidis*
 - S. saprophyticus*
 - S. hominis*
 - S. hemolyticus*
13. Todas as afirmativas a respeito da leucocidina de Panton-Valentine estão corretas, exceto:
- É uma toxina de dois componentes
 - É normalmente produzida por cepas MRSA comunitárias (CA-MRSA)
 - É um importante fator de virulência
 - É idêntica a uma das enterotoxinas estafilocócicas
 - Forma poros nas membranas dos leucócitos
14. Qual das seguintes afirmativas melhor descreve a função do gene acessório regulador (*agr*) em *S. aureus*?
- Esse gene regula a produção de β -hemolisinas
 - É influenciado pelo oxigênio ambiental
 - Controla a expressão preferencial de adesinas de superfície
 - É importante no controle da autólise
15. Todas as seguintes alternativas são importantes nas estratégias de controle de infecções para contenção da disseminação de MRSA em hospitais, exceto:
- Agressiva higiene das mãos
 - Vigilância rotineira de colonização nasal em indivíduos de alto risco
 - Isolamento de pacientes que estão colonizados ou infectados por MRSA
 - Profilaxia antimicrobiana de rotina para todos os pacientes hospitalizados por mais de 48 horas
 - Manuseio asséptico de lesões de pele

Respostas

- | | | | |
|------|------|-------|-------|
| 1. D | 5. E | 9. D | 13. D |
| 2. E | 6. D | 10. C | 14. C |
| 3. A | 7. E | 11. E | 15. D |
| 4. C | 8. D | 12. A | |

REFERÊNCIAS

- Bronner S, Monteil H, Prévost G: Regulation of virulence determinants in *Staphylococcus aureus*: Complexity and applications. *FEMS Microbiol Rev* 2004;28:183–200.
- Novick RP, Schlievert P, Ruzin A: Pathogenicity and resistance islands of staphylococci. *Microbes Infect* 2001;3:585.
- Que, YA, Moreillon P: *Staphylococcus aureus* (including staphylococcal toxic shock). In Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (editors). *Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*, 7th ed. Churchill Livingstone Elsevier, 2009.
- Rivera J, Vannakambadi G, Hook M, Speziale P: Fibrinogen-binding proteins of Gram-positive bacteria. *Thromb Haemost* 2007; 98:503.
- Winn WC, Allen SD, Janda WM et al. (editors): Gram-positive cocci, Part I: Staphylococci and related gram-positive cocci. In Winn WC Jr, Allen SD, Janda WM et al. (editors). *Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology*, 6th ed. Lippincott Williams and Wilkins, 2006, p. 623.

Estreptococos, enterococos e outros gêneros relacionados

Os estreptococos são bactérias gram-positivas esféricas que de maneira típica formam pares ou cadeias durante o crescimento, e estão distribuídos em ampla escala pela natureza. Alguns são membros da microbiota humana normal, enquanto outros estão associados a doenças humanas importantes, atribuíveis diretamente à infecção pelo estreptococos, ou indiretamente pela própria resposta imunológica contra esses patógenos. Os estreptococos elaboram uma variedade de substâncias extracelulares e enzimas.

Os estreptococos formam um grupo heterogêneo de bactérias, de modo que nenhum sistema é suficientemente adequado para classificá-los. No entanto, compreender a sua taxonomia é a chave para se entender sua importância médica.

CLASSIFICAÇÃO DOS ESTREPTOCOCOS

Durante muitos anos, a classificação dos estreptococos em categorias principais tem sido baseada em uma série de observações: (1) morfologia das colônias e reações hemolíticas em ágar-sangue, (2) especificidade sorológica da substância da parede celular específica do grupo (antígenos de Lancefield) e outros antígenos capsulares, ou da parede celular, (3) reações bioquímicas, bem como resistência a fatores físicos e químicos e (4) aspectos ecológicos. A genética molecular também tem sido utilizada para o estudo dos estreptococos. As combinações dos métodos citados possibilitaram a classificação dos estreptococos para fins clínicos e epidemiológicos — mas, com a evolução dos conhecimentos, novos métodos têm sido introduzidos, resultando em várias classificações descritas. Em alguns casos, diferentes nomes de espécies são empregados para descrever o mesmo microrganismo; em outros, alguns membros da mesma espécie são incluídos em outras espécies ou classificados separadamente. O gênero *Enterococcus*, por exemplo, inclui atualmente algumas espécies anteriormente classificadas como estreptococos do grupo D. A classificação dos estreptococos, apresentada adiante e resumida no Quadro 14.1, constitui uma abordagem lógica.

A. Hemólise

Muitos estreptococos são capazes de hemolisar hemácias *in vitro* em vários níveis. A completa ruptura dos eritrócitos com um clareamento em torno da região de crescimento bacteriano (colônia) é chamada de β -hemólise. A lise incompleta

dos eritrócitos com a redução da hemoglobina e formação de um pigmento esverdeado denomina-se α -hemólise. Outros estreptococos são não hemolíticos (às vezes chamados γ -hemolíticos).

Os padrões de hemólise em estreptococos de importância clínica para os seres humanos são mostrados no Quadro 14.1. A classificação dos padrões hemolíticos é utilizada primariamente para os estreptococos, e não para as outras bactérias que causam doença, e é comum que produzam uma variedade de hemolisinas.

B. Substância específica do grupo (classificação de Lancefield)

Este carboidrato encontra-se presente na parede celular de muitos estreptococos e forma as bases do grupamento sorológico nos **grupos de Lancefield A a H e K a U**. A especificidade sorológica de um carboidrato específico do grupo é determinada por um aminoaçúcar. Para os estreptococos do grupo A, uma ramnose-*N*-acetil glucosamina; para os do grupo B, um polissacarídeo ramnose-glicosamina; para os do grupo C, uma ramnose-*N*-acetil galactosamina; para os do grupo D, um glicerol-ácido teicoico contendo d-alanina e glicose; e, para os do grupo F, uma glicopiranosil-*N*-acetil galactosamina.

Extratos de antígenos específicos do grupo para o grupamento de estreptococos são preparados por uma variedade de métodos, incluindo extração de cultura centrifugada tratada com ácido clorídrico, ácido nítrico ou formamida; por lise enzimática de células de estreptococos (p. ex., com pepsina ou tripsina); ou por autoclavagem de suspensões celulares. Estes extratos contêm a substância específica do grupo carboidrato que irá produzir reações de precipitação com antissoros específicos, o que possibilita o arranjo de muitos estreptococos em grupos A a H e K a U. A tipagem é feita geralmente para os grupos A, B, C, F e G (Quadro 14.1), que estão associados a doenças em seres humanos e para os quais há disponibilidade de reagentes que permitem a tipagem por meio de reações de aglutinação simples ou colorimétricas.

C. Polissacarídeos capsulares

A especificidade antigênica dos polissacarídeos capsulares é utilizada para classificar o *S. pneumoniae* em 90 tipos e tipar os estreptococos do grupo B (*S. agalactiae*).

QUADRO 14.1 Características dos estreptococos clinicamente importantes

Nome	Substância específica do grupo ^a	Hemólise ^b	Habitat	Critérios laboratoriais importantes	Doenças comuns e importantes
<i>Streptococcus pyogenes</i>	A	β	Garganta, pele	Colônias grandes (> 0,5 mm), teste PYR ^c positivo, inibidas pela bacitracina	Faringite, impetigo, febre reumática, glomerulonefrite, choque tóxico
<i>Streptococcus agalactiae</i>	B	β	Trato genital feminino, trato GI baixo	Hidrólise do hipurato, teste CAMP positivo ^d	Sepse neonatal e meningite, bacteriemia em adultos
<i>Streptococcus dysgalactiae</i> subespécies <i>equisimilis</i> , outros	C, G	β (infecções humanas), α, nenhuma	Garganta	Colônias grandes (> 0,5 mm)	Faringite, infecções piogênicas similares aos dos estreptococos do grupo A
<i>Enterococcus faecalis</i> (e outros enterococos)	D	Ausência, α	Colo	Crescimento em presença de bile hidrolisa a esculina, crescimento em presença de NaCl a 6,5%, PYR-positivo	Abscesso abdominal, infecção do trato urinário, endocardite
Grupo <i>Streptococcus bovis</i>	D	Ausência	Colo, trato biliar	Crescimento em presença de bile hidrolisa a esculina, ausência de crescimento em NaCl a 6,5% degrada amido	Endocardite, normalmente isolada no sangue em câncer de colo, doença biliar
Grupo <i>Streptococcus anginosus</i> (<i>S. anginosus</i> , <i>S. intermedius</i> , <i>S. constellatus</i> , grupo <i>S. milieri</i>)	F (A, C, G) e não tipável	α, β, ausência	Garganta, colo, trato genital feminino	Colônias pequenas (< 0,5 mm) variantes de espécies β-hemolíticas. Grupo A são resistentes a bacitracina e PYR-negativas. Padrão de fermentação de carboidratos	Infecções piogênicas, inclusive abscessos do cérebro
Estreptococos <i>viridans</i> (muitas espécies)	Geralmente não tipadas ou não tipáveis	α, ausência	Boca, garganta, colo, trato genital feminino	Resistentes à optoquina. Colônias insolúveis em bile. Padrão de fermentação de carboidratos	Cárie dental (<i>S. mutans</i>), endocardite, abscessos (com muitas outras espécies bacterianas); algumas espécies, como <i>Streptococcus mitis</i> , têm alto nível de resistência à penicilina
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	Ausência	α	Nasofaringe	Suscetível à optoquina. Colônias solúveis em bile, reação de Neufeld-Quellung positiva	Pneumonia, meningite, endocardite, otite média, sinusite
Peptostreptococos (muitas espécies) (Ver Cap. 21)	Ausência	Ausência, α	Boca, colo, trato genital feminino	Anaeróbios obrigatórios	Abscessos (com muitas outras espécies bacterianas)

^a Classificação de Lancefield.

^b Hemólise observada em ágar-sangue de carneiro a 5% com incubação durante uma noite.

^c Hidrólise do l-pirrolidônio-β-naftilamida ("PYR").

^d Teste de CAMP, Christie, Atkins, Munch-Peterson.

GI, gastrintestinal

D. Reações bioquímicas

Os testes bioquímicos consistem em reações de fermentação de açúcares, testes para a presença de enzimas e testes de sensibilidade ou resistência a determinados agentes químicos. Os testes bioquímicos são utilizados com maior frequência para

classificação dos estreptococos após a observação do crescimento das colônias e de suas características hemolíticas. Os testes bioquímicos são utilizados para as espécies que geralmente não reagem com as preparações de anticorpos comumente empregadas para as substâncias específicas do grupo: os

grupos A, B, C, F e G. Por exemplo, os estreptococos *viridans* são α -hemolíticos ou não hemolíticos e não reagem com os anticorpos comumente utilizados para a classificação de Lancefield. A determinação das espécies dos estreptococos *viridans* exige uma bateria de testes bioquímicos.

Muitas espécies de estreptococos, como *S. pyogenes* (grupo A), *S. agalactiae* (grupo B) e os enterococos (grupo D), são caracterizadas por combinações de suas características: características do crescimento das colônias, padrões de hemólise em ágar-sangue (α -hemólise, β -hemólise ou não hemólise), composição antigênica das substâncias específicas do grupo da parede celular e reações bioquímicas. Os *S. pneumoniae* (pneumococos) são posteriormente classificados pela composição antigênica dos polissacarídeos capsulares. Os estreptococos *viridans* podem ser α -hemolíticos ou não hemolíticos, e geralmente são classificados por reações bioquímicas. Ver o Quadro 14.1. Como as reações bioquímicas são trabalhosas e muitas vezes têm resultados não confiáveis, os laboratórios capacitados a trabalhar com técnicas moleculares, tais como sequenciamento genético, ou que tenham implementado espectroscopia de massa para a identificação do organismo (espectrometria de massa, pela técnica de ionização por dessorção a laser, assistida por matriz seguida de análise por tempo de voo em sequência-MALDI-TOF), estão substituindo os testes fenotípicos, quando se faz necessária a identificação dos estreptococos *viridans*.

ESTREPTOCOCOS DE PARTICULAR INTERESSE CLÍNICO

Os estreptococos e enterococos mencionados a seguir são de particular relevância clínica.

STREPTOCOCCUS PYOGENES

A maioria dos estreptococos que contêm o antígeno do grupo A é constituída por *S. pyogenes*, o protótipo de patógeno humano, aqui usado para ilustrar as características gerais dos estreptococos e características específicas da espécie. O *S. pyogenes* é o principal patógeno humano associado à invasão local ou sistêmica e aos distúrbios imunológicos pós-estreptocócicos. É comum produzir grandes zonas (1 cm de diâmetro) de β -hemólise ao redor de colônias com mais de 0,5 mm de diâmetro. É PYR-positivo (hidrólise da L-pirrolidonil- β -naftilamida) e geralmente mostra-se sensível à bacitracina.

Morfologia e identificação

A. Microrganismos típicos

Os cocos são esféricos ou ovoides, e dispostos em cadeias (Fig. 14.1). Dividem-se em um plano perpendicular ao eixo longitudinal da cadeia. Os membros da cadeia frequentemente exibem um notável aspecto de diplococos, e em certas ocasiões são observadas formas semelhantes a bastonetes. O comprimento das cadeias varia amplamente, sendo condicionado por fatores ambientais. Os estreptococos são gram-positivos; entretanto, à medida que a cultura envelhece e as bactérias

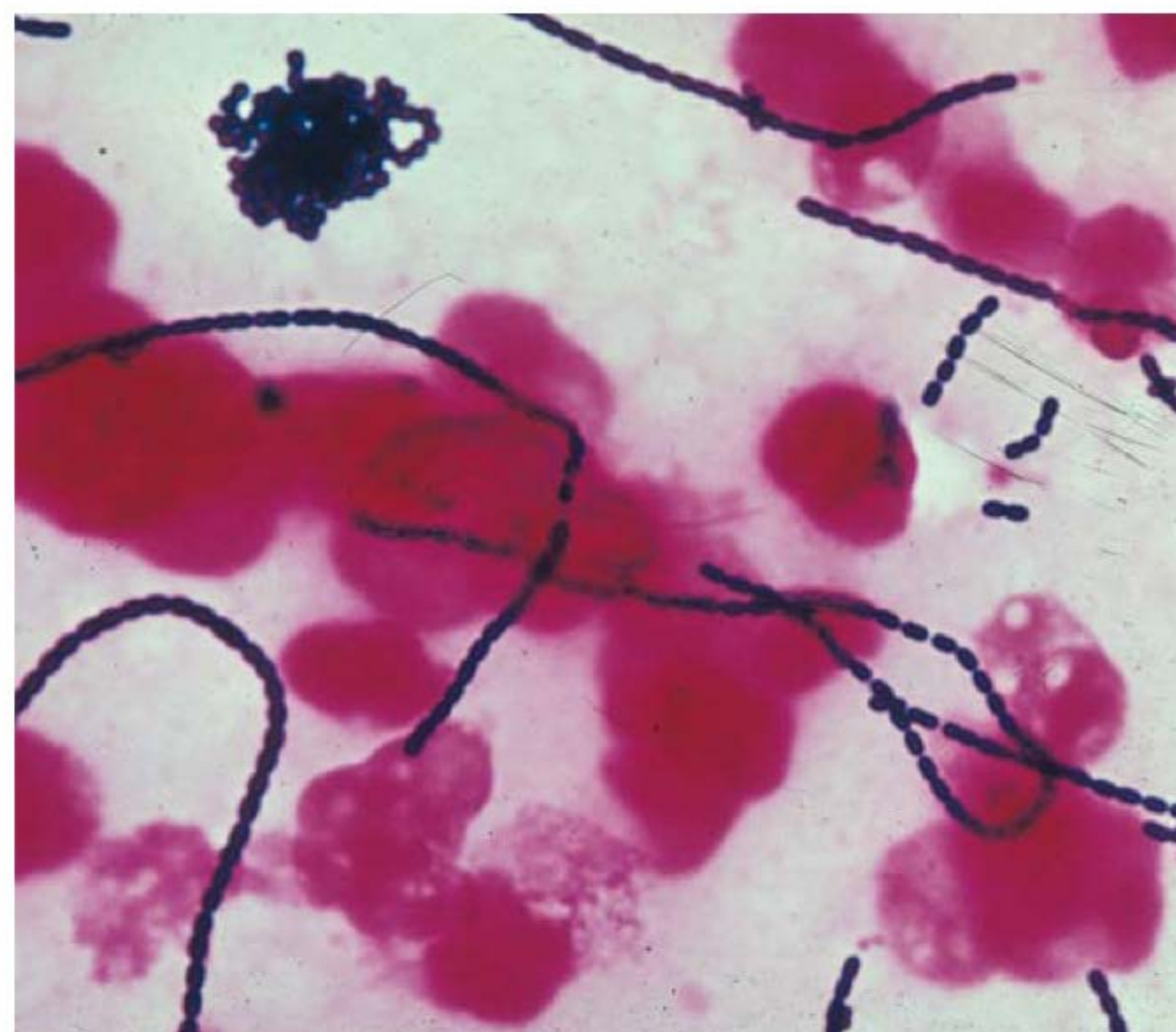


FIGURA 14.1 Crescimento de estreptococos em hemocultura, mostrando corpos gram-positivos em cadeias. Aumento original de 1.000 vezes.

morrem, perdem sua característica gram-positiva e podem parecer gram-negativos; para alguns estreptococos essa transformação pode ocorrer depois de uma noite de incubação.

A maioria das cepas dos grupos A, B e C (Quadro 14.1) produz cápsulas compostas de ácido hialurônico. Essas cápsulas são mais evidentes em culturas muito jovens e impedem a fagocitose. A cápsula de ácido hialurônico provavelmente desempenha um papel na virulência mais importante do que o que lhe é atribuído, juntamente com a proteína M, sendo considerados fatores importantes para o ressurgimento da febre reumática (FR) nos EUA nas décadas de 1980 e 1990. A cápsula se liga à proteína de ligação ao ácido hialurônico, CD44, presente em células epiteliais. A ligação induz a ruptura das junções intercelulares permitindo que os microrganismos permaneçam extracelulares como quando penetram no epitélio (ver Stollerman e Dale, 2008). As cápsulas de outros estreptococos (p. ex., *S. agalactiae* e *S. pneumoniae*) são diferentes. A parede celular do *S. pyogenes* contém proteínas (antígenos M, T, R), carboidratos (específicos do grupo) e peptidoglicanos. *Pili* semelhantes a pelos projetam-se através da cápsula dos estreptococos do grupo A, constituídos em parte de proteína M e recobertos de **ácido lipoteicoico**, importante na fixação dos estreptococos às células epiteliais.

B. Cultura

A maioria dos estreptococos cresce em meios sólidos em forma de colônias discoides, geralmente com 1 a 2 mm de diâmetro. O *S. pyogenes* é β -hemolítico (Fig. 14.2); outras espécies têm características hemolíticas variáveis.

C. Características de crescimento

A energia é obtida principalmente a partir da utilização de glicose, com o ácido láctico como produto final. O crescimento



FIGURA 14.2 Estreptococos do grupo A, β -hemolíticos (*Streptococcus pyogenes*), após crescimento durante uma noite em uma placa de ágar-sangue de carneiro a 5%. As colônias brancas pequenas (0,5 a 1 mm de diâmetro) estão circundadas por uma zona difusa de β -hemólise, de 7 a 10 mm de diâmetro. (Cortesia de H. Reyes.)

dos estreptococos tende a ser deficiente em meios sólidos ou em caldo, a não ser que sejam enriquecidos com sangue ou líquidos teciduais. As exigências nutricionais variam amplamente entre diferentes espécies. Os patógenos humanos são mais exigentes e necessitam de uma variedade de fatores de crescimento. O crescimento e a hemólise são favorecidos por incubação em CO_2 a 10%. A maioria dos estreptococos hemolíticos patogênicos cresce melhor a 37°C . A maioria dos estreptococos consiste em anaeróbios facultativos e cresce em condições de aerobiose e anaerobiose.

D. Variação

Variantes da mesma cepa de estreptococos podem exibir diferentes formas de colônias, o que é particularmente notório entre as cepas do *S. pyogenes*, que formam colônias opacas ou brilhantes. As colônias opacas consistem em microrganismos que produzem grandes quantidades de proteína M e geralmente são virulentos. As colônias brilhantes tendem a produzir pouca proteína M, e com frequência não são virulentas.

Estrutura antigênica

A. Proteína M

Esta molécula constitui o principal fator de virulência do *S. pyogenes*. A proteína M aparece em forma de projeções semelhantes a pelos na parede celular do estreptococo. Na presença dela, esses microrganismos são virulentos e, na ausência de anticorpos tipo M específicos, são capazes de resistir à fagocitose pelos leucócitos polimorfonucleares, por meio da inibição da ativação do complemento por via alternativa. Os *S. pyogenes* que não têm proteína M não são virulentos. A imunidade à infecção por estreptococos do grupo A está relacionada com

a presença de anticorpos específicos do tipo dirigidos contra a proteína M. Como existem mais de 150 tipos de proteína M, um indivíduo pode contrair repetidas infecções por *S. pyogenes* de diferentes tipos M. Os estreptococos dos grupos C e G apresentam genes homólogos aos da proteína M do grupo A. Além disso, várias proteínas semelhantes a proteína M do grupo A foram descobertas em estreptococos dos grupos C e G.

A molécula da proteína M tem uma estrutura espiralada semelhante a um bastonete, que separa os domínios funcionais. Esta estrutura permite a ocorrência de grande número de alterações de sequência, com manutenção de sua função, de modo que os imunodeterminantes da proteína M podem mudar facilmente. Existem duas classes estruturais principais de proteína M: I e II.

A proteína M e talvez outros antígenos da parede celular dos estreptococos parecem desempenhar importante papel na patogênese da febre reumática. As membranas das paredes celulares purificadas de estreptococos induzem a formação de anticorpos que reagem contra o sarcolema cardíaco humano; as características dos antígenos de reatividade cruzada não são claras. Um componente da parede celular dos tipos M selecionados induz a formação de anticorpos que reagem contra o tecido muscular cardíaco. Os domínios antigênicos conservados na proteína M da classe I exibem reação cruzada com o músculo cardíaco humano, sugerindo que esses determinantes antigênicos apresentem um importante papel na febre reumática.

B. Substância T

Este antígeno não tem relação alguma com a virulência dos estreptococos. Diferente da proteína M, a substância T é acidolábil e termolábil, sendo obtida dos estreptococos por digestão proteolítica, que destrói rapidamente as proteínas M. A substância T permite a diferenciação de certos tipos de estreptococo por aglutinação com antissoros específicos, enquanto outros tipos compartilham a mesma substância T. Outro antígeno de superfície é denominado **proteína R**.

C. Nucleoproteínas

A extração de estreptococos com uma base fraca produz misturas de proteínas e outras substâncias com pouca especificidade sorológica, denominadas **substâncias P**, que provavelmente constituem a maior parte do corpo celular dos estreptococos.

Toxinas e enzimas

Mais de 20 produtos extracelulares antigênicos são elaborados pelo *S. pyogenes*, tais como os mostrados a seguir.

A. Estreptoquinase (fibrinolisa)

A estreptoquinase é produzida por muitas cepas de estreptococos β -hemolíticos do grupo A. Esta substância transforma o plasminogênio do plasma humano em plasmina, uma enzima proteolítica ativa que digere a fibrina e outras proteínas, permitindo que a bactéria escape da rede de fibrina. Esse processo de digestão pode ser afetado por inibidores séricos inespecíficos e por um anticorpo específico, a antiestreptoquinase, administrada por via intravenosa no tratamento da embolia pulmonar, bem como de trombozes venosas e da artéria coronária.

B. Desoxirribonucleases

As desoxirribonucleases estreptocócicas A, B, C e D degradam o DNA (DNases). De forma semelhante às estreptoquinases, essas moléculas facilitam a disseminação dos estreptococos no tecido pela dissociação do exsudato mucopurulento. A atividade enzimática pode ser medida pela diminuição da viscosidade de soluções conhecidas de DNA. Os exsudatos purulentos devem sua viscosidade, em grande parte, à desoxirribonucleoproteína. Misturas de estreptoquinase e de DNases são utilizadas no “desbridamento enzimático”, pois ajudam a liquefazer exsudatos e facilitam a remoção de pus e tecido necrótico, a fim de que os agentes antimicrobianos tenham melhor acesso e as superfícies infectadas se recuperem mais rapidamente. Um anticorpo contra a DNase desenvolve-se após infecções estreptocócicas (limite normal = 100 unidades), em particular após infecções cutâneas.

C. Hialuronidase

A hialuronidase cliva o ácido hialurônico, um importante componente do tecido conectivo, ajudando, assim, na propagação dos microrganismos infectantes (fator de propagação). As hialuronidases são antigênicas e específicas de cada fonte bacteriana ou tecidual. Após infecção por microrganismos produtores de hialuronidase, anticorpos específicos são encontrados no soro.

D. Exotoxinas pirogênicas (toxina eritrogênica)

As exotoxinas pirogênicas são elaboradas por *S. pyogenes*. Existem três **exotoxinas pirogênicas estreptocócicas** antigenicamente distintas (**Spe**): **A**, **B** e **C**. A SpeA tem sido a mais amplamente estudada. É produzida por estreptococos do grupo A que transportam um fago lisogênico. As exotoxinas pirogênicas estreptocócicas foram associadas à **síndrome do choque tóxico por estreptococos** e à **febre escarlatina**. A maioria das cepas de estreptococos do grupo A, isoladas de pacientes com a síndrome do choque tóxico por estreptococos, produz SpeA ou tem o gene que a codifica; em contrapartida, apenas cerca de 15% dos estreptococos do grupo A, isolados de pacientes com outras patologias, apresentam esse gene. A SpeC também pode contribuir para a síndrome, enquanto o papel da exotoxina SpeB não é claro. Os estreptococos do grupo A associados à síndrome do choque tóxico têm primariamente proteína M tipos 1 e 3.

As exotoxinas pirogênicas atuam como superantígenos, que estimulam as células T a se ligarem ao principal complexo de histocompatibilidade tipo II na região V_{β} do receptor das células T. As células T ativadas liberam citocinas que produzem choque e agressão aos tecidos. Os mecanismos de ação parecem similares aos causados pela toxina da síndrome do choque tóxico estafilocócico e às enterotoxinas estafilocócicas.

E. Hemolisinas

O *S. pyogenes* β -hemolítico do grupo A elabora duas hemolisinas (estreptolisinas) que além de provocarem lise à membrana de eritrócitos, causam danos a uma variedade de tipos celulares. A **estreptolisina O** é uma proteína (massa molecular [MM] de 60.000) hemoliticamente ativa no estado reduzido (grupos SH disponíveis), porém rapidamente inativada na

presença de oxigênio, sendo responsável por parte da hemólise observada quando o crescimento do microrganismo ocorre em cortes profundos no meio de cultura em placas de ágar-sangue. Combina-se quantitativamente com a **antiestreptolisina O** (ASO ou ASLO), um anticorpo que aparece nos seres humanos após infecção por qualquer estreptococo capaz de produzir a estreptolisina O e que bloqueia a hemólise pela mesma. Esse fenômeno forma a base de um teste quantitativo para o anticorpo. Títulos séricos de ASO superiores a 160 a 200 unidades são considerados anormalmente altos e sugerem infecção recente por *S. pyogenes* ou níveis persistentemente elevados de anticorpos devido a uma resposta imunológica exagerada a alguma exposição anterior em indivíduo hipersensível. A **estreptolisina S** é o agente responsável pelas zonas hemolíticas ao redor das colônias estreptocócicas que crescem sobre a superfície das placas de ágar-sangue. É elaborada na presença de soro — daí a denominação estreptolisina S. Não é antigênica, mas pode ser inibida por um inibidor inespecífico frequentemente presente no soro de seres humanos e animais, e independe de contato anterior com estreptococos. A maioria das amostras de *S. pyogenes* produz ambas as hemolisinas e apenas cerca de 10% produzem somente uma delas.

Patogênese e manifestações clínicas

Uma variedade de enfermidades distintas está associada às infecções causadas pelo *S. pyogenes*. As infecções podem ser divididas em várias categorias.

A. Doenças atribuíveis à invasão por *S. pyogenes*, estreptococos β -hemolíticos do grupo A

A porta de entrada determina o principal quadro clínico, mas em cada caso existe uma infecção difusa e de rápida disseminação que afeta os tecidos e se estende ao longo das vias linfáticas, com supuração local mínima. A partir das vias linfáticas, a infecção pode estender-se à corrente sanguínea.

1. Erisipela — se a porta de entrada for a pele, será verificado o desenvolvimento de erisipela, com edema maciço e borda da infecção de rápida progressão.

2. Celulite — a celulite estreptocócica é uma infecção aguda da pele e dos tecidos subcutâneos de rápida disseminação. Ocorre após infecção associada a traumatismo leve, queimaduras, feridas ou incisões cirúrgicas. Há dor, hipersensibilidade, edema e eritema. A celulite diferencia-se da erisipela por dois achados clínicos: na celulite, a lesão não se mostra elevada, e a demarcação entre o tecido acometido e o tecido ileso não é nítida.

3. Fasceíte necrosante (gangrena estreptocócica) — Nesse processo infeccioso ocorre uma extensa necrose da pele, dos tecidos e da fáscia, em que se dissemina rapidamente. Outras bactérias além dos *S. pyogenes* também podem causar fasceíte necrosante. Os estreptococos do grupo A que provocam fasceíte necrosante são às vezes denominados “bactérias devoradoras de carne”.

4. Febre puerperal — se houver penetração de estreptococos no útero após o parto, a febre puerperal irá se desenvolver e consistirá essencialmente em septicemia que se origina a partir da ferida infectada (endometrite).

5. Bacteriemia ou sepse — a infecção de feridas traumáticas ou cirúrgicas por estreptococos resulta em bacteriemia, que pode ser rapidamente fatal. As bacteriemias por *S. pyogenes* podem também ser seguidas de infecções da pele, tais como celulite e, raramente, faringite.

B. Doenças atribuíveis a infecção localizada por *S. pyogenes* e seus subprodutos

1. Faringite estreptocócica — a infecção mais comum causada por *S. pyogenes* β -hemolíticos é a faringite estreptocócica. Os *S. pyogenes* aderem ao epitélio da faringe por meio do ácido lipoteicoico que recobre os *pili* superficiais e também por meio de ácido hialurônico em cepas encapsuladas. A glicoproteína fibronectina (MM de 440.000) sobre as células epiteliais provavelmente atua como ligante do ácido lipoteicoico. Em lactentes e crianças pequenas, a faringite ocorre como nasofaringite subaguda, com fina secreção serosa e pouca febre, mas com tendência a propagação da infecção para a orelha média e para o mastoide. Em geral, ocorre aumento dos linfonodos cervicais. A doença pode persistir por várias semanas. Em crianças de mais idade e adultos, a doença é mais aguda e caracteriza-se por nasofaringite intensa, amigdalite, bem como hiperemia e edema intensos das mucosas, com exsudato purulento, aumento e hipersensibilidade dos linfonodos cervicais, além de (em geral) febre alta. Em 20% dos casos, a infecção é assintomática. Pode-se observar um quadro clínico semelhante na mononucleose infecciosa, na difteria, na infecção gonocócica e na infecção por adenovírus.

Em geral, a infecção das vias respiratórias superiores por *S. pyogenes* não afeta os pulmões. A pneumonia, quando ocorre, é rapidamente progressiva e grave, representando mais comumente seqüela de infecções virais (p. ex., *influenza* ou sarampo) que parecem aumentar acentuadamente a predisposição a superinfecções bacterianas com diferentes patógenos, incluindo o próprio *S. pyogenes* e o *S. pneumoniae*.

2. Piodermatite estreptocócica — a infecção localizada das camadas superficiais da pele, particularmente em crianças, é denominada **impetigo**. Consiste em vesículas superficiais que se rompem e áreas que sofrem erosão e cuja superfície exposta é recoberta de pus e, posteriormente, crostas. Propaga-se por continuidade, sendo altamente transmissível, sobretudo em climas quentes e úmidos. Infecção mais disseminada ocorre na pele eczematosa ou ferida, ou em queimaduras, podendo progredir para celulite. As infecções cutâneas causadas por estreptococos do grupo A são frequentemente atribuíveis aos tipos M 49, 57 e 59 a 61, podendo preceder a glomerulonefrite (GN), mas frequentemente não resultam em febre reumática.

Uma infecção clinicamente semelhante pode ser causada por *S. aureus*, e às vezes *S. pyogenes* e *S. aureus* estão presentes ao mesmo tempo.

C. Infecções por estreptococos do grupo A invasivos, síndrome do choque tóxico estreptocócico e escarlatina

As infecções fulminantes por *S. pyogenes* invasivos, com a **síndrome do choque tóxico estreptocócico**, caracterizam-se por

choque, bacteriemia, insuficiência respiratória e falência múltiplas de órgãos. Ocorre morte em cerca de 30% dos pacientes. As infecções tendem a ocorrer após traumatismo mínimo em indivíduos sadios quanto aos demais aspectos, com várias manifestações de infecção dos tecidos moles, que incluem fascíte necrosante, miosite e outras infecções dos tecidos moles; bacteriemia ocorre com frequência. Em alguns pacientes, particularmente nos infectados por estreptococos do grupo A tipos M 1 ou 3, a doença manifesta-se em forma de infecção focal dos tecidos moles, acompanhada de febre e choque rapidamente progressivo, com falência múltipla de órgãos. Podem ocorrer eritema e descamação. Os *S. pyogenes* tipos M 1 e 3 (e tipos 12 e 28) que produzem a exotoxina pirogênica A ou a B estão associados a infecções graves.

As exotoxinas pirogênicas A a C também causam **febre escarlatina** em associação com faringite por *S. pyogenes* ou infecção cutânea ou dos tecidos moles. A faringite pode ser grave. O exantema aparece no tronco após 24 horas de doença e dissemina-se, atingindo os membros. A síndrome do choque tóxico estreptocócico e a febre escarlatina são doenças clinicamente superpostas.

D. Doenças pós-estreptocócicas (febre reumática, glomerulonefrite)

Após uma infecção aguda por *S. pyogenes*, existe um período latente de 1 a 4 semanas após o qual ocasionalmente se verifica o desenvolvimento de nefrite ou febre reumática. O período latente sugere que essas doenças pós-estreptocócicas não são atribuíveis ao efeito direto das bactérias disseminadas, mas representam uma resposta de hipersensibilidade. A nefrite é mais comumente precedida de infecção cutânea, enquanto a febre reumática sucede a infecções das vias respiratórias.

1. Glomerulonefrite aguda — algumas vezes, verifica-se o desenvolvimento de glomerulonefrite aguda no decorrer de 1 a 4 semanas após infecção cutânea (piodermite, impetigo) ou faringites por *S. pyogenes*, em particular pelos tipos M 2, 42, 49, 56, 57 e 60 (pele). Os tipos M 1, 4, 12 e 25 são cepas nefritogênicas associadas a infecção de garganta e glomerulonefrite. Após infecções estreptocócicas aleatórias, a incidência de nefrite é inferior a 0,5%.

A glomerulonefrite pode ser iniciada pela formação de complexos antígeno-anticorpo sobre a membrana basal glomerular. Os antígenos mais importantes parecem ser o SpeB e o receptor de plasmina associado à nefrite (*Nephritis-associated plasmin receptor* [NAP1r]). Na nefrite aguda, o paciente apresenta sangue e proteína na urina, com edema, hipertensão e retenção de nitrogênio ureico; os níveis séricos de complemento mostram-se baixos. Poucos pacientes morrem; outros desenvolvem glomerulonefrite crônica que evolui para insuficiência renal; a maioria recupera-se por completo.

2. Febre reumática — trata-se da seqüela mais grave da infecção por *S. pyogenes*, visto que resulta em lesão do músculo e das valvas cardíacas. Certas cepas de estreptococos do grupo A contêm antígenos da membrana celular que exibem reação cruzada com antígenos do tecido cardíaco humano. O soro dos pacientes com febre reumática contém anticorpos dirigidos contra esses antígenos.

O início da febre reumática é frequentemente precedido, em 1 a 4 semanas, por faringite causada por *S. pyogenes*, embora a infecção possa ser leve e não ser detectada. Todavia, os pacientes com faringite estreptocócica mais grave, em geral têm maior probabilidade de desenvolver febre reumática. Até o momento, não há evidências que a febre reumática possa estar associada a infecções cutâneas estreptocócicas. Na década de 1950, as infecções estreptocócicas sem tratamento foram seguidas de febre reumática em até 3% dos militares e 0,3% das crianças da população civil. Atualmente, a febre reumática tornou-se relativamente rara nos EUA (< 0,05% das infecções estreptocócicas), mas ocorre a uma frequência até 100 vezes maior em países tropicais, sendo a causa mais importante de cardiopatia em indivíduos jovens nos países em desenvolvimento.

Os sinais e sintomas típicos de febre reumática consistem em febre, mal-estar, poliartrite não supurativa migratória e evidências de inflamação de todas as partes do coração (endocárdio, miocárdio e pericárdio). A cardite comumente acarreta espessamento e deformidade das valvas cardíacas, bem como o aparecimento de pequenos granulomas perivasculares no miocárdio (corpúsculos de Aschoff) que acabam sendo substituídos por tecido fibroso. Para avaliação da atividade reumática, utilizam-se a velocidade de hemossedimentação, os níveis séricos de transaminases, eletrocardiograma e outros exames.

A febre reumática exhibe acentuada tendência a ser reativada por infecções estreptocócicas recorrentes, o que não ocorre na nefrite. Em geral, a primeira crise de febre reumática produz unicamente lesão cardíaca leve, que aumenta a cada crise subsequente. Por conseguinte, é importante proteger tais pacientes de infecções recidivantes por *S. pyogenes* por meio da administração profilática de penicilina.

Exames diagnósticos laboratoriais

A. Amostras

As amostras a serem obtidas dependem da natureza da infecção estreptocócica. Obtêm-se um *swab* da garganta, bem como amostra de pus ou sangue para cultura. O soro é obtido para determinação dos anticorpos.

B. Esfregaços

Os esfregaços de pus frequentemente revelam cocos isolados ou aos pares em vez de cadeias definidas. Algumas vezes, os cocos são gram-negativos, visto que os microrganismos não são mais viáveis e perderam sua capacidade de reter o corante azul (cristal violeta) e ser gram-positivos. Quando esfregaços de pus apresentam estreptococos, mas as culturas não se desenvolvem, deve-se suspeitar da presença de microrganismos anaeróbios. Esfregaços de amostras de *swabs* da garganta raramente são úteis, uma vez que os estreptococos *viridans* estão sempre presentes e têm o mesmo aspecto dos estreptococos do grupo A quando corados.

C. Cultura

As amostras sob suspeita de conterem estreptococos devem ser cultivadas em placas de ágar-sangue. Se houver suspeita de anaeróbios, também deverão ser inoculadas em meios

anaeróbios apropriados. Com frequência, a incubação em CO₂ a 10% acelera a hemólise. A inoculação em cortes no ágar-sangue tem efeito semelhante, visto que o oxigênio não se difunde facilmente através do meio até os microrganismos localizados profundamente, já que inativa a estreptolisina O.

As hemoculturas favorecem o crescimento de estreptococos hemolíticos do grupo A (p. ex., na sepse) em algumas horas ou poucos dias. Certos estreptococos α -hemolíticos e enterococos podem crescer lentamente, de modo que as hemoculturas, em casos de suspeita de endocardite, às vezes levam 1 semana ou mais para se tornarem positivas.

O grau e o tipo de hemólise (bem como o aspecto das colônias) podem ajudar a classificar um microrganismo em um grupo definido. Os *S. pyogenes* podem ser rapidamente identificados por testes rápidos e específicos para a presença do antígeno específico do grupo A e pelo teste de PYR. Os estreptococos que pertencem ao grupo A podem ser identificados, de modo presuntivo, por inibição do crescimento com bacitracina, que só deverá ser utilizada quando não houver disponibilidade de testes mais definitivos.

D. Testes para a detecção de antígenos

Vários kits estão comercialmente disponíveis para detecção rápida de antígenos estreptocócicos do grupo A a partir de *swabs* da garganta. Esses kits utilizam métodos enzimáticos ou químicos para extrair o antígeno do *swab*; em seguida, são utilizados testes imunoenzimáticos (Elisa) ou aglutinação para demonstrar a presença do antígeno. Os testes podem ser realizados minutos a horas após a obtenção da amostra. Exibem sensibilidade de 60 a 90%, dependendo da prevalência da doença na população, e especificidade de 98 a 99% em comparação com os métodos de cultura.

E. Testes sorológicos

É possível determinar uma elevação dos títulos de anticorpos contra muitos antígenos estreptocócicos do grupo A. Tais anticorpos incluem a ASO/ASLO, em particular na doença respiratória; antiDNase B e anti-hialuronidase, sobretudo em infecções cutâneas; antiestreptoquinase; anticorpos antim específicos; entre outros. Entre esses anticorpos, os títulos de antiaso são mais amplamente utilizados.

Imunidade

A resistência a doenças estreptocócicas é específica do tipo M. Por conseguinte, o hospedeiro que se recuperou de infecção causada por estreptococos do grupo A tipo M é relativamente imune a reinfeção pelo mesmo tipo, porém totalmente suscetível a infecção por outro tipo M. É possível demonstrar a presença de anticorpos antim específicos do tipo por meio de um teste que explora o fato de os estreptococos serem rapidamente destruídos após a fagocitose. A proteína M interfere na fagocitose; mas, na presença de anticorpo antiproteína M específico do tipo, os estreptococos são destruídos pelos leucócitos humanos.

Após a infecção, verifica-se a produção de anticorpos contra a estreptolisina O, que bloqueiam a hemólise pela estreptolisina O, mas não indicam imunidade. Títulos elevados (> 250 unidades) indicam infecções recentes ou repetidas, e são

mais frequentemente encontrados em indivíduos com doença reumática do que naqueles com infecções estreptocócicas sem complicações.

Tratamento

Todas as amostras de *S. pyogenes* são sensíveis à penicilina G e algumas resistentes às tetraciclinas. Os macrolídeos, tais como eritromicina e claritromicina são indicados para pacientes com história de alergia à penicilina ou com fascíte necrosante. Contudo, têm sido relatados casos de resistência a esses antibióticos na Europa e nos EUA. Os antimicrobianos não exercem efeito algum sobre a glomerulonefrite e a febre reumática já instaladas. Todavia, nas infecções estreptocócicas agudas, todos os esforços devem ser feitos para erradicar rapidamente os estreptococos do paciente, eliminar o estímulo antigênico (antes do oitavo dia) e, assim, evitar a ocorrência de doença pós-estreptocócica. As doses de penicilina ou eritromicina que resultam em níveis teciduais eficazes durante 10 dias geralmente atingem esse objetivo. Os antimicrobianos também são muito úteis na prevenção de reinfecção por estreptococos β -hemolíticos do grupo A em pacientes com febre reumática.

Epidemiologia, prevenção e controle

Embora os seres humanos possam ser portadores assintomáticos do *S. pyogenes* na nasofaringe ou no períneo, o microrganismo deverá ser considerado significativo se for detectado por cultura ou outros métodos. A fonte final dos estreptococos do grupo A é uma pessoa que abrigue esses microrganismos. O indivíduo pode ter infecção clínica ou subclínica, ou ser um portador que dissemina estreptococos diretamente para outras pessoas através de gotículas ou aerossóis do trato respiratório ou da pele. As descargas nasais de uma pessoa portadora de *S. pyogenes* são a fonte mais perigosa de disseminação desses microrganismos.

Muitos outros estreptococos (p. ex., estreptococos *viridans*, enterococos, etc.) são membros da microbiota normal do corpo humano. Causam doença apenas quando instalados em partes do corpo onde normalmente não ocorrem (p. ex., valvas cardíacas). Para evitar tais acidentes, particularmente durante procedimentos cirúrgicos nas vias respiratórias, no trato gastrointestinal e no trato urinário que resultam em bacteriemia temporária é comum prescrever antimicrobianos profiláticos a indivíduos com deformidade valvar cardíaca conhecida e àqueles com próteses valvares ou articulares. As diretrizes publicadas pela Associação Americana do Coração (*American Heart Association*) e outras sociedades profissionais têm dado suporte a algumas dessas recomendações (ver Wilson *et al.*, 2007).

Os procedimentos de controle visam principalmente à fonte humana:

1. Detecção e tratamento antimicrobiano precoce das infecções respiratórias e cutâneas causadas por estreptococos do grupo A. A erradicação imediata dos estreptococos de infecções iniciais pode prevenir com eficiência o desenvolvimento de doença pós-estreptocócica. Isso requer a manutenção de níveis adequados de penicilina nos tecidos durante 10 dias (p. ex., penicilina G benzatina, administrada em dose única intramuscular). A eritromicina é um fármaco de escolha alternativo, embora muitas amostras de *S. pyogenes* já sejam resistentes.

2. Quimioprofilaxia antiestreptocócica em indivíduos que sofreram uma crise de febre reumática. Requer a administração de injeção de penicilina G benzatina intramuscular, a cada 3 a 4 semanas, ou de penicilina ou sulfonamida diariamente por via oral. A primeira crise de febre reumática raramente provoca lesão cardíaca significativa. Entretanto, esses indivíduos são particularmente suscetíveis a reinfecções por estreptococos que precipitam recidivas da atividade reumática, resultando em lesão cardíaca. A quimioprofilaxia em tais indivíduos, em particular em crianças, deve ser mantida por vários anos; não é utilizada na glomerulonefrite devido ao pequeno número de tipos nefritogênicos de estreptococos. Uma exceção pode ser observada em grupos familiares com alta taxa de nefrite pós-estreptocócica.
3. Erradicação dos *S. pyogenes* dos portadores. Medida particularmente importante quando os portadores estão em locais como sala de parto, centro cirúrgico, salas de aula ou berçários. Infelizmente, quase sempre é difícil erradicar os estreptococos β -hemolíticos de portadores permanentes, e em certas ocasiões pode ser necessário afastar esses indivíduos das áreas “sensíveis” por algum tempo.

Verificação de conceitos

- Os estreptococos compreendem um grande grupo de microrganismos gram-positivos que são catalase-negativos e tendem a crescer em pares ou em cadeias longas.
- Nenhum sistema atualmente classifica corretamente todas as espécies de estreptococos e sua taxonomia continua em constante atualização. Muitas classificações incluem o tipo de hemólise (α , β e não hemolíticos [γ]), condição de cultivo e capacidade de provocar doença.
- As amostras de estreptococos crescem melhor em ágar-sangue suplementado com 5% de sangue de carneiro defibrinado e em outros meios que suportam o crescimento dos cocos gram-positivos.
- O *S. pyogenes* (*Streptococcus* β -hemolítico do grupo A) é o patógeno mais virulento da família *Streptococcus*, apresentando uma série de fatores de virulência, tais como hemolisinas, enzimas e toxinas responsáveis por uma ampla variedade de infecções supurativas (p. ex., celulites) e doenças imunológicas (GN e FR pós-infecções estreptocócicas) associadas a esse microrganismo.

STREPTOCOCCUS AGALACTIAE

Estes são **estreptococos do grupo B**. Tipicamente β -hemolíticos, produzem zonas de hemólise apenas ligeiramente maiores do que as próprias colônias (1 a 2 mm de diâmetro). Os estreptococos do grupo B hidrolisam o hipurato de sódio e produzem uma resposta positiva no denominado teste de CAMP (Christie, Atkins, Munch-Peterson).

Os estreptococos do grupo B fazem parte da microbiota vaginal normal e do trato gastrointestinal baixo em 5 a 25% das mulheres. As infecções por estreptococos do grupo B durante o primeiro mês de vida podem causar sepse fulminante, meningite ou síndrome da angústia respiratória. Reduções significativas na incidência de infecções neonatais precoces por

estreptococos do grupo B têm sido observadas, após as recomendações de 1996 para o rastreamento de gestantes com 35 a 37 semanas de gravidez. Esse rastreamento é feito usando um caldo de cultura enriquecido, ou métodos moleculares a partir de *swabs* retais e vaginais. Ampicilina intravenosa é administrada às mães colonizadas pelo estreptococos do grupo B e que estão em trabalho de parto, visando prevenir a colonização do lactente e as doenças subsequentes causadas por esse microrganismo. As infecções por estreptococos do grupo B estão aumentando entre adultos e mulheres não grávidas. Duas populações em expansão, os idosos e os hospedeiros imunodeprimidos, são os de maior risco para doença invasiva. Os fatores predisponentes incluem diabetes melito, câncer, idade avançada, cirrose hepática, terapia com corticosteroides, HIV e outros estados de imunocomprometimento. Bacteriemia, lesões de pele e tecidos, infecções respiratórias e geniturinárias, em ordem decrescente de frequência, são as principais manifestações clínicas.

GRUPOS C E G

Esses estreptococos são, às vezes, observados na nasofaringe e podem causar faringite, sinusite, bacteriemia ou endocardite. Com frequência, assemelham-se aos *S. pyogenes* do grupo A em meio de cultura de ágar-sangue e são β -hemolíticos. São identificados por reações com antissoros específicos para o grupo C ou G. Os estreptococos dos grupos C e G possuem hemolisinas e podem ter proteínas M análogas às dos *S. pyogenes*. Sequelas pós-infecções estreptocócicas (AGN e RF) são raramente observadas associadas a esses dois sorotipos.

ESTREPTOCOCOS DO GRUPO D

Os estreptococos do grupo D sofreram recentes mudanças taxonômicas. Existem oito espécies neste grupo, muitas das quais não causam infecções em seres humanos. O grupo *Streptococcus bovis* é o mais importante em doenças humanas, e é subdividido em biotipos (classificação antiga), que são epidemiologicamente importantes e, mais recentemente, em 4 grupos de DNA. As espécies animais do grupo *bovis* foram classificadas como espécies *S. equinus* (grupo DNA I). Os isolados do biotipo I (grupo DNA II) fermentam o manitol e são atualmente designados como *Streptococcus gallolyticus* subespécie *gallolyticus*. Este microrganismo causa endocardite na espécie humana e está com frequência associado a carcinoma de colo. O grupo DNA II inclui as espécies *S. gallolyticus* subespécie *pasteurianus* (anteriormente *S. bovis* biotipo II.2) e *S. gallolyticus* subespécie *macedonius*. As amostras de *Streptococcus bovis* biotipo II.1 são atualmente alocadas no grupo DNA III, sendo a espécie tipo *Streptococcus infantarius* que inclui duas subespécies (subespécie *infantarius* e subespécie *coli*). As bacteriemias provocadas pelo biotipo II estão com frequência associadas a fontes biliares e, com menor frequência, a endocardites. Finalmente, o grupo DNA IV possui uma espécie, *S. alactolyticus*. Devido à taxonomia confusa e à incapacidade dos sistemas automatizados ou *kits* comerciais indentificarem esses microrganismos em subespécie, os laboratórios de microbiologia de diagnóstico normalmente continuam a se referir a esses microrganismos como grupo *Streptococcus bovis* ou grupo D

não enterococos. Todos os estreptococos do grupo D são não hemolíticos e PYR-negativos. Crescem em presença de bile e hidrolisam a esculina (bile-esculina positivos), mas não crescem em NaCl a 6,5%. Eles fazem parte da microbiota entérica normal humana e de vários animais.

GRUPO STREPTOCOCCUS ANGINOSUS

As espécies que compreendem o grupo *S. anginosus* são: *Streptococcus anginosus*, *Streptococcus intermedius* e *Streptococcus constellatus*. Algumas vezes, esses estreptococos são citados como do grupo *S. milleri*. São estreptococos que fazem parte da microbiota normal, podendo ser β ou α -hemolíticos ou não hemolíticos. O *S. anginosus* inclui estreptococos β -hemolíticos que formam diminutas colônias (< 0,5 mm de diâmetro) e reagem com antissoros do grupo A, C ou G, e todos os estreptococos β -hemolíticos do grupo F. Aqueles pertencentes ao grupo A são PYR-negativos. O *S. anginosus* é positivo no teste de Voges-Proskauer. Tais estreptococos podem ser classificados como estreptococos *viridans*. Esses microrganismos são frequentemente associados a graves infecções no sistema nervoso central, trato respiratório inferior e abscesso hepático. Eles podem ser facilmente identificados no laboratório clínico por uma de suas características presuntivas, o odor de manteiga ou caramelo.

ESTREPTOCOCOS DO GRUPO N

São raramente encontrados em doenças humanas, mas produzem a coagulação normal (“azedamento”) do leite.

ESTREPTOCOCOS DOS GRUPOS E, F, G, H e K a U

Esses estreptococos ocorrem principalmente em animais em vez de seres humanos. O *S. canis*, uma das várias espécies de estreptococos do grupo G, causa infecções no pelo de cães, mas não é comum no homem; outras espécies de estreptococos do grupo G podem infectar seres humanos.

Verificação de conceitos

- As espécies de estreptococos não pertencentes ao grupo A de Lancefield estão alocadas em diversos grupos incluindo outros estreptococos piogênicos (B, C e G), estreptococos primariamente isolados de animais (E, H e K-U), o grupo *S. bovis* (grupo D) e membros variantes produtores de colônias pequenas pertencentes ao grupo *S. anginosus*.
- O *S. agalactiae* (estreptococos do grupo B) é um importante patógeno entre gestantes e neonatos. O rastreamento retal e vaginal de gestantes com 35 a 37 semanas e o tratamento das parturientes com penicilina reduzem significativamente a incidência de infecções prematuras pelo estafilococos do grupo B em neonatos.
- Os estreptococos dos grupos C e G causam infecções similares às provocadas pelo grupo A, incluindo raros relatos de sequelas como AGN e FR.

- O grupo *S. bovis* (grupo D não enterococos) passou por uma extensa reclassificação taxonômica. Esses microrganismos são PYR negativa e bile esculina positiva, porém não crescem em 6,5% de NaCl. Eles estão associados bacteriemia e endocardites em pacientes com infecções biliares e patologias do colo, incluindo carcinoma.
- Membros do grupo *S. anginosus* (incluindo *S. intermedius* e *S. constellatus*) podem expressar antígenos A, C, F e G de Lancefield, produzem colônias pequenas variantes (< 0,5 mm) e são associados a abscessos cerebrais e hepáticos.

ESTREPTOCOCOS VIRIDANS

As diversas espécies de estreptococos *viridans* são classificadas em diferentes grupos, incluindo o grupo *S. mitis*, o *S. anginosus* (ver anteriormente), o *S. mutans*, o *S. salivarius* e o *S. bovis* (ver anteriormente). Comumente são α -hemolíticos, mas podem ser não hemolíticos. Como discutido anteriormente, membros do grupo *S. anginosus* podem ser β -hemolíticos. Seu crescimento não é inibido pela optoquina, e as colônias não são solúveis em bile (desoxicolato). Os estreptococos *viridans* são os membros mais prevalentes da microbiota normal das vias respiratórias superiores e importantes para a integridade das mucosas do trato respiratório. Podem alcançar a corrente sanguínea em consequência de traumatismo e constituem importante causa de endocardite em valvas cardíacas anormais. Alguns estreptococos *viridans* (p. ex., o *S. mutans*) sintetizam polissacarídeos grandes, como os dextranos ou levanos, a partir da sacarose, e contribuem significativamente para a gênese das cáries dentárias.

No decorrer de uma bacteriemia, estreptococos *viridans*, pneumococos ou enterococos podem instalar-se em valvas cardíacas normais ou previamente deformadas, produzindo **endocardite aguda**. A rápida destruição das valvas leva frequentemente a falência cardíaca fatal em dias ou meses, a menos que possa ser inserida uma prótese durante a antibioticoterapia microbiana. Com frequência, os estreptococos *viridans* estão associados a sintomas subagudos.

A **endocardite subaguda** geralmente envolve valvas anormais (deformidades congênitas e lesões reumáticas ou ateroscleróticas). Embora qualquer microrganismo que alcance a corrente sanguínea possa instalar-se em lesões trombóticas que se desenvolvem no endotélio lesionado como resultado de estresse circulatório, a endocardite subaguda é causada mais frequentemente por membros da microbiota normal do trato respiratório ou do trato intestinal que tenham alcançado acidentalmente a corrente circulatória. Após extração dentária, pelo menos 30% dos pacientes têm uma bacteriemia por estreptococos *viridans*. Estes estreptococos, geralmente os membros mais prevalentes da microbiota do trato respiratório superior são também a causa mais comum da endocardite bacteriana subaguda. Os estreptococos do grupo D (enterococos e *S. bovis*) também são causas comuns de endocardite subaguda. Cerca de 5 a 10% dos casos são provocados por enterococos do intestino ou do trato urinário. A lesão progride lentamente e a cicatrização é acompanhada de inflamação ativa; vegetações são compostas de fibrina, plaquetas, células sanguíneas e bactéria aderente ao folheto valvar. A evolução clínica é gradual, mas a doença será invariavelmente fatal se não for tratada. O

quadro clínico típico inclui febre, anemia, fraqueza, sopro cardíaco, fenômenos embólicos, esplenomegalia e lesões renais.

Os estreptococos α -hemolíticos e enterococos têm sensibilidade aos antimicrobianos variável. Os testes de sensibilidade aos antimicrobianos são especialmente úteis nas endocardites bacterianas para determinar os melhores fármacos a serem empregados no tratamento. Os aminoglicosídeos geralmente reforçam a taxa de atividade bactericida da penicilina em estreptococos, em especial nos enterococos.

ESTREPTOCOCOS NUTRICIONALMENTE VARIANTES

Os estreptococos nutricionalmente variantes, antigamente denominados *S. defectivus* e *S. adjacens*, são hoje classificados nos gêneros *Abiotrophia* e *Granulicatella*. Também são conhecidos como “estreptococos nutricionalmente deficientes” e “estreptococos dependentes de piridoxal”, além de outras designações. Necessitam de piridoxal ou cisteína para o seu crescimento em ágar-sangue, ou crescem em forma de colônias-satélites ao redor de colônias de estafilococos e outras bactérias que produzem piridoxal. A suplementação rotineira do meio de ágar-sangue com piridoxal possibilita o isolamento desses microrganismos. São geralmente α -hemolíticos, mas podem ser não hemolíticos. Fazem parte da microbiota normal e às vezes provocam bacteriemia ou endocardite, e podem ser encontrados em abscessos cerebrais e em outras infecções. Clinicamente, mostram-se muito semelhantes aos estreptococos *viridans*.

PEPTOSTREPTOCOCOS E GÊNEROS RELACIONADOS

Só crescem em condições anaeróbias ou microaerofílicas, e produzem hemolisinas de modo variável. Fazem parte da microbiota normal da boca, das vias respiratórias superiores, do intestino e do trato genital feminino. Frequentemente participam com muitas outras espécies bacterianas, de infecções anaeróbias mistas (Cap. 21). Tais infecções podem ocorrer em feridas, no peito, em endometrite pós-parto, seguidas de rupturas de uma víscera abdominal, cérebro ou em supuração pulmonar. O pus geralmente apresenta odor fétido.

STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE

Os pneumococos (*S. pneumoniae*) são diplococos gram-positivos que frequentemente exibem forma de lanceta, e dispõem-se em pares ou cadeias. Apresentam uma cápsula de polissacarídeos que permite a tipagem com antissoros específicos. Os pneumococos são facilmente lisados por agentes tensoativos, como os sais biliares, que provavelmente removem ou inativam os inibidores das autolisinas da parede celular. Os pneumococos são habitantes normais das vias respiratórias superiores de 5 a 40% dos seres humanos e podem causar pneumonia, sinusite, otite, bronquite, bacteriemia, meningite e outros processos infecciosos.

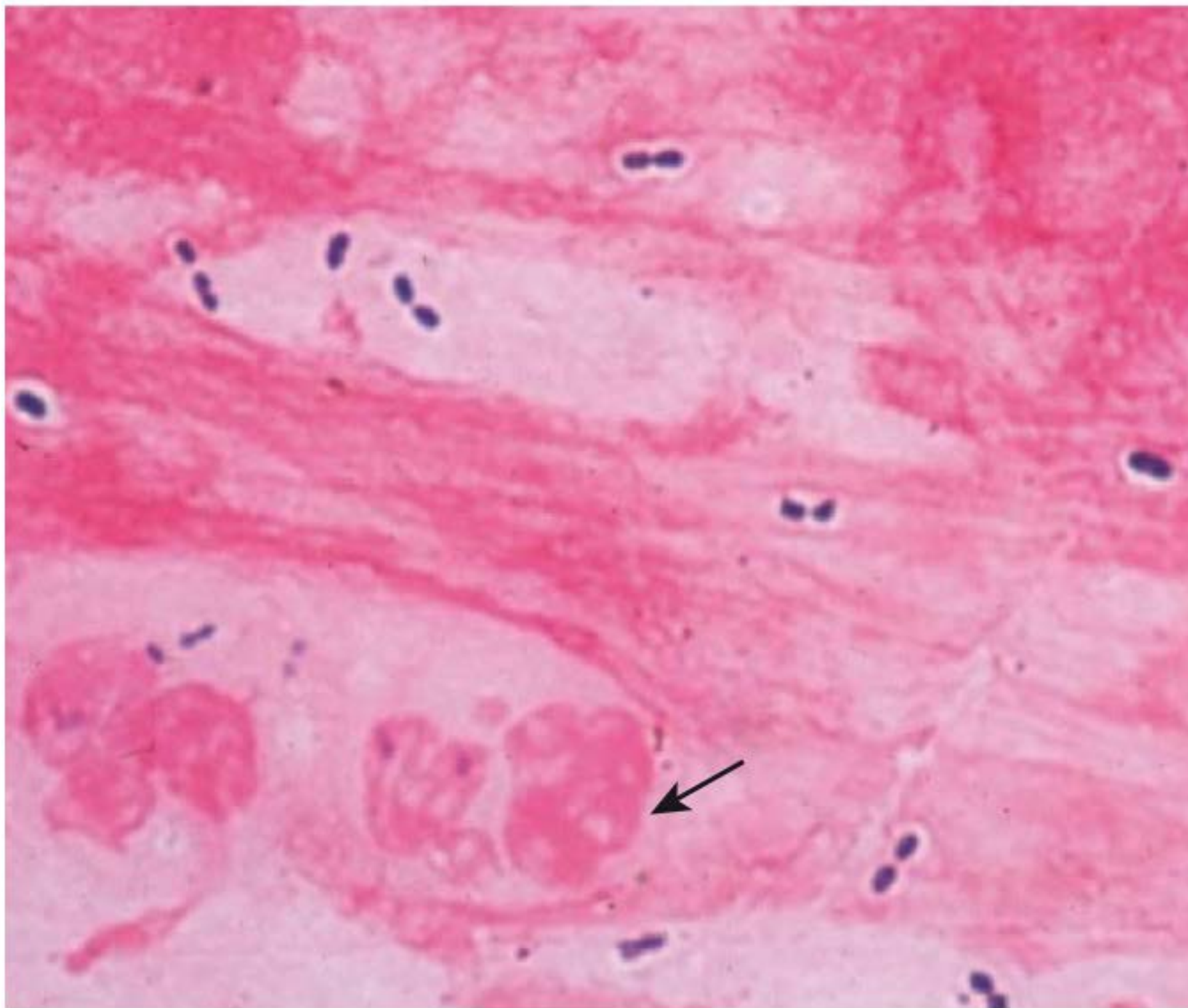


FIGURA 14.3 *Streptococcus pneumoniae* no escarro são vistos como diplococos gram-positivos em forma de lanceta. Os núcleos de células polimorfonucleadas em degeneração são as manchas vermelhas irregulares (seta). Muco e *debris* amorfos estão presentes ao fundo. Aumento original de 1.000 vezes.

Morfologia e identificação

A. Microrganismos típicos

Os diplococos gram-positivos típicos em forma de lanceta (Fig. 14.3) são frequentemente observados em amostras de culturas recentes. Também são observados cocos isolados ou em cadeias no escarro ou no pus. Com o envelhecimento, os microrganismos tornam-se rapidamente gram-negativos e tendem a sofrer lise espontânea. A autólise dos pneumococos é grandemente aumentada por agentes tensoativos. A lise dos pneumococos ocorre em poucos minutos quando se acrescenta bile (10%) ou desoxicolato de sódio (2%) a um caldo de cultura ou suspensão de microrganismos em pH neutro. Os estreptococos *viridans* não sofrem lise e, por conseguinte, são facilmente diferenciados dos pneumococos. Em meios de cultura sólidos, o crescimento dos pneumococos é inibido ao redor de um disco de optoquina; os estreptococos *viridans* não são inibidos por essa substância (Fig. 14.4).

Outros aspectos úteis para a identificação consistem na virulência quase uniforme em camundongos, quando inoculados por via intraperitoneal, e o “teste de intumescimento capsular” ou reação de Neufeld-Quellung (ver adiante).

B. Cultura

Os pneumococos formam pequenas colônias redondas, que inicialmente têm a forma de cúpula e, mais tarde, desenvolvem depressão central com borda elevada. Podem apresentar também colônias brilhantes devido a expressão de cápsula polissacarídica. São α -hemolíticos em ágar-sangue. O crescimento é intensificado na presença de CO_2 a 5 a 10%.

C. Características de crescimento

A maior parte da energia provém da fermentação da glicose; o processo é acompanhado de rápida produção de ácido láctico,

que limita o crescimento. A neutralização dos caldos de cultura com álcalis a determinados intervalos resulta em crescimento maciço.

D. Variação

Os pneumococos isolados que produzem grandes quantidades de cápsulas formam grandes colônias mucoides. A produção da cápsula não é essencial para o crescimento do microrganismo em meio de ágar, e por isso a produção capsular é perdida após um pequeno número de repiques. Todavia, os pneumococos produzirão cápsulas novamente e apresentarão maior virulência se forem inoculados em camundongos.

ESTRUTURA ANTIGÊNICA

A. Estruturas dos componentes

A parede celular dos pneumococos possui peptidoglicano e ácido teicoico, como os outros estreptococos. O polissacarídeo capsular é ligado covalentemente ao peptidoglicano e ao polissacarídeo da parede celular. O polissacarídeo capsular é imunologicamente distinto para cada um dos 91 tipos. O polissacarídeo C, que é encontrado na parede celular de todos os *S. pneumoniae*, pode ser detectado na urina e no líquido cerebrospinal sendo útil em testes de diagnóstico para infecções pneumocócicas.

B. Reação de Neufeld-Quellung

Quando os pneumococos de determinado tipo são misturados com soro antipolissacarídeo específico do mesmo tipo — ou com antissoro polivalente — em lâmina de microscopia, verifica-se um acentuado intumescimento da cápsula, e o microrganismo aglutina-se por ligações cruzadas com os anticorpos (Fig. 14.4C). Essa reação é útil para a rápida identificação e tipagem dos microrganismos em amostras de escarro ou em culturas. O antissoro polivalente, que contém anticorpos contra todos os tipos (“omnissoro”), é um bom reagente para a rápida detecção microscópica da presença ou não de pneumococos em amostra recente de escarro.

Patogênese

A. Tipos de pneumococo

Em adultos, os tipos 1 a 8 são responsáveis por cerca de 75% dos casos de pneumonia pneumocócica e por mais de 50% dos casos fatais na bacteriemia pneumocócica. Em crianças, as causas mais frequentes são os tipos 6, 14, 19 e 23*.

B. Produção de doença

Os pneumococos provocam doença em virtude de sua capacidade de multiplicação nos tecidos. A virulência do microrganismo depende de sua cápsula, que impede ou retarda a

* N. de R.T. Cabe ressaltar que esses não são os sorotipos mais prevalentes que causam infecções em crianças no Brasil. Por isso, a vacina conjugada 7 valente (sorotipos 4, 6B, 9V, 14, 18C, 19F e 23F) não apresenta grande eficiência, quando comparada com a PVC 13 valente (que inclui também os sorotipos 1, 3, 5, 6A, 7F e 19A), prevalecendo, no Brasil, os sorotipos 1, 5, 6A e 14.

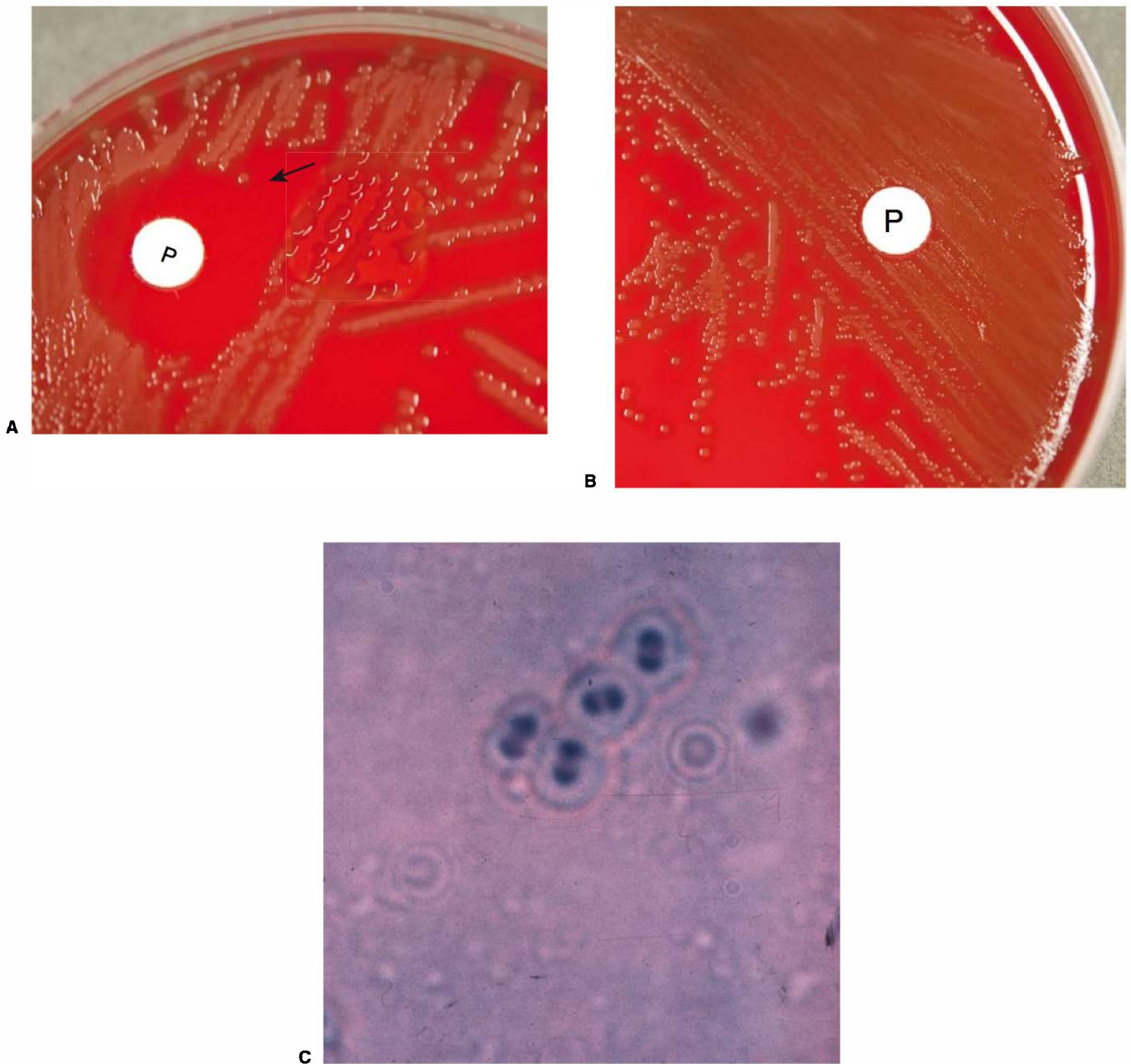


FIGURA 14.4 (A) Inibição da optoquina e solubilidade do *Streptococcus pneumoniae* em bile. A bactéria foi cultivada durante a noite em ágar-sangue de carneiro a 5%. A optoquina (etil hidrocupreína HCl) ou disco P foi colocada quando a placa foi inoculada. Os pneumococos são α -hemolíticos e apresentam uma área esverdeada em torno das colônias. A zona de inibição em torno do disco P é > 14 mm, indicando que os microrganismos são pneumococos, e não estreptococos *viridans*. Uma gota de solução de desoxicolato ("bile") foi colocada sobre o crescimento ocorrido durante a noite, logo à direita da área do disco P (seta); após cerca de 20 minutos à temperatura ambiente, as colônias de pneumococos foram solubilizadas (solúveis em bile). (B) O crescimento dos estreptococos *viridans* parece similar ao dos pneumococos, mas o crescimento dos estreptococos *viridans* não é inibido pela optoquina. (C) Reação de Neufeld-Quellung para *Streptococcus pneumoniae*: uma pequena quantidade das colônias é misturada com solução salina, antissoro contra o polissacarídeo capsular e corante azul de metileno. Após incubação à temperatura ambiente por 1 hora, a reação é observada ao microscópio. Os microrganismos são mostrados em azul-claro. Uma reação positiva mostra aglutinação devida à ligação entre os anticorpos e os pneumococos. O efeito de halo em torno dos pneumococos deve-se ao intumescimento da cápsula. Um controle negativo deve mostrar ausência de aglutinação ou de intumescimento capsular. (Cortesia de H. Reyes.)

ingestão por fagócitos. O soro que contém anticorpos contra o polissacarídeo específico do tipo protege o indivíduo contra a infecção. Se esse soro for absorvido com o polissacarídeo específico do tipo, perde seu poder protetor. Os animais ou seres

humanos imunizados com determinado tipo de polissacarídeo pneumocócico tornam-se subsequentemente imunes a esse tipo de pneumococo, podendo ter anticorpos precipitantes ou opsonizantes para tal tipo de polissacarídeo.

C. Perda da resistência natural

Como 40 a 70% dos seres humanos são, em algum momento, portadores de pneumococos virulentos, a mucosa respiratória normal deve ter grande resistência natural a eles. Entre os fatores que provavelmente diminuem essa resistência e, portanto, pre-dispõem a infecção pneumocócica, destacam-se os seguintes:

1. Infecções virais e outras infecções que lesionam as células superficiais, acúmulo anormal de muco (p. ex., alergia), o que protege os pneumococos da fagocitose, obstrução brônquica (p. ex., atelectasia) e lesão do trato respiratório por substâncias irritantes que comprometem sua função mucociliar.
2. Intoxicação por álcool ou drogas que deprimem a atividade fagocítica e o reflexo da tosse, bem como facilitam a aspiração de material estranho.
3. Dinâmica circulatória anormal (p. ex., congestão pulmonar, insuficiência cardíaca).
4. Outros mecanismos, como, por exemplo, desnutrição, debilitação geral, anemia falciforme, hipoesplenismo, nefrose ou deficiência de complemento.

Patologia

A infecção pneumocócica provoca o extravasamento de líquido fibrinoso do edema no interior dos alvéolos, seguido de eritrócitos e leucócitos, com a consequente consolidação de partes do pulmão. Muitos pneumococos são encontrados nesse exsudato, e podem alcançar a corrente sanguínea pela drenagem linfática dos pulmões. As paredes alveolares permanecem normalmente íntegras durante a infecção. Posteriormente, as células mononucleares fagocitam os resíduos ativamente, e essa fase líquida é aos poucos reabsorvida. Os pneumococos são capturados por fagócitos e digeridos no interior das células.

Manifestações clínicas

Em geral, o início da pneumonia pneumocócica é súbito, com febre, calafrios e dor pleural aguda. O escarro assemelha-se ao exsudato alveolar, sendo com frequência sanguinolento ou com cor de ferrugem. No estágio inicial da doença, quando a febre está alta, ocorre bacteriemia em 10 a 20% dos casos. Com a administração de tratamento antimicrobiano, a doença costuma ser controlada imediatamente; se os fármacos forem administrados logo de início, o desenvolvimento da consolidação será interrompido.

A pneumonia pneumocócica pode ser diferenciada do infarto pulmonar, da atelectasia, das neoplasias, da insuficiência cardíaca congestiva e da pneumonia causada por muitas outras bactérias. O empiema (presença de pus no espaço pleural) é uma complicação importante que exige aspiração e drenagem.

A partir das vias respiratórias, os pneumococos podem atingir outros locais. Os seios nasais e a orelha média são os com mais frequência acometidos. Algumas vezes, a infecção estende-se do mastoide às meninges. A bacteriemia da pneumonia exibe uma tríade de complicações graves: meningite, endocardite e artrite séptica. Com o uso precoce de quimioterapia, a endocardite pneumocócica aguda e a artrite tornaram-se raras.

Exames diagnósticos laboratoriais

Coleta-se uma amostra de sangue para cultura e obtém-se uma amostra de líquido cefalorraquiano e escarro para a demonstração dos pneumococos por esfregaços e cultura. O líquido cefalorraquiano e a urina podem ser utilizados para detecção de polissacarídeo C por ensaios de imunocromatografia. Testes para detecção de anticorpos séricos não são práticos. Todos os espécimes clínicos devem ser imediatamente enviados para o laboratório de microbiologia, visto que, os pneumococos tendem a apresentar autólise e um atraso em seu processamento resulta em um impacto negativo no isolamento do microrganismo em cultura. A amostra de escarro pode ser examinada de diversas maneiras.

A. Esfregaços corados

O esfregaço de escarro de cor ferrugem, corado pelo método de Gram, revela microrganismos típicos, muitos neutrófilos polimorfonucleares e inúmeros eritrócitos.

B. Testes de intumescimento capsular

O escarro fresco emulsificado e misturado com antissoro causa intumescimento capsular (reação de Neufeld-Quellung) para a identificação dos pneumococos.

C. Cultura

O escarro é cultivado em ágar-sangue e incubado em CO₂ ou em jarra com vela. Também deve ser feita uma hemocultura.

D. Imunidade

A imunidade à infecção por pneumococos é específica do tipo e depende tanto dos anticorpos dirigidos contra o polissacarídeo capsular quanto da integridade da função fagocítica. As vacinas podem induzir a produção de anticorpos contra os polissacarídeos capsulares (ver adiante).

Tratamento

Como os pneumococos são suscetíveis a muitos antimicrobianos, o tratamento precoce em geral resulta em rápida recuperação, e a resposta humoral parece desempenhar um papel muito pequeno. A penicilina G é o fármaco de escolha, mas nos EUA 15% dos pneumococos são resistentes à penicilina (concentração mínima inibitória [CIM] $\geq 8 \mu\text{g/mL}$, no líquido cefalorraquiano isolados). A penicilina G em altas doses, com CIMs para penicilina abaixo de $8 \mu\text{g/mL}$ (ponto de interrupção [*breakpoint*] da resistência) parece eficaz no tratamento da pneumonia causada por pneumococos, mas pode não ser no tratamento da meningite causada pelas mesmas cepas. Algumas cepas resistentes à penicilina também o são à cefotaxima. Ocorre igualmente resistência às tetraciclinas, à eritromicina e às fluoroquinolonas. Os pneumococos permanecem sensíveis à vancomicina. Como o perfil de resistência não é previsível, deveriam ser realizados como rotina testes de sensibilidade para todas as amostras isoladas de infecção.

Epidemiologia, prevenção e controle

A pneumonia pneumocócica é responsável por cerca de 60% dos casos de pneumonia bacteriana. No processo de desenvolvimento da doença, os fatores predisponentes (ver anteriormente) são mais importantes do que a exposição ao agente infeccioso, e o portador sadio é mais importante na propagação dos pneumococos do que o paciente doente.

É possível imunizar indivíduos com polissacarídeos específicos do tipo. Tais vacinas provavelmente podem proporcionar uma proteção de 90% contra a pneumonia bacteriêmica. Uma vacina polissacarídica contendo 23 tipos (PPSV-23) foi liberada nos EUA. Essas vacinas são recomendadas para adultos na faixa de 19 a 64 anos que apresentem condições médicas crônicas ou imunossupressoras como a asma. Todos os indivíduos com mais de 65 anos também deveriam ser rotineiramente vacinados com a PPSV-23. Uma vacina pneumocócica conjugada contém polissacarídeos capsulares conjugados com a proteína CRM₁₉₇* da *Corynebacterium diphtheriae*. Esta vacina hepta valente (PCV-7) foi aprovada em 2000 e promove proteção contra os sorotipos 4, 6B, 9V, 14, 18C, 19F e 23F. A PCV-7 foi recomendada para todas as crianças com 2 a 23 meses prevenindo contra infecções invasivas, e para crianças entre 24 e 59 meses. A implementação dessa vacina reduziu significativamente as infecções invasivas por esses sorotipos nos EUA e, em outros países nos 3 primeiros anos após sua introdução (ver Paradiso, 2011). Uma vacina 13 valente (PVC13) foi recentemente aprovada. Essa vacina conjugada contém polissacarídeos dos sorotipos encontrados na vacina PCV-7, mais os sorotipos 1, 3, 5, 6A, 7F e 19A. Ela é recomendada para todas as crianças com o esquema vacinal de 4 doses (2, 4, 6 e 12 a 15 meses). Crianças menores de 24 meses, que começaram sua vacinação com a PVC-7, devem completar o esquema vacinal com a PVC-13**. Crianças mais velhas, com vacinação completa com PCV-7, deveriam tomar dose única da PCV-13.

ENTEROCOCOS

Os enterococos possuem uma substância específica do grupo D, e foram anteriormente classificados como estreptococos do grupo D. Como o antígeno específico do grupo D é um ácido teicoico, não é um bom marcador de antigenicidade; os enterococos geralmente são identificados por outras características, diferentes da reação imunológica com o antissoro específico. Eles fazem parte da microbiota entérica normal; são geralmente não hemolíticos, mas ocasionalmente α -hemolíticos. Os enterococos são PYR-positivos, crescem na presença de bile e hidrolisam a esculina (bile-esculina positivos) ao contrário dos estreptococos do grupo D não estreptococos que apresentam

* N. de R.T. A proteína CRM197 é uma forma não tóxica da toxina da difteria, porém imunologicamente indistinguível da toxina da difteria. O CRM197 é produzido por uma amostra de *C. diphtheriae* infectada pelo corinefago não toxigênico (β 197.sup.tox) criado pela mutagênese do corinefago toxigênico β . Essa proteína é um carreador eficaz e seguro para conjugação com sacarídeos e está atualmente sendo utilizada em algumas vacinas conjugadas para *Haemophilus influenzae* tipo b.

** N. de R.T. No Brasil, a PVC-13 não está disponível no esquema vacinal adotado pelo Ministério da Saúde para campanha de vacinação infantil, e sim em uma versão anterior (PVC-10) contendo os sorotipos presentes na PCV-7 mais os sorotipos 1, 5 e 7F.

bom crescimento na presença de NaCl a 6,5%. Desenvolvem-se bem entre 10 e 45°C enquanto os demais estreptococos crescem a uma faixa menor de variação da temperatura. São mais resistentes à penicilina G do que os estreptococos, e raros isolados possuem plasmídeos que codificam as betalactamases. Muitos isolados são resistentes à vancomicina.

Existem pelo menos 37 espécies de enterococos, porém menos de 1/3 está associado a doenças humanas. O *Enterococcus faecalis* é o mais comum, e é responsável por 85 a 90% das infecções enterocócicas, enquanto o *Enterococcus faecium* causa 5 a 10%. Os enterococos estão entre as causas mais frequentes de infecções hospitalares, particularmente em unidades de tratamento intensivo, e são selecionados em consequência da terapia com cefalosporinas e outros antibióticos aos quais se mostram resistentes. São transmitidos de um paciente a outro primariamente por meio das mãos da equipe hospitalar, alguns dos quais podem abrigar os enterococos no trato gastrointestinal. Em certas ocasiões, os enterococos são transmitidos por meio de dispositivos médicos. Nos pacientes, os locais mais comuns de infecção são as vias urinárias, feridas, trato biliar e sangue. Os enterococos podem causar meningite e bacteriemia em lactentes. Em adultos, podem provocar endocardite. Todavia, em infecções intra-abdominais, de feridas, urinárias e outras, costumam ser cultivados com outras espécies de bactérias, tornando difícil a definição do papel patogênico dos enterococos nessas circunstâncias clínicas.

Resistência aos antibióticos

Um importante problema relacionado com os enterococos é a sua possível resistência acentuada aos antibióticos. Em geral, o *E. faecium* é muito mais resistente a antibióticos do que o *E. faecalis*.

A. Resistência intrínseca

Os enterococos são intrinsecamente resistentes a cefalosporinas, penicilinas resistentes à penicilinase e monobactâmicos. Têm baixa resistência intrínseca a inúmeros aminoglicosídeos, suscetibilidade intermediária ou resistência às fluoroquinolonas e menor suscetibilidade do que os estreptococos (10 a 1.000 vezes) a penicilina e ampicilina. São inibidos pelos β -lactâmicos (p. ex., ampicilina), mas geralmente não são destruídos por esses agentes.

B. Resistência aos aminoglicosídeos

O tratamento com combinações de um antibiótico ativo contra a parede celular (penicilina ou vancomicina) com um aminoglicosídeo (estreptomina ou gentamicina) é essencial nas infecções enterocócicas graves, como a endocardite. Apesar de os enterococos exibirem baixa resistência intrínseca aos aminoglicosídeos (CIM < 500 μ g/mL), apresentam suscetibilidade sinérgica quando tratados com um antibiótico ativo contra a parede celular em associação com um aminoglicosídeo. Todavia, alguns enterococos exibem alta resistência aos aminoglicosídeos (CIM > 500 μ g/mL) e não são suscetíveis ao sinergismo. A elevada resistência aos aminoglicosídeos deve-se à presença das enzimas enterocócicas que modificam tais fármacos. Os genes que codificam a maioria dessas enzimas encontram-se geralmente em plasmídeos conjugativos ou

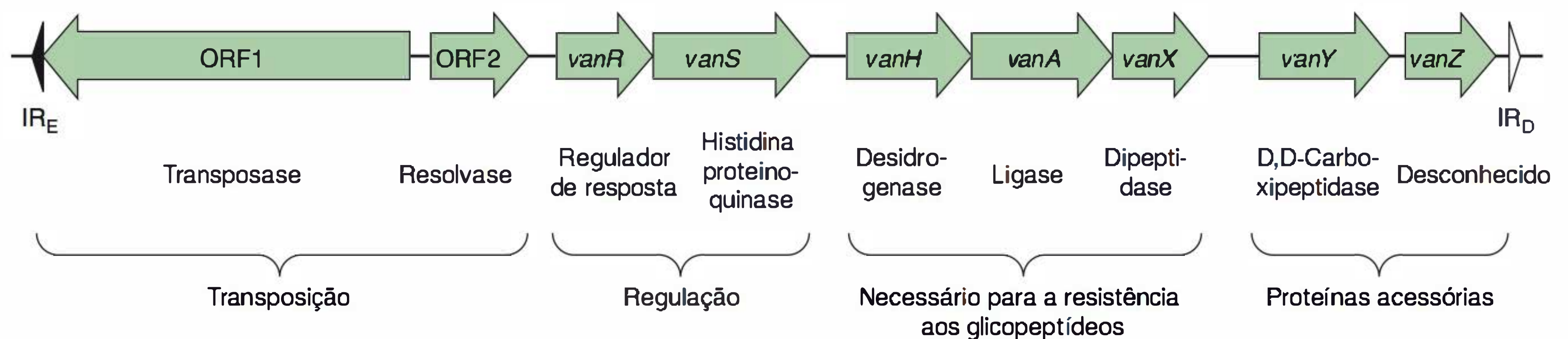


FIGURA 14.5 Mapa esquemático do transpósion Tn1546 de *Enterococcus faecium*, que codifica para a resistência à vancomicina. IR_E e IR_D indicam as repetições invertidas à esquerda e à direita do transpósion, respectivamente. (Reproduzida, com autorização, de Arthur M, Courvalin P: Genetics and mechanisms of glycopeptide resistance in enterococci. *Antimicrob Agents Chemother* 1993;37:1563.)

transpósions. As enzimas exibem atividade diferencial contra os aminoglicosídeos. A resistência à gentamicina indica resistência aos outros aminoglicosídeos, exceto a estreptomina. (A suscetibilidade à gentamicina não indica suscetibilidade a outros aminoglicosídeos.) A resistência à estreptomina não indica resistência do microrganismo a outros aminoglicosídeos. Em consequência, apenas a estreptomina ou gentamicina (ou ambas ou nenhuma) tendem a exibir atividade sinérgica com um antibiótico ativo contra a parede celular dos enterococos. Nas infecções graves por enterococos, devem ser efetuados testes de suscetibilidade para a alta resistência a aminoglicosídeos (CIM > 500 µg/mL para a gentamicina e >1.000 µg/mL para a estreptomina em caldo) para o prognóstico da eficácia terapêutica.

C. Resistência à vancomicina

O glicopeptídeo vancomicina constitui o principal fármaco alternativo à penicilina (mais um aminoglicosídeo) para tratamento das infecções enterocócicas. Nos EUA, houve aumento na frequência de enterococos resistentes à vancomicina, os quais não são sinérgicamente suscetíveis à vancomicina associada a um aminoglicosídeo. A resistência à vancomicina tem sido mais comum em *E. faecium*, mas também ocorrem cepas do *E. faecalis* resistentes à vancomicina.

Existem vários **fenótipos de resistência à vancomicina**. O fenótipo VanA manifesta-se por elevada resistência induzida a vancomicina e teicoplanina. Os fenótipos VanB exibem resistência induzida à vancomicina, porém são sensíveis à teicoplanina. As cepas VanC exibem resistência intermediária a moderada à vancomicina. O fenótipo VanC é constitutivo nas espécies isoladas com menor frequência, como o *Enterococcus gallinarum* (VanC-1) e o *Enterococcus casseliflavus* (VanC-2/VanC-3). O fenótipo VanD manifesta-se por resistência moderada à vancomicina e resistência de baixo nível ou suscetibilidade à teicoplanina. O fenótipo VanE classificado como resistente de baixo nível à vancomicina e suscetível à teicoplanina. Os fenótipos VanG e VanL isolados (em geral, *E. faecalis*) apresentam baixa resistência à vancomicina e são sensíveis à teicoplanina. A teicoplanina, um glicopeptídeo que tem muitas semelhanças com a vancomicina, está disponível na Europa, mas não nos EUA, e é importante na investigação do fenótipo de resistência dos enterococos à vancomicina.

A vancomicina e a teicoplanina interferem na síntese da parede celular das bactérias gram-positivas ao interagirem com o

grupo d-alanil-d-alanina (d-Ala-d-Ala) das cadeias pentapeptídicas dos precursores do peptidoglicano. O determinante da resistência à vancomicina mais estudado é o óperon VanA, um sistema de genes agrupados em um plasmídeo autotransferível que contém um transpósion estreitamente relacionado com a Tn1546 (Fig. 14.5). Existem duas estruturas de leitura abertas que codificam a transposase e a resolvase; os sete genes restantes codificam a resistência à vancomicina e proteínas acessórias. Os genes *vanR* e *vanS* formam um sistema regulador de dois componentes sensível à presença de vancomicina ou teicoplanina no ambiente. É necessária a presença de *vanH*, *vanA* e *vanX* para a resistência à vancomicina. Os genes *vanH* e *vanA* codificam proteínas envolvidas na produção do depsipeptídeo (d-Ala-d-lactato) em vez do peptídeo normal (d-Ala-d-Ala). O depsipeptídeo, quando ligado ao UDP-muramil-tripeptídeo, forma um precursor pentapeptídico que não se ligará à vancomicina e à teicoplanina. O gene *vanX* codifica uma dipeptidase que causa a depleção do dipeptídeo d-Ala-d-Ala normal do ambiente. Os genes *vanY* e *vanZ* não são essenciais para a resistência à vancomicina. O gene *vanY* codifica uma carboxipeptidase que cliva a d-Ala terminal do pentapeptídeo, causando a depleção de qualquer pentapeptídeo funcional do ambiente que possa ter sido produzido pelo processo de síntese normal da parede celular. Não se sabe exatamente a função do gene *vanZ*.

A exemplo de *vanA*, o *vanB* e o *vanD* codificam d-Ala-d-Lac, enquanto o *vanC* e o *vanE* codificam d-Ala-d-Ser.

Como os enterococos, que são resistentes à vancomicina, frequentemente carregam plasmídeos, que conferem resistência à ampicilina e a aminoglicosídeos, novos agentes, tais como daptomicina, linezolida, quinupristina/dalfopristina e tigeciclina são usados no tratamento de infecções causadas por enterococos vancomicina resistentes (Cap. 28).

D. Produção de β-lactamase e resistência aos β-lactâmicos

Nos EUA e em outros países, *E. faecalis* produtor de β-lactamase foi isolado de amostras de pacientes. Existe uma grande variação geográfica. Os microrganismos isolados no nordeste e no sul dos EUA parecem originar-se da disseminação de uma única cepa, sugerindo que ocorre propagação para outras áreas geográficas. O gene que codifica a β-lactamase enterocócica é o mesmo gene encontrado no *S. aureus*, expresso constitutivamente nos enterococos, enquanto é induzível nos estafilococos.

Como os enterococos podem produzir pequenas quantidades da enzima, podem parecer suscetíveis à penicilina e à ampicilina nos antibiogramas de rotina. A β -lactamase pode ser detectada por utilização de um grande inóculo e do teste da cefalosporina cromogênica, ou por outros métodos. A produção de β -lactamase é frequentemente acompanhada de resistência de alto nível à gentamicina. Os genes que codificam essas duas propriedades localizam-se em plasmídeos conjugativos, podendo ser transferidos de uma cepa de enterococo para outra. As infecções causadas por enterococos produtores de β -lactamase podem ser tratadas com a combinação de penicilina e inibidores da β -lactamase ou vancomicina (e estreptomina), após a demonstração de suscetibilidade *in vitro*.

E. Resistência a sulfametoxazol-trimetoprima

Os enterococos frequentemente exibem suscetibilidade a sulfametoxazol-trimetoprima em testes *in vitro*, mas esses fármacos não são eficazes no tratamento de infecções. Tal discrepância decorre da capacidade dos enterococos de utilizarem folatos exógenos disponíveis *in vivo*, escapando, assim, da inibição pelos fármacos.

OUTROS COCOS GRAM-POSITIVOS CATALASE-NEGATIVOS

Existem cocos ou cocobacilos gram-positivos não estreptocócicos que ocasionalmente causam doenças (Quadro 14.2). Esses microrganismos apresentam muitas características morfológicas e de crescimento semelhantes às dos estreptococos *viridans*. Podem ser α -hemolíticos ou não hemolíticos. A maioria é catalase-negativa, enquanto outros podem ser fracamente catalase-positivos. *Pediococcus* e *Leuconostoc* são gêneros cujos membros se mostram **resistentes à vancomicina**. Os lactobacilos são anaeróbios que podem ser aerotolerantes e α -hemolíticos, assumindo, algumas vezes, formas cocobacilares semelhantes às dos estreptococos *viridans*. Os **lactobacilos** são, em sua maioria (80 a 90%), resistentes à vancomicina. Outros microrganismos que às vezes provocam doença, devendo ser diferenciados dos estreptococos e dos enterococos, são *Lactococcus*, *Aerococcus* e *Gemella*, gêneros que geralmente exibem **suscetibilidade à vancomicina**. *Rothia mucilaginosa* era anteriormente considerado *Staphylococcus*, mas é catalase-negativo, e as colônias exibem aderência distinta ao ágar.

QUADRO 14.2 Cocobacilos e cocos gram-positivos, catalase-negativos não estreptocócicos encontrados com mais frequência

Gênero ^a	Catalase	Coloração pelo método de Gram	Suscetibilidade à vancomicina	Comentário
<i>Abiotrophia</i> ^b (variante nutricional de estreptococo)	Negativa	Cocos em pares, cadeias curtas	Suscetível	Microbiota normal da cavidade oral; isolado de casos de endocardite
<i>Aerococcus</i>	Negativa ou fracamente positiva	Cocos em tétrades ou aglomerados	Suscetível	Microrganismos do ambiente isolados ocasionalmente do sangue, da urina ou de locais estéreis
<i>Gemella</i>	Negativa	Cocos em pares, tétrades, aglomerados e em cadeias curtas	Suscetível	Perde a cor facilmente, podendo parecer gram-negativo; cresce lentamente (48 h); faz parte da microbiota normal humana; isolado ocasionalmente do sangue e de locais estéreis
<i>Granulicatella</i> ^b (variante nutricional de estreptococo)	Negativa	Cocos em cadeias, aglomerados	Suscetível	Microbiota normal da cavidade oral; isolados de casos de endocardite
<i>Leuconostoc</i>	Negativa	Cocos em pares e em cadeias; cocobacilos, bastonetes	Resistente	Microrganismos ambientais assemelham-se aos enterococos em ágar-sangue; isolados de uma ampla variedade de infecções
<i>Pediococcus</i>	Negativa	Cocos em pares, tétrades e aglomerados	Resistente	Presente em alimentos e fezes humanas; isolados ocasionalmente do sangue e de abscessos
<i>Lactobacillus</i>	Negativa	Cocobacilos, bastonetes em pares e cadeias	Resistente (90%)	Anaeróbios aerotolerantes geralmente classificados como bacilos; microbiota vaginal normal; encontrados ocasionalmente em infecções de locais profundos

^aOutros gêneros em que isolados de seres humanos são raros ou incomuns: *Alloiococcus*, *Facklamia*, *Globicatella*, *Helcococcus*, *Lactococcus*, *Tetragenococcus*, *Vagococcus*, *Weissella*.

^bRequer piridoxal para crescer.

Verificação de conceitos

- As espécies de estreptococos *viridans* e de enterococos fazem parte da microbiota normal humana oral e gastrintestinal, porém podem também estar associadas a infecções sérias, tais como bacteriemia e endocardites sob certas condições.
- *S. pneumoniae* é um microrganismo α -hemolítico e sensível à optoquina. Sua virulência está associada à presença de uma cápsula polissacarídica que inibe a fagocitose e a opsonização.
- *S. pneumoniae* é a principal causa de pneumonias comunitárias, podendo se disseminar por via hematogênica para o sistema nervoso central. Doenças invasivas são preveníveis por vacinação, tanto com a vacina polissacarídica 23-valente (adultos) quanto pela vacina conjugada 13-valente (crianças). A resistência a diferentes antibióticos tem sido um problema em certas regiões geográficas.
- Os enterococos são caracterizados pela variedade de determinantes de resistência para β -lactâmicos, glicopeptídeos, aminoglicosídeos, entre outros. Novos agentes como a linezolida são usados para o tratamento de infecções causadas por enterococos resistentes à vancomicina.

QUESTÕES DE REVISÃO

- Um homem de 48 anos de idade é admitido em um hospital devido a estupor. Desabrigado, vive em um acampamento com outras pessoas, também desabrigadas, recolhidas pelas autoridades. O paciente costuma tomar uma dose de vinho fortificante e, nas duas noites anteriores, bebeu em excesso. A temperatura corporal é de 38,5°C, e a pressão sanguínea é de 125/80 mmHg. Ele reclama quando se tenta estimulá-lo. O paciente tem sinais de Kernig e Brudzinski positivos, sugestivos de irritação das meninges. O exame físico e a radiografia mostraram evidências de consolidação no lobo inferior do pulmão esquerdo. O aspirado endotraqueal mostrou escarro cor de ferrugem. O exame de esfregaço do escarro corado por Gram revelou inúmeras células polimorfonucleares e muitos diplococos gram-positivos em forma de lanceta. Foi realizada punção lombar, tendo sido obtido um líquido cerebrospinal turvo e com uma contagem de leucócitos de 570 μ L, com 95% de células polimorfonucleares; a coloração de Gram mostrou diplococos gram-positivos. Com base nestas informações, o provável diagnóstico é:
 - Pneumonia e meningite causadas pelo *Staphylococcus aureus*
 - Pneumonia e meningite causadas pelo *Streptococcus pyogenes*
 - Pneumonia e meningite causadas pelo *Streptococcus pneumoniae*
 - Pneumonia e meningite causadas pelo *Enterococcus faecalis*
 - Pneumonia e meningite causadas pela *Neisseria meningitidis*
- O paciente da Questão 1 iniciou antibioticoterapia para os possíveis microrganismos. Posteriormente, a cultura do escarro e líquido cerebrospinal apresentou diplococos gram-positivos com uma concentração inibitória mínima à penicilina G > 2 μ g/mL. Até que o teste de suscetibilidade possa ser feito, o paciente deve receber:
 - Penicilina G
 - Nafcilina
 - Sulfametoxazol-trimetoprima
 - Gentamicina
 - Vancomicina
- A infecção (Questão 1) poderia ter sido prevenida por:
 - Administração profilática de penicilina benzatina intramuscular a cada 3 semanas
 - Vacina polissacarídica capsular 23-valente
 - Uma vacina contra os sorogrupos A, C e Y, bem como o polissacarídeo capsular W135
 - Uma vacina do polissacarídeo capsular polirribosilribitol ligada covalentemente a uma proteína
 - Penicilina V oral duas vezes ao dia
- A patogênese do microrganismo causador da infecção (Questão 1) inclui qual das seguintes alternativas?
 - Invasão das células adjacentes aos alvéolos e entrada pelas vênulas da circulação pulmonar
 - Resistência à fagocitose mediada pelas proteínas M
 - Migração para os linfonodos mediastinais, em que ocorre hemorragia
 - Lise do vacúolo fagocítico e disseminação para a circulação
 - Inibição da fagocitose pela cápsula polissacarídica
- A vacina conjugada 7-valente do polissacarídeo capsular conjugado à proteína para o patógeno da Questão 1 é recomendada:
 - A pacientes de 18 anos de idade e adultos selecionados
 - Somente no caso de exposição de um paciente com a doença causada pelo microrganismo
 - Para crianças de 2 a 23 meses mais crianças selecionadas de até 59 meses
 - Para crianças de 24 a 72 meses de idade
 - Para todos os grupos de idade acima de 2 meses
- Um menino de 8 anos de idade desenvolve dor de garganta grave. Ao exame, um exsudato branco-acinzentado é visto nas tonsilas e na faringe. O diagnóstico diferencial inclui infecção por estreptococo do grupo A, vírus Epstein-Barr, infecção grave por adenovírus e difteria. (Faringite por *Neisseria gonorrhoeae* também poderia ser incluída, mas o paciente não sofreu abuso sexual.) A causa mais provável da faringite do garoto é:
 - Cocos gram-positivos catalase-negativos que crescem em cadeias
 - Um vírus de RNA de fita simples com polaridade positiva
 - Um coco gram-positivo, catalase-positivo que cresce em aglomerados
 - Bacilo gram-positivo, catalase-negativo
 - Um vírus de RNA de fita dupla
- Um mecanismo primário, responsável pela patogênese da doença do menino (Questão 6), consiste em:
 - Nítido aumento intracelular do monofosfato de adenosina cíclica
 - Ação da proteína M
 - Ação da protease IgA1
 - Ação da enterotoxina A
 - Inativação do fator de alongamento 2
- Uma mulher de 40 anos de idade desenvolve dor de cabeça grave e febre. O exame neurológico está normal. Uma tomografia cerebral mostra lesão em forma de anel no hemisfério esquerdo. Na cirurgia, é encontrado um abscesso. Na cultura do material, cresceu um bacilo gram-negativo anaeróbico (*Bacteroides fragilis*) e um coco gram-positivo, catalase-negativo que aparece, na coloração de Gram, em pares e cadeias. O microrganismo é β -hemolítico e forma colônias muito pequenas (< 0,5 mm de diâmetro) e, segundo uma pessoa, tem odor semelhante ao de manteiga rançosa. Ele aglutina com antissoro para o grupo F. O microrganismo mais provável é:

- (A) *Streptococcus pyogenes* (grupo A)
 (B) *Enterococcus faecalis* (grupo D)
 (C) *Streptococcus agalactiae* (grupo B)
 (D) Grupo do *Streptococcus anginosus*
 (E) *Staphylococcus aureus*
9. O método mais importante para diferenciação e classificação dos estreptococos é constituído por:
- (A) Aglutinação com o uso de antissoro contra a substância específica do grupo da parede celular
 (B) Testes bioquímicos
 (C) Propriedades hemolíticas (α e β -hemólise, não hemolíticos)
 (D) Reação de intumescimento capsular (reação de Neufeld-Quellung)
 (E) Nenhuma das opções
10. Uma menina de 8 anos de idade desenvolve a síndrome de Sydenham (“dança de São Vito”) com movimentos rápidos e desordenados da face bem como movimentos involuntários dos membros, fortemente sugestivos de febre reumatoide aguda. Ela não apresentou outras das principais manifestações da febre reumática (cardite, artrite, nódulos subcutâneos, eritema cutâneo). O exame de cultura do material da garganta é negativo para o *Streptococcus pyogenes* (estreptococo do grupo A). Entretanto, ela, sua irmã e sua mãe tiveram dor de garganta 2 meses atrás. Um teste que, se for positivo, pode indicar infecção recente por *S. pyogenes* é:
- (A) Títulos de anticorpos antiestreptolisina S
 (B) Reação em cadeia da polimerase para os anticorpos contra a proteína M
 (C) Título de anticorpos antiestreptolisina O
 (D) Hidrólise da esculina
 (E) Título de anticorpos antiácido hialurônico
11. Todas as afirmações a seguir, a respeito da cápsula de ácido hialurônico de *Streptococcus pyogenes*, estão corretas, exceto:
- (A) Ela é responsável pelo aspecto mucoide das colônias *in vitro*
 (B) Ela é antifagocítica
 (C) Liga-se ao CD44 em células epiteliais humanas
 (D) É um importante fator de virulência
 (E) Existe uma vacina disponível contra a cápsula
12. Os enterococos podem ser distinguidos dos estreptococos do Grupo D não enterocócicos com base em qual das seguintes características?
- (A) γ -Hemólise
 (B) Hidrólise da esculina
 (C) Crescimento em NaCl a 6,5%
 (D) Crescimento na presença de bile
 (E) Morfologia pela coloração de Gram
13. Qual das seguintes afirmativas a respeito do *Streptococcus bovis* está correta?
- (A) Possui o antígeno de Lancefield Grupo D
 (B) Algumas cepas são resistentes à vancomicina
 (C) As infecções causadas por esses microrganismos são benignas
 (D) Todas as subespécies são PYR positivas
 (E) Todas as subespécies são β -hemolíticas
14. Qual dos seguintes gêneros requer piridoxal para crescer?
- (A) *Aerococcus*
 (B) *Granulicatella*
 (C) *Enterococcus*
 (D) *Leuconostoc*
 (E) *Pediococcus*

15. Qual dos seguintes gêneros é em geral resistente à vancomicina?
- (A) *Aerococcus*
 (B) *Gemella*
 (C) *Pediococcus*
 (D) *Streptococcus*
 (E) *Abiotrophia*

Respostas

- | | | | |
|------|------|-------|-------|
| 1. C | 5. C | 9. E | 13. A |
| 2. E | 6. A | 10. C | 14. B |
| 3. B | 7. B | 11. E | 15. C |
| 4. E | 8. D | 12. C | |

REFERÊNCIAS

- Arias CA, Murray BE: *Enterococcus* species, *Streptococcus bovis* group, and *Leuconostoc* species. In Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (editors). *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*, 7th ed. Elsevier, 2010.
- Bisno AL: Nonsuppurative poststreptococcal sequelae: Rheumatic fever and glomerulonephritis. In Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (editors). *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*, 7th ed. Elsevier, 2009.
- Bisno AL, Stevens DL: *Streptococcus pyogenes*. In Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (editors). *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*, 7th ed. Elsevier, 2010.
- Chow JW: Aminoglycoside resistance in enterococci. *Clin Infect Dis* 2000;31:586.
- Cunningham MW: Pathogenesis of group A streptococcal infections and their sequelae. *Adv Exp Med Biol* 2008;609:29.
- Edwards MS, Baker CJ: *Streptococcus agalactiae* (group B streptococcus). In Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (editors). *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*, 7th ed. Elsevier, 2010.
- Facklam R, Elliott JA: Identification, classification, and clinical relevance of catalase-negative, gram-positive cocci, excluding the streptococci and enterococci. *Clin Microbiol Rev* 1995;8:479.
- Murray BE: Vancomycin-resistant enterococcal infections. *N Engl J Med* 2000;342:710.
- Musher DM: *Streptococcus pneumoniae*. In Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (editors). *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*, 7th ed. Elsevier, 2010.
- Paradiso PR. Advances in pneumococcal disease prevention: 13-valent pneumococcal conjugate vaccine for infants and children. *Clin Infect Dis* 2011;52:1241.
- Petti CA, Stratton CW: *Streptococcus anginosus* group. In Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (editors). *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*, 7th ed. Elsevier, 2010.
- Ruoff KL: *Aerococcus*, *Abiotrophia*, and other infrequently isolated aerobic catalase-negative grampositive cocci. In Versalovic J, Carroll KC, Funke G et al. (editors). *Manual of Clinical Microbiology*, 10th ed. ASM Press, 2011.
- Ruoff, KL, Bisno AL: Classification of streptococci. In Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (editors). *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*, 7th ed. Elsevier, 2010.
- Schlegel L, Grimont F, Ageron E et al.: Reappraisal of the taxonomy of the *Streptococcus bovis*/*Streptococcus equinus* complex and related species: description of *Streptococcus gallolyticus* subsp. *gallolyticus* subsp. nov., *S. gallolyticus* subsp. *macedonicus* subsp. nov. and *S.*

- gallolyticus* subsp. *pasteurianus* subsp. nov. *Int J Syst Evol Microbiol* 2003;3:631–645.
- Sendi P, Johansson L, Norrby-Teglund A: Invasive group B streptococcal disease in non-pregnant adults. *Infection* 2008;36:100.
- Sinner SW, Tunkel AR: Viridans streptococci, groups C and G streptococci, *Gemella morbillorum*. In Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (editors). *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*, 7th ed. Elsevier, 2010.
- Spellerberg B, Brandt C: *Streptococcus*. In Versalovic J, Carroll KC, Funke G et al. (editors). *Manual of Clinical Microbiology*, 10th ed. ASM Press, 2011.
- Stollerman GH, Dale JB: The importance of the group A streptococcus capsule in the pathogenesis of human infections: A historical perspective. *Clin Infect Dis* 2008;46:1038.
- Teixeira LM et al.: *Enterococcus*. In Versalovic J, Carroll KC, Funke G et al. (editors). *Manual of Clinical Microbiology*, 10th ed. ASM Press, 2011.
- Vaska VL, Faoagali JL: *Streptococcus bovis* bacteraemia: Identification within organism complex and association with endocarditis and colonic malignancy. *Pathology* 2009;41:183.
- Wilson W, Taubert KA, Gewitz M et al.: Prevention of infective endocarditis: Guidelines from the American Heart Association: A guideline from the American Heart Association Rheumatic Fever, Endocarditis, and Kawasaki Disease Committee, Council on Cardiovascular Disease in the Young, and the Council on Clinical Cardiology, Council on Cardiovascular Surgery and Anesthesia, and the Quality of Care and Outcomes Research Interdisciplinary Working Group. *Circulation* 2007;116:1736–1754.

Bacilos entéricos gram-negativos (Enterobacteriaceae)

As Enterobacteriaceae constituem um grande grupo heterogêneo de bacilos gram-negativos cujo *habitat* natural é o trato intestinal de seres humanos e animais. A família abrange muitos gêneros (*Escherichia*, *Shigella*, *Salmonella*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Serratia*, *Proteus* e outros). Alguns microrganismos entéricos, tais como a *Escherichia coli*, fazem parte da microbiota normal e acidentalmente provocam doenças, enquanto outros, como as salmonelas e *shigelas*, são regularmente patogênicos para os seres humanos. As Enterobacteriaceae são anaeróbios facultativos ou aeróbios, que fermentam ampla variedade de carboidratos, têm uma estrutura antigênica complexa e produzem diversas toxinas e outros fatores de virulência. Os termos Enterobacteriaceae, bacilos gram-negativos entéricos e bactérias entéricas são utilizados neste capítulo, mas essas bactérias também podem ser denominadas coliformes.

CLASSIFICAÇÃO

As Enterobacteriaceae constituem o grupo mais comum de bacilos gram-negativos cultivados em laboratório clínico, e estão entre as bactérias mais comuns que causam doença, juntamente com os estafilococos e os estreptococos. A taxonomia das Enterobacteriaceae é complexa e está sofrendo rápidas mudanças desde a introdução das técnicas que medem a distância evolutiva, como a hibridização e o sequenciamento de ácidos nucleicos. De acordo com a National Library of Medicine's Internet Taxonomy database, (disponível em <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi>) 51 gêneros foram definidos; porém, as Enterobacteriaceae de importância clínica compreendem 20 a 25 espécies, enquanto outras espécies são raramente encontradas. Neste capítulo, as complexidades taxonômicas serão minimizadas, e serão utilizados em geral os termos comumente empregados na literatura médica. Uma abordagem abrangente da identificação das Enterobacteriaceae é apresentada nos Capítulos 35, 36 e 37 de Versalovic *et al.*, 2011.

Os membros da família Enterobacteriaceae apresentam as seguintes características: são bacilos gram-negativos, móveis com flagelos peritríquios ou imóveis; crescem em meios de peptona ou extrato de carne sem acréscimo de cloreto de sódio ou outros suplementos; crescem adequadamente em ágar de MacConkey; apresentam crescimento aeróbio e anaeróbio (são anaeróbios facultativos); fermentam a glicose em vez de

oxidá-la, frequentemente com produção de gás; são catalase-positivos, oxidase-negativos e reduzem o nitrato a nitrito; e apresentam um conteúdo de 39 a 59% de DNA G + C. No Quadro 15.1, são fornecidos exemplos de testes bioquímicos utilizados para diferenciar as espécies de Enterobacteriaceae. Existem muitos outros testes além dos arrolados. Nos EUA, *kits* disponíveis comercialmente ou sistemas automatizados são amplamente empregados com essa finalidade. A implementação da espectrometria de massa pela técnica de ionização por dessorção a *laser* assistida por matriz, seguida de análise por tempo de voo, em sequência (MALDI-TOF MS) para identificação de isolados clínicos poderá brevemente substituir os painéis bioquímicos atualmente utilizados na maioria dos laboratórios de microbiologia. Essa nova tecnologia parece funcionar bem na identificação da maioria das espécies de Enterobacteriaceae encontradas nos diferentes espécimes clínicos (exceto espécies de *Shigella*), uma vez que essa tecnologia não diferencia *Shigella* de *E. coli*.

Os principais grupos de Enterobacteriaceae são descritos e discutidos de modo sucinto nos parágrafos adiante. As características específicas das salmonelas, *shigelas* e outros bacilos gram-negativos entéricos de importância clínica, bem como as doenças que eles causam são discutidas neste capítulo.

Morfologia e identificação

A. Microrganismos típicos

As Enterobacteriaceae são bacilos gram-negativos curtos (Fig. 15.1A). Sua morfologia típica é observada durante o crescimento em meios sólidos *in vitro*, mas é altamente variável em amostras clínicas. As cápsulas são grandes e regulares nas espécies de *Klebsiella*, menores nas de *Enterobacter* e incomuns nas outras espécies.

B. Cultura

A *E. coli* e a maioria das outras bactérias entéricas formam colônias lisas, circulares e convexas com margens distintas. As colônias de *Enterobacter* são semelhantes, porém um pouco mais mucoides. As colônias de *Klebsiella* são grandes e muito mucoides tendendo a coalescer com incubação prolongada. As salmonelas e *shigelas* produzem colônias semelhantes às de *E. coli*, mas não fermentam a lactose. Algumas cepas de *E. coli* causam hemólise em ágar-sangue.

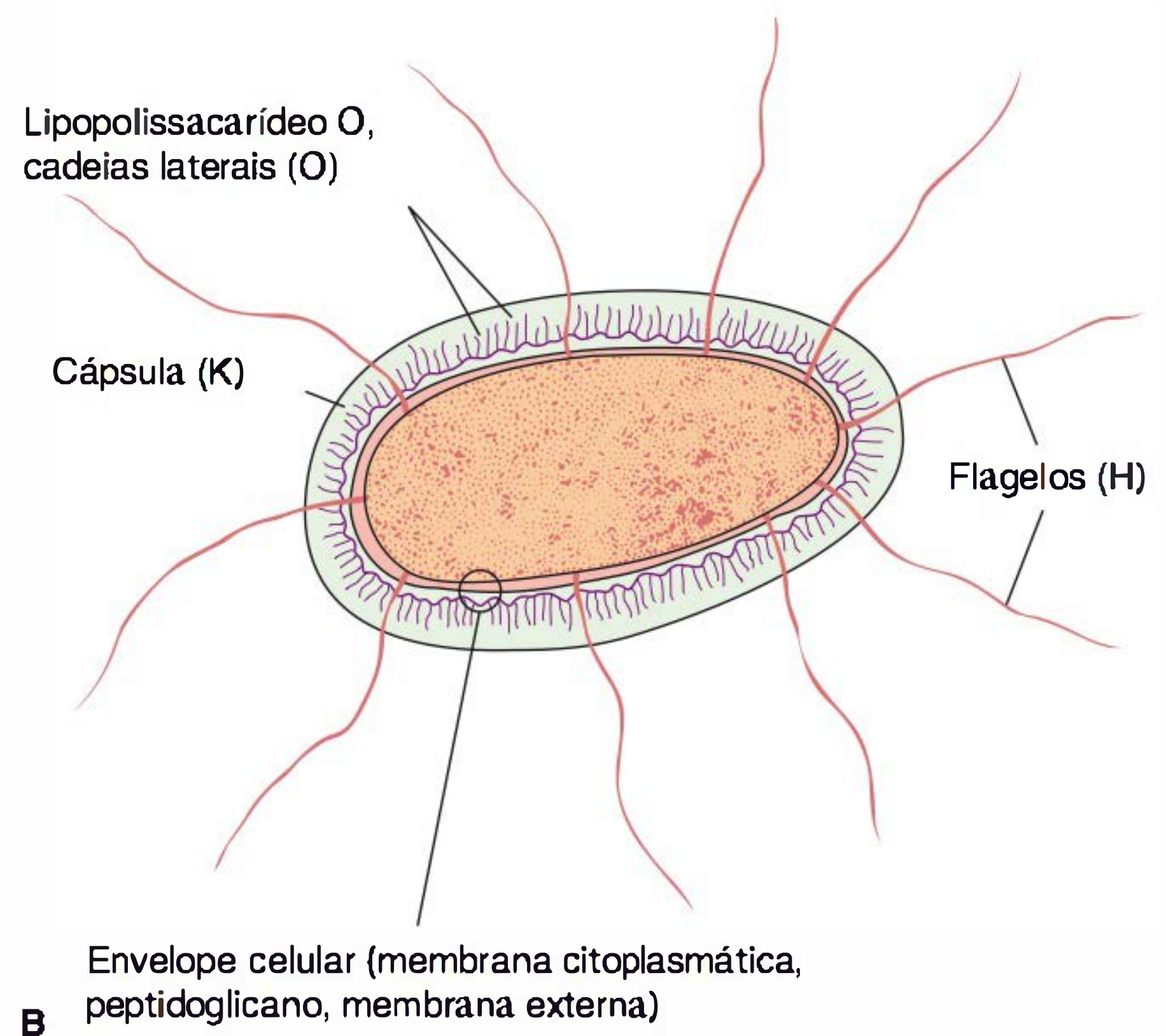
QUADRO 15.1 Exemplos de reações bioquímicas de alguns bacilos entéricos gram-negativos^a

	Produção de indol	Vermelho de metila	Voges-Proskauer	Citrato de Simmon	Sulfito de hidrogênio	Hidrólise da ureia	Fenilalanina desaminase	Lisina descarboxilase	Arginina di-hidrolase	Ornitina descarboxilase	Motilidade (36°C)	Hidrólise da gelatina (22°C)	d-Glicose, ácido	d-Glicose, gás	Fermentação da lactose	Fermentação da sacarose	Fermentação do d-manitol	Fermentação do dulcitol	Fermentação do adonitol	Fermentação do d-sorbitol	Fermentação da l-arabinose	Fermentação da rafinose	Fermentação da l-ramnose	Fermentação da d-xilose	Fermentação da melibiose
<i>Citrobacter freundii</i>	5	100	0	95	80	70	0	0	65	20	95	0	100	95	50	30	99	55	0	98	100	30	999	99	50
<i>Enterobacter aerogenes</i>	0	5	98	95	0	2	0	98	0	98	97	0	100	100	95	100	100	5	98	100	100	96	99	100	99
<i>Enterobacter cloacae</i>	0	5	100	100	0	65	0	0	97	96	95	0	100	100	93	97	100	15	25	95	100	92	100	100	90
<i>Escherichia coli</i>	98	99	0	1	1	1	0	90	17	65	95	0	100	95	95	50	98	60	5	94	99	50	80	95	75
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	0	10	98	98	0	95	0	98	0	0	0	0	100	97	98	99	99	30	90	99	99	99	99	99	99
<i>Klebsiella oxytoca</i>	99	20	95	95	0	90	1	99	0	0	0	0	100	97	10	100	99	55	99	99	98	100	100	100	99
<i>Morganella morganii</i>	98	97	0	0	5	98	95	0	0	98	95	0	100	90	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Proteus mirabilis</i>	2	97	50	65	98	98	98	0	0	99	95	90	100	96	2	15	0	0	0	0	0	1	1	98	0
<i>Salmonella choleraesuis</i>	0	100	0	25	50	0	0	95	55	100	95	0	100	95	0	0	98	5	0	90	0	1	100	98	45
<i>Salmonella typhi</i>	0	100	0	0	97	0	0	98	3	0	97	0	100	0	1	0	100	0	0	99	2	0	98	82	100
<i>Salmonella, maioria dos sorotipos</i>	1	100	0	95	95	1	0	98	70	97	95	0	100	96	1	1	100	96	0	95	99	2	95	97	95
<i>Serratia marcescens</i>	1	20	98	98	0	15	0	99	0	99	97	90	100	55	2	99	99	0	40	99	0	2	0	7	0
<i>Shigella sonnei</i>	0	100	0	0	0	0	0	0	2	98	0	0	100	0	2	1	99	0	0	2	95	3	75	2	25
<i>Shigella dysenteriae, flexneri, boydii</i>	50	100	0	0	0	0	0	0	5	1	0	0	100	2	0	0	99	2	0	30	60	50	5	2	50

^a Reproduzido, com autorização, de Farmer JJ 3 rd, Davis BR, Hickman-Brenner FW, et al: Biochemical identification of new species and biogroups of Enterobacteriaceae isolated from clinical specimens. *J Clin Microbiol* 1985,21:46.



A



B

FIGURA 15.1 A. Coloração de Gram de *Escherichia coli*. Aumento original de 1.000 vezes. (Cortesia de H. Reyes.) B. Estrutura antigênica de Enterobacteriaceae.

C. Características de crescimento

Os padrões de fermentação dos carboidratos e a atividade dos aminoácidos descarboxilases e outras enzimas são utilizados na diferenciação bioquímica (Quadro 15.1). Alguns testes (p. ex., a produção de indol a partir do triptofano) são comumente utilizados em sistemas de identificação rápida, enquanto outros, como a reação de Voges-Proskauer (produção de acetilmetilcarbinol a partir da dextrose), são utilizados com menor frequência. A cultura em meios “diferenciais” que contenham corantes especiais e carboidratos (p. ex., eosina-azul de metileno [EMB], meio de MacConkey ou desoxicolato) distingue as colônias fermentadoras de lactose (coloridas) daquelas que não fermentam a lactose (não pigmentadas), e podem permitir uma rápida identificação presuntiva das bactérias entéricas (Quadro 15.2).

Muitos meios de cultura complexos foram elaborados para ajudar na identificação das bactérias entéricas. Um deles é o ágar com açúcar e ferro triplice (TSI), frequentemente utilizado para ajudar a diferenciar salmonelas e *Shigelas* de outros bacilos gram-negativos entéricos em coproculturas. O meio contém glicose a 0,1%, sacarose a 1%, lactose a 1%, sulfato ferroso (para a detecção da produção de H_2S), extratos teciduais (substrato de crescimento proteico) e um indicador de pH (vermelho-fenol). O meio é distribuído em tubo de ensaio inclinado para a formação de uma base profunda, sendo inoculado para que ocorra crescimento bacteriano no interior dessa base. Se houver apenas fermentação da glicose, a área inclinada e a base irão se tornar inicialmente amarelas em consequência da pequena quantidade de ácido produzido; à medida que os produtos de fermentação são subsequentemente oxidados em CO_2 e H_2O , bem como liberados a partir da área inclinada, e à medida que prossegue a descarboxilação oxidativa das proteínas com a formação de aminas, a área inclinada torna-se alcalina (vermelha). Se a lactose ou sacarose forem fermentadas, haverá a produção de uma quantidade tão grande de ácido que a área inclinada e a base permanecerão amarelas (ácidas).

Em geral, as salmonelas e *Shigelas* resultam em área inclinada alcalina e base ácida. Embora espécies de *Proteus*, *Providencia* e *Morganella* produzam uma área inclinada alcalina e base ácida, podem ser identificados pela rápida formação da cor vermelha em meio de ureia de Christensen. Os microrganismos que produzem ácido na área inclinada, bem como ácido e gás (bolhas) na base são outras bactérias entéricas.

1. *Escherichia* — *E. coli* apresenta reações positivas para os testes de indol, lisina descarboxilase e fermentação do manitol, produzindo gás a partir da glicose. Os microrganismos isolados da

QUADRO 15.2 Identificação presuntiva rápida de bactérias entéricas gram-negativas

Lactose fermentada rapidamente

Escherichia coli: brilho metálico em meio diferencial; móvel; colônias planas, não viscosas

Enterobacteraerogenes: colônias aumentadas, ausência de brilho metálico; frequentemente móveis, mais viscosas

Enterobactercloacae: similares à *Enterobacteraerogenes*

Klebsiella pneumoniae: muito viscosas, crescimento mucoide; imóveis

Lactose fermentada lentamente

Edwardsiella, *Serratia*, *Citrobacter*, *Arizona*, *Providencia*, *Erwinia*

Lactose não fermentada

Espécies *Shigella*: imóveis; não produzem gás a partir de dextrose

Espécies *Salmonella*: móveis; formação de ácido e geralmente gás a partir da dextrose

Espécies *Proteus*: “véu” no ágar; ureia rapidamente hidrolisada (odor de amônia)

Espécies *Pseudomonas* (Cap. 16): pigmentos solúveis, fluorescência azul-esverdeada, odor adocicado

urina podem ser rapidamente identificados, como a *E. coli* por hemólise em ágar-sangue, pela morfologia típica das colônias com “brilho” iridescente em meios diferenciais, tais como ágar-EMB, e por teste do indol positivo. Mais de 90% das *E. coli* isoladas são positivas para β -glicuronidase quando se utiliza o substrato 4-metilumbeliferil- β -glicuronídeo (MUG). Os microrganismos isolados de locais anatômicos, além da urina, com propriedades características (inclusive as anteriormente citadas, além de testes negativos para a oxidase) quase sempre podem ser identificados, como a *E. coli*, pelo resultado positivo no teste do MUG.

2. Grupo da *Klebsiella-Enterobacter-Serratia* — as espécies de *Klebsiella* exibem crescimento mucoide, grandes cápsulas de polissacarídeo e ausência de motilidade. Em geral, apresentam reações positivas para os testes de lisina descarboxilase e citrato. A maioria das espécies de *Enterobacter* apresenta resultados positivos nos testes para motilidade, citrato e ornitina-decarboxilase, produzindo gás a partir da glicose. *Enterobacter aerogenes* possui cápsulas pequenas. As espécies de *Serratia* produzem DNase, lipase e gelatinase. Já as espécies de *Klebsiella*, *Enterobacter* e de *Serratia*, em geral, apresentam reações de Voges-Proskauer positivas.

3. Grupo do *Proteus-Morganella-Providencia* — os membros desse grupo desaminam a fenilalanina são móveis, crescem em meio de cianeto de potássio (KCN) e fermentam a xilose. As espécies de *Proteus* movem-se de forma muito ativa por meio de flagelos peritríquios, resultando na formação de um “véu” em meios sólidos, a menos que a motilidade seja inibida por substâncias químicas (p. ex., álcool fenilético ou meio CLED [deficiente em cistina-lactose-eletrólitos]). As espécies de *Proteus* e a *Morganella morganii* são urease-positivas, enquanto as espécies de *Providencia* geralmente são urease-negativas. O grupo *Proteus-Providencia* fermenta a lactose muito lentamente ou não o faz. *Proteus mirabilis* é mais suscetível aos antimicrobianos, inclusive penicilinas, do que os outros membros do grupo.

4. *Citrobacter* — essas bactérias são citrato-positivas e diferem das salmonelas, uma vez que não descarboxilam a lisina. Fermentam a lactose muito lentamente ou não o fazem.

5. *Shigella* — as *Shigelas* não são móveis e, em geral, não fermentam a lactose, enquanto fermentam outros carboidratos, produzindo ácido, mas não gás. Não produzem H_2S . As quatro espécies de *Shigella* estão estreitamente relacionadas com a *E. coli*. Muitas compartilham antígenos entre si e com outras bactérias entéricas (p. ex., *Hafnia alvei* e *Plesiomonas shigelloides*).

6. *Salmonella* — as salmonelas são bacilos móveis que, em geral, fermentam a glicose e a manose sem a produção de gás, mas não fermentam a lactose nem a sacarose. A maioria produz H_2S . São frequentemente patogênicas para seres humanos e animais quando ingeridas. Organismos originalmente descritos no gênero *Arizona* estão incluídos como subespécies no grupo das salmonelas.

7. Outras Enterobacteriaceae — as espécies de *Yersinia* são discutidas no Capítulo 19. Outros gêneros ocasionalmente encontrados em infecções humanas são o *Cronobacter*, *Edwardsiella*, *Ewingella*, *Hafnia*, *Cedecea* e *Kluyvera*.

Estrutura antigênica

As espécies de Enterobacteriaceae possuem uma estrutura antigênica complexa. São classificadas por mais de 150 diferentes antígenos somáticos O (lipopolissacarídeos) termoestáveis, mais de 100 antígenos K (capsulares) termolábeis e mais de 50 antígenos H (flagelares) (Fig. 15.1B). Na *Salmonella enterica* sorovar *Typhi*, os antígenos capsulares são denominados antígenos Vi.

Os **antígenos O** constituem a parte mais externa do lipopolissacarídeo da parede celular e consistem em unidades repetidas de polissacarídeo. Alguns polissacarídeos O específicos contêm açúcares singulares. Os antígenos O são resistentes ao calor e ao álcool, sendo geralmente detectados por aglutinação bacteriana. Os anticorpos dirigidos contra os antígenos O são predominantemente IgM.

Embora cada gênero da família Enterobacteriaceae esteja associado a grupos O específicos, um determinado microrganismo pode exibir vários antígenos O. Assim, a maioria das espécies de *Shigella* compartilha um ou mais antígenos O com a *E. coli*, a qual pode exibir reação cruzada com algumas espécies de *Providencia*, *Klebsiella* e *Salmonella*. Ocasionalmente, os antígenos O podem estar associados a doenças humanas específicas; por exemplo, os tipos O específicos da *E. coli* são encontrados na diarreia e em infecções do trato urinário.

Os **antígenos K** são externos aos antígenos O em algumas Enterobacteriaceae, mas não em todas. Alguns são polissacarídeos, inclusive os antígenos K da *E. coli*, enquanto outros são proteínas. Os antígenos K podem interferir na aglutinação por antissoros O e estar associados à virulência (p. ex., as cepas da *E. coli* produtoras de antígeno K1 são proeminentes na meningite neonatal, enquanto os antígenos K da *E. coli* provocam a fixação das bactérias às células epiteliais antes da invasão do trato gastrintestinal ou das vias urinárias).

As espécies de *Klebsiella* formam grandes cápsulas constituídas de polissacarídeos (antígenos K) que recobrem os antígenos somáticos (O ou H) e podem ser identificadas por testes de intumescimento capsular com antissoros específicos. As infecções humanas das vias respiratórias são causadas particularmente pelos tipos capsulares 1 e 2, enquanto as do trato urinário são provocadas pelos tipos 8, 9, 10 e 24.

Os **antígenos H** localizam-se nos flagelos, e são desnaturados ou removidos pelo calor ou pelo álcool. São preservados quando variantes bacterianas móveis são tratadas com formol. Tais antígenos H aglutinam-se com anticorpos anti-H, principalmente IgG. Os determinantes nos antígenos H dependem da sequência de aminoácidos na proteína flagelar (flagelina). Dentro de um único sorotipo, os antígenos flagelares podem estar presentes em uma ou duas formas, denominadas fase 1 (convencionalmente designada por letras minúsculas) e fase 2 (convencionalmente designada por algarismos arábicos), conforme indica o Quadro 15.3. O microrganismo tende a mudar de uma fase para outra; esse processo é conhecido como variação de fase. Os antígenos H na superfície bacteriana podem interferir na aglutinação por anticorpos anti-O.

Existem muitos exemplos de estruturas antigênicas superpostas entre as Enterobacteriaceae e outras bactérias. A maioria das Enterobacteriaceae compartilha o antígeno O14 de *E. coli*. O polissacarídeo capsular tipo 2 de *Klebsiella* é muito semelhante ao polissacarídeo tipo 2 dos pneumococos. Alguns antígenos K exibem reação cruzada com polissacarídeos capsulares

QUADRO 15.3 Fórmulas antigênicas representativas de *Salmonellae*

Grupo O	Sorotipo	Fórmula antigênica ^a
D	<i>Salmonella Typhi</i>	9, 12 (Vi):d:—
A	<i>Salmonella Paratyphi A</i>	1, 2, 12:a:—
C ₁	<i>Salmonella Choleraesuis</i>	6, 7:c:1,5
B	<i>Salmonella Typhimurium</i>	1, 4, 5, 12:i:1, 2
D	<i>Salmonella Enteritidis</i>	1, 9, 12:g,m:—

^a Antígenos O: numerais em letra maiúscula.

(Vi): antígeno Vi, se presente.

Antígeno H fase 1: letras minúsculas.

Antígeno H fase 2: numeral.

do *Haemophilus influenzae* ou *Neisseria meningitidis*. Por isso, *E. coli* O75:K100:H5 pode induzir os anticorpos que reagem com *H. influenzae* tipo b.

A classificação antigênica das Enterobacteriaceae com frequência indica a presença de cada antígeno específico. Assim, a fórmula antigênica da *E. coli* pode ser O55:K5:H21.

Colicinas (bacteriocinas)

Muitos microrganismos gram-negativos produzem bacteriocinas. Essas proteínas bactericidas de alta massa molecular (toxinas formadoras de poros) são produzidas por certas cepas de bactérias ativas contra algumas outras cepas da mesma espécie ou de espécies estreitamente relacionadas. Sua produção é controlada pelos plasmídeos. As cepas produtoras de bacteriocinas são resistentes à sua própria bacteriocina; por conseguinte, as bacteriocinas podem ser utilizadas para “tipagem” dos microrganismos.

Toxinas e enzimas

A maioria das bactérias gram-negativas tem lipopolissacarídeos complexos em suas paredes celulares. Estas substâncias, endotoxinas do envelope celular (membrana citoplasmática, peptidoglicano e membrana externa) exercem uma variedade de efeitos fisiopatológicos resumidos no Capítulo 9. Muitas bactérias entéricas gram-negativas também produzem exotoxinas de importância clínica. Algumas toxinas específicas são discutidas nas seções subsequentes.

DOENÇAS CAUSADAS POR OUTRAS ENTEROBACTERIACEAE ALÉM DE SALMONELLA E SHIGELLA

Microrganismos causadores

E. coli é um membro da microbiota intestinal normal (Cap. 10). Outras bactérias entéricas (espécies de *Proteus*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Morganella*, *Providencia*, *Citrobacter* e *Serratia*) também aparecem como membros da microbiota intestinal normal, mas são consideravelmente menos comuns que *E. coli*. As bactérias entéricas são, às vezes, encontradas em pequeno número, como parte da microbiota normal das vias respiratórias superiores e do trato genital. Em geral, as bactérias entéricas

não provocam doenças e, no intestino, podem até contribuir para a função normal e nutrição. Quando ocorrem infecções clinicamente importantes, costumam ser causadas por *E. coli*, mas outras bactérias entéricas são causas de infecções hospitalares e ocasionalmente provocam infecções adquiridas na comunidade. As bactérias tornam-se patogênicas somente quando atingem tecidos fora do trato intestinal, ou outros locais com microbiota normal menos comum. Os locais de infecção mais frequentes e clinicamente importantes são o trato urinário, o trato biliar e outras áreas da cavidade abdominal, embora qualquer local anatômico (p. ex., corrente sanguínea, próstata, pulmões, ossos, meninges) possa ser o local da doença. Algumas das bactérias entéricas (p. ex., *Serratia marcescens*, *Enterobacter aerogenes*) são patógenos oportunistas. Quando as defesas normais do hospedeiro são inadequadas — em particular no lactente ou no idoso, nos estágios terminais de outras doenças, após imunossupressão ou em decorrência do uso prolongado de cateteres venosos ou uretrais —, podem ocorrer infecções localizadas clinicamente importantes, e as bactérias podem alcançar a corrente sanguínea, causando sepse.

Patogênese e manifestações clínicas

As manifestações clínicas das infecções causadas por *E. coli* e outras bactérias entéricas dependem do local da infecção, e não podem ser diferenciadas dos processos causados por outras bactérias pelos sinais e sintomas.

A. *E. coli*

1. Infecção do trato urinário — *E. coli* constitui a causa mais comum de infecção das vias urinárias e é responsável por cerca de 90% das primeiras infecções do trato urinário em mulheres jovens (Cap. 48). Os sinais e sintomas consistem em frequência urinária, disúria, hematúria e piúria. A dor no flanco está associada à infecção das vias urinárias superiores, mas nenhum desses sinais ou sintomas é específico da infecção por *E. coli*. A infecção do trato urinário pode resultar em bacteriemia, com sinais clínicos de sepse.

A maioria das infecções do trato urinário que envolve a bexiga ou os rins em algum hospedeiro saudável é causada por um pequeno número de tipos antigênicos O que possuem fatores de virulência especificamente elaborados, que facilitam a colonização e infecção clínica subsequente. Estas bactérias são conhecidas como *E. coli* uropatogênicas. Estes microrganismos produzem hemolisina, que é citotóxica e facilita a invasão de tecidos. As cepas que causam pielonefrite expressam o antígeno K e elaboram um tipo específico de *pilus*, a fímbria P, que se liga à substância P do grupo sanguíneo.

2. Doenças diarreicas associadas à *E. coli* — as *E. coli* que provocam diarreia são extremamente comuns no mundo inteiro. São classificadas com base nas características de suas propriedades de virulência (ver adiante) e cada grupo provoca doença por pelo menos um dos seis diferentes mecanismos já previamente caracterizados. As propriedades de aderência nas células epiteliais do intestino delgado ou do intestino grosso são codificadas por genes nos plasmídeos. De modo semelhante, as toxinas são frequentemente mediadas por plasmídeos ou fagos. Algumas manifestações clínicas das doenças diarreicas são discutidas no Capítulo 48.

A *E. coli* enteropatogênica (EPEC) representa uma importante causa da diarreia em lactentes, particularmente nos países em desenvolvimento. A EPEC já foi associada a surtos de diarreia em berçários em países desenvolvidos, se aderindo nas células mucosas do intestino delgado. Dois importantes fatores são necessários na patogenicidade desse microrganismo: o *pilus* formador de feixe (*bundle forming pilus* [BFP]) codificado por um plasmídeo, denominado fator de aderência de EPEC (EPEC adherence factor [EAF]), e uma ilha de patogenicidade denominada de *locus* cromossômico da destruição do enterócito (*chromosomal locus of enterocyte effacement* [LEE]), em que está localizado o gene cromossômico que codifica a proteína intimina responsável pela firme aderência ao enterócito. Após a aderência, ocorre a perda das microvilosidades (apagamento), formação de filamentos de actina ou estruturas semelhantes a taças, e, em certas ocasiões, penetração da EPEC nas células mucosas. Lesões características podem ser observadas nas micrografias eletrônicas do intestino delgado, a partir de amostras obtidas por biópsia. A infecção por EPEC, em crianças, resulta em diarreia aquosa grave, geralmente autolimitada, mas que pode prolongar ou se cronificar. A diarreia por EPEC tem sido associada a múltiplos sorotipos específicos da *E. coli*; as cepas são identificadas por tipagem do antígeno O e ocasionalmente do antígeno H. Além disso, pode-se efetuar um modelo de infecção em dois estágios com a utilização de células HEp-2. Os testes para a identificação da EPEC são realizados em laboratórios de referência. A duração da diarreia causada por EPEC pode ser reduzida, e a diarreia crônica pode ser curada por tratamento com antibióticos.

A *E. coli* enterotoxigênica (ETEC) constitui uma causa comum da “diarreia do viajante” e uma causa muito importante de diarreia em lactentes nos países em desenvolvimento. A aderência da ETEC nas células epiteliais do intestino delgado é promovida por fatores de colonização (também conhecidos como fatores de colonização antigênicos [*colonization factor antigens*, CFAs])^{*} da ETEC específicos dos seres humanos. Algumas cepas da ETEC produzem uma **exotoxina termolábil** (LT) (MM de 80.000), que se encontra sob o controle genético de um plasmídeo. Sua subunidade B liga-se ao gangliosídeo GM₁ na membrana apical dos enterócitos, e facilita a penetração da subunidade A (MM de 26.000) na célula, em que ativa a adenilatociclase. Este processo aumenta acentuadamente a concentração local de monofosfato de adenosina cíclica (cAMP) desencadeando uma complexa cascata que envolve o regulador da condutância transmembrana na fibrose cística (*Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator* [CFTR])^{**}. O re-

* N. de R.T. A classificação das CFAs é confusa e inconsistente, sendo cada CFA um conjunto de fimbrias diferentes. As CFAs podem ser divididas baseadas em características morfológicas: rígidas e curtas (CFA I), longas e flexíveis (CFA II e IV) e flexíveis formando feixes (*bundle forming pilus*—CFA III).

** N. de R.T. Esta proteína é encontrada na membrana apical de células epiteliais do trato respiratório, do trato gastrointestinal, de glândulas submucosas e do trato reprodutivo, entre outros sítios. Nestes locais, a sua principal função é agir como canal de cloro regulando o balanço entre íons e água através do epitélio. Recebe esse nome, pois em indivíduos com fibrose cística sua disfunção diminui a permeabilidade da membrana celular ao cloreto, trazendo dificuldades ao transporte e à secreção deste íon. Consequentemente, a concentração de cloretos na membrana apical das células epiteliais se eleva. Cada órgão que depende da proteína CFTR — pulmões, pâncreas, intestino, glândulas sudoríparas e vasos deferentes — expressa esta disfunção de maneira diferente, de acordo com a sensibilidade de cada um deles ao déficit funcional.

sultado final é uma hipersecreção intensa e prolongada de água e cloretos que inibe a reabsorção de sódio. O lúmen intestinal sofre distensão com líquido, ocorrendo hipermotilidade e diarreia de vários dias de duração. A LT é antigênica e exibe reação cruzada com a enterotoxina do *Vibrio cholerae*, que apresenta um mecanismo idêntico de ação. Estimula a produção de anticorpos neutralizantes no soro (e talvez na superfície intestinal) de indivíduos previamente infectados por *E. coli* enterotoxigênica. Os indivíduos que residem em regiões nas quais esses microrganismos são altamente prevalentes (p. ex., em alguns países em desenvolvimento) tendem a apresentar anticorpos e estão menos sujeitos a ter diarreia por ocasião de reexposição à *E. coli* produtora de LT. Os ensaios para a LT consistem em (1) acúmulo de líquido no intestino de animais de laboratório, (2) alterações citológicas típicas em células ovarianas de hamster chinês (células CHO) ou outras linhagens celulares em cultura, (3) estímulo da produção de esteroides em células tumorais suprarrenais cultivadas, (4) ensaios de ligação e imunológicos com antissoros padronizados contra a LT e (5) detecção dos genes que codificam as toxinas. Estes ensaios são feitos apenas em laboratórios de referência.

Algumas cepas da ETEC produzem a **enterotoxina termoestável** ST_a (MM de 1.500 a 4.000), sob o controle genético de um grupo heterogêneo de plasmídeos. A ST_a ativa a guanilciclase nas células epiteliais entéricas e estimula a secreção de líquidos. Muitas cepas ST_a-positivas também produzem LT. As cepas com ambas as toxinas causam diarreia mais grave.

Os plasmídeos que transportam os genes das enterotoxinas (LT, ST) também podem transportar genes para os CFAs que facilitam a fixação de cepas da *E. coli* ao epitélio intestinal. Os fatores de colonização reconhecidos ocorrem com especial frequência em alguns sorotipos. Certos sorotipos de ETEC ocorrem no mundo inteiro, enquanto outros apresentam distribuição limitada. É possível que praticamente qualquer *E. coli* possa adquirir um plasmídeo que codifica enterotoxinas. Não existe associação definida da ETEC com as cepas da EPEC que causam diarreia em crianças. De modo semelhante, não há associação entre as cepas enterotoxigênicas e as cepas capazes de invadir as células epiteliais intestinais.

Recomenda-se muita cautela na seleção e no consumo de alimentos potencialmente contaminados com ETEC, para ajudar a prevenir a diarreia do viajante. A profilaxia antimicrobiana pode ser eficaz, mas pode resultar em aumento da resistência das bactérias a antibióticos e provavelmente não deve ser recomendada de modo uniforme. Uma vez instalada a diarreia, o tratamento com antibióticos reduz de maneira eficaz a duração da doença.

As *E. coli* produtoras de toxina **Shiga** (STEC) são assim chamadas por causa da toxina que produzem. Existem pelo menos duas formas antigênicas da toxina, conhecidas como toxina *Shiga-like 1* e toxina *Shiga-like 2*. A STEC tem sido associada à colite hemorrágica, uma forma grave de diarreia, e à síndrome urêmica-hemolítica, doença que resulta em insuficiência renal aguda, anemia hemolítica microangiopática e trombocitopenia. A toxina *Shiga-like 1* é idêntica à toxina de *Shigella* produzida por *Shigella dysenteriae* tipo 1, enquanto a toxina *Shiga-like 2* conserva somente algumas propriedades. Além disso, as duas toxinas são antigênica e geneticamente distintas. Entre os sorotipos de *E. coli* que produzem a toxina *Shiga*, o O157:H7 é o mais comum e o que pode ser identificado em amostras clínicas. A STEC O157:H7 não utiliza o sorbitol, ao contrário da

maioria das outras *E. coli*; além disso, é negativa (produz colônias incolores) em ágar MacConkey com sorbitol (utiliza-se sorbitol em vez de lactose); as cepas O157:H7 também são negativas no teste MUG (ver anteriormente). Muitos dos sorotipos não O157 podem ser sorbitol-positivos quando cultivados. Utilizam-se antissoros específicos para identificação do O157:H7. Ensaios para detecção de ambas as toxinas de *Shiga* por meio de ensaios imunoenzimáticos (Elisa) comerciais são feitos em muitos laboratórios. Outros métodos sensíveis incluem o teste da citotoxina em cultura de células com o uso de células Vero e a reação em cadeia da polimerase para detecção direta dos genes da citotoxina em amostras de fezes. Muitos casos de colite hemorrágica e suas complicações associadas podem ser evitados com o cozimento completo da carne moída e o não consumo de produtos não pasteurizados como sidras de maçã.

A *E. coli* enteroinvasiva (EIEC) causa uma doença muito semelhante à shigelose, mais comum em crianças de países em desenvolvimento, bem como em indivíduos que viajam para esses países. Ao exemplo de *Shigella*, as cepas da EIEC não fermentam a lactose ou são fermentadoras tardias da lactose, e são imóveis. A EIEC causa doença ao invadir as células epiteliais da mucosa intestinal.

A *E. coli* enteroagregativa (EAEC) provoca diarreia aguda e crônica (mais de 14 dias de duração) em indivíduos nos países em desenvolvimento e constitui uma importante causa de infecções transmitidas por alimentos em países industrializados. Esse microrganismo ainda está associado à diarreia dos viajantes e à diarreia em pacientes HIV-positivo. Caracteriza-se pelo padrão agregativo de aderência às células humanas*. Essa cepa de *E. coli* diarreio gênica constitui um grupo bastante heterogêneo e seus mecanismos de patogenicidade ainda não estão inteiramente compreendidos. Algumas amostras de EAEC produzem uma toxina semelhante à toxina ST (*enteroaggregative heat stable toxin* [EAST-1], ver anteriormente), uma enterotoxina codificada por plasmídeo, que produz dano celular, e uma hemolisina. O diagnóstico pode ser presuntivo, porém necessita de confirmação por testes de aderência em células de linhagem contínua, não disponível na maioria dos laboratórios clínicos**.

3. Sepsis — quando as defesas normais do hospedeiro não estão adequadas, a *E. coli* pode alcançar a corrente sanguínea e provocar sepsis. Os recém-nascidos podem ser altamente suscetíveis a sepsis por *E. coli*, uma vez que não têm anticorpos IgM. A sepsis pode ocorrer secundariamente à infecção do trato urinário.

4. Meningite — *E. coli* e os estreptococos do grupo B constituem as principais causas da meningite em lactentes. Cerca de 75% das *E. coli* dos casos de meningite apresentam o antígeno

* N. de R.T. A aderência agregativa provoca uma intensa secreção de muco pelo enterócito, favorecendo a aderência de EAEC e, assim, contribuindo para a formação de biofilme e para persistência desse microrganismo na mucosa intestinal, observadas em casos de diarreia crônica. O padrão agregativo está relacionado com a expressão de estruturas fimbriais denominadas de fimbria de aderência agregativa (*aggregative adherence fimbriae*, AAF).

** N. de R.T. Além do padrão agregativo de aderência utilizando células de linhagem contínua, pode-se observar a formação de biofilme em poliestireno, ou a formação de uma película esbranquiçada na superfície de meio líquido. Há também disponível, sondas genéticas para reconhecimento das fimbrias de aderência agregativa, AAFs.

K1, que exibe reação cruzada com o polissacarídeo capsular do grupo B de *N. meningitidis*. O mecanismo de virulência associado ao antígeno K1 ainda não está compreendido.

B. *Klebsiella-Enterobacter-Serratia*; *Proteus-Morganella-Providencia*; e *Citrobacter*

A patogênese das doenças causadas por esses grupos de bacilos gram-negativos entéricos assemelha-se aos fatores inespecíficos na doença causada por *E. coli*.

1. *Klebsiella* — *K. pneumoniae* é encontrada nas vias respiratórias e fezes de cerca de 5% dos indivíduos normais. É responsável por uma pequena proporção (cerca de 1%) das pneumonias bacterianas, e pode provocar extensa consolidação necrosante hemorrágica dos pulmões. Provoca infecção das vias urinárias e bacteriemia com lesões focais em pacientes debilitados. Outras bactérias entéricas também podem causar pneumonia. Espécies *Klebsiella* estão classificadas entre os dez principais patógenos causadores de infecções hospitalares. Duas outras espécies de *klebsiella* estão associadas a condições inflamatórias das vias respiratórias superiores: *K. pneumoniae* subespécie *ozaenae* foi isolada da mucosa nasal de pacientes com ozena, uma atrofia progressiva e fétida das mucosas; e a *Klebsiella pneumoniae* subespécie *rhinoscleromatis*, a partir do rinoscleroma, doença granulomatosa destrutiva do nariz e da faringe. *Klebsiella granulomatis* (antigamente *Calymmatobacterium granulomatis*) causa doença genital ulcerativa crônica, denominada de granuloma inguinal, uma doença sexualmente transmitida incomum. Esse microrganismo apresenta seu crescimento inibido em meios que contenham gema de ovo. O tratamento é realizado utilizando-se ampicilina e tetraciclina.

2. *Enterobacter* — três espécies de *Enterobacter*, *E. cloacae*, *E. aerogenes* e *E. sakazakii* (recentemente transferida para o gênero *Cronobacter*) causam a maioria das infecções por *Enterobacter*. Estas bactérias fermentam lactose, muitas contêm cápsulas que produzem colônias mucoides e são móveis. Esses microrganismos causam um largo espectro de infecções hospitalares como pneumonia, infecções do trato urinário, feridas e dispositivos infeccionados. A maior parte das cepas possui uma betalactamase cromossômica chamada *AmpC*, que as torna intrinsecamente resistentes à ampicilina e a cefalosporinas de primeira e segunda gerações. Mutantes podem fazer hiperprodução de betalactamase, conferindo resistência à cefalosporinas de terceira geração.

3. *Serratia* — *Serratia marcescens* é um patógeno oportunista comum em pacientes hospitalizados. As espécies de *Serratia* (geralmente não pigmentadas) causam pneumonia, bacteriemia e endocardite, particularmente em indivíduos viciados em narcóticos e pacientes hospitalizados. Somente cerca de 10% dos isolados formam o pigmento vermelho (prodigiosina) que há longo tempo caracteriza a *S. marcescens*, a qual frequentemente se mostra resistente aos aminoglicosídeos e às penicilinas; as infecções podem ser tratadas com cefalosporinas de terceira geração.

4. *Proteus* — as espécies de *Proteus* provocam infecções nos seres humanos apenas quando deixam o trato intestinal. São encontradas em infecções das vias urinárias e causam bacteriemia, pneumonia, e lesões focais em pacientes debilitados ou naqueles que recebem infusões intravenosas contaminadas. *P. mirabilis* causa infecções do trato urinário e ocasionalmente

outras infecções. *Proteus vulgaris* e *Morganella morganii* são importantes patógenos hospitalares.

As espécies de *Proteus* produzem urease, resultando em rápida hidrólise da ureia, com liberação de amônia. Por conseguinte, nas infecções do trato urinário causadas por *Proteus*, a urina torna-se alcalina, favorecendo a formação de cálculos e tornando a acidificação praticamente impossível. A rápida motilidade do *Proteus* pode contribuir para invasão do trato urinário pelo microrganismo.

As cepas de *Proteus* variam enormemente quanto à sua sensibilidade a antibióticos. *P. mirabilis* é frequentemente inibido pelas penicilinas; os antibióticos mais ativos contra outros membros do grupo são os aminoglicosídeos e as cefalosporinas.

5. Providencia — as espécies de *Providencia* (*P. rettgeri*, *P. alcalifaciens* e *P. stuartii*) estão presentes na microbiota intestinal normal. Todas causam infecções das vias urinárias e ocasionalmente outras infecções, e às vezes são resistentes ao tratamento com antimicrobianos.

6. Citrobacter — as espécies de *Citrobacter* podem causar infecções do trato urinário e sepse.

Exames diagnósticos laboratoriais

A. Amostras

Urina, sangue, pus, líquido cefalorraquidiano, escarro ou outro material, conforme indicar a localização do processo infeccioso.

B. Esfregaços

As Enterobacteriaceae assemelham-se umas às outras do ponto de vista morfológico. A presença de grandes cápsulas sugere espécies de *Klebsiella*.

C. Cultura

As amostras devem ser semeadas em ágar-sangue e meios de cultura diferenciais, nos quais costuma ser possível proceder a uma rápida e preliminar identificação das bactérias entéricas gram-negativas (Cap. 47).

Imunidade

O desenvolvimento de anticorpos específicos é verificado nas infecções sistêmicas, mas não há certeza sobre se a imunidade contra os microrganismos é significativa.

Tratamento

Não há tratamento específico. As sulfonamidas, a ampicilina, as cefalosporinas, as fluoroquinolonas e os aminoglicosídeos exercem efeitos antibacterianos pronunciados contra as bactérias entéricas, porém a variação na suscetibilidade é grande, e é essencial fazer antibiogramas. É comum haver resistência a vários fármacos, e tal resistência está sob o controle de plasmídeos transmissíveis.

Certas condições que predisõem a infecção por esses microrganismos exigem correção cirúrgica (p. ex., desobstrução do trato urinário, fechamento de perfuração em órgão abdominal ou ressecção de porção bronquiectásica do pulmão).

O tratamento da bacteriemia por microrganismos gram-negativos e do choque séptico iminente exige rápida instituição de terapia antimicrobiana, restauração do equilíbrio hidroeletrolítico e tratamento da coagulação intravascular disseminada (CID).

Foram propostos vários meios para prevenir a diarreia do viajante, como a ingestão diária de suspensão de subsalicilato de bismuto (o subsalicilato de bismuto tem a capacidade de inativar *in vitro* a enterotoxina de *E. coli*) e doses regulares de tetraciclina ou outros antimicrobianos por períodos limitados, mas como nenhum desses métodos é totalmente bem-sucedido ou isento de efeitos adversos, recomenda-se muita cautela quanto ao consumo de água e alimentos em regiões em que as condições sanitárias são precárias e a profilaxia deve ser substituída por tratamento precoce e breve (p. ex., com ciprofloxacino ou sulfametoxazol-trimetoprima).

Epidemiologia, prevenção e controle

As bactérias entéricas instalam-se no trato intestinal normal poucos dias após o nascimento e, a partir desse momento, passam a constituir uma importante parte da microbiota aeróbia (anaeróbia facultativa) normal. A *E. coli* é o protótipo. As bactérias entéricas encontradas na água ou no leite são aceitas como prova de contaminação fecal a partir do esgoto ou de outras fontes.

As medidas de controle não são exequíveis até que a microbiota endógena normal esteja envolvida. Os sorotipos de *E. coli* enteropatogênica devem ser controlados assim como as salmonelas (ver adiante). Algumas das bactérias entéricas representam um sério problema nas infecções hospitalares. É particularmente importante reconhecer que muitas bactérias entéricas são “oportunistas” que causam doenças quando introduzidas em pacientes debilitados. No ambiente hospitalar ou em outras instituições, essas bactérias são comumente transmitidas por agentes de saúde, por instrumentos ou pelas medicações parenterais. Seu controle depende da lavagem das mãos, de assepsia rigorosa, da esterilização do equipamento, de desinfecção, da restrição da terapia intravenosa e de precauções restritas para manter as vias urinárias estéreis (*i. e.*, drenagem fechada).

AS SHIGELLAE

O *habitat* natural das *Shigelas* limita-se ao trato intestinal de seres humanos e outros primatas, no qual provocam disenteria bacilar.

Morfologia e identificação

A. Microrganismos típicos

As *Shigelas* são bacilos gram-negativos delgados; formas cocobacilares ocorrem em culturas jovens.

B. Cultura

As *Shigelas* são anaeróbios facultativos, apesar de crescerem melhor em condições aeróbias. As colônias convexas, circulares e transparentes com bordas regulares atingem um diâmetro de cerca de 2 mm em 24 horas.

C. Características de crescimento

Todas as *Shigelas* fermentam a glicose. Com exceção da *S. sonnei*, não fermentam a lactose. A incapacidade de fermentar a lactose distingue as *Shigelas* em meios de cultura diferenciais. As *Shigelas* formam ácidos a partir dos carboidratos, mas raramente produzem gás. Além disso, podem ser divididas em espécies que fermentam e que não fermentam o manitol (Quadro 15.4).

QUADRO 15.4 Espécies patogênicas de *Shigella*

Designação presente	Grupo e tipo	Manitol	Ornitina descarboxilase
<i>Shigella dysenteriae</i>	A	–	–
<i>Shigella flexneri</i>	B	+	–
<i>Shigella boydii</i>	C	+	–
<i>Shigella sonnei</i>	D	+	+

Estrutura antigênica

As *Shigelas* exibem um padrão antigênico complexo. Verifica-se acentuada superposição no comportamento sorológico de diferentes espécies, e a maioria compartilha antígenos O com outros bacilos entéricos.

Os antígenos O somáticos das *Shigelas* são lipopolissacarídeos. Sua especificidade sorológica depende do polissacarídeo. Existem mais de 40 sorotipos. A classificação das *Shigelas* baseia-se em características bioquímicas e antigênicas. O Quadro 15.4 apresenta as espécies patogênicas.

Patogênese e patologia

As infecções causadas por *Shigela* são quase sempre limitadas ao trato gastrintestinal; a ocorrência de invasão para a corrente sanguínea é muito rara. As *Shigelas* são altamente contagiosas; a dose infectante é da ordem de 10^3 microrganismos (enquanto geralmente é de 10^5 a 10^8 no caso das salmonelas e dos vibriões). O processo patológico básico consiste na invasão das células epiteliais da mucosa (p. ex., células M) por fagocitose induzida, escape do vacúolo fagocítico, multiplicação e disseminação no citoplasma das células epiteliais, bem como passagem para as células adjacentes. A formação de microabscessos na parede do intestino grosso e no íleo terminal acarreta necrose da mucosa, ulceração superficial, sangramento e formação de “pseudomembrana” na área ulcerada. Essa pseudomembrana consiste em fibrina, leucócitos, restos celulares, mucosa necrótica e bactérias. À medida que o processo cede, o tecido de granulação preenche as úlceras, e forma-se o tecido cicatricial.

Toxinas**A. Endotoxina**

Ao sofrerem autólise, todas as *Shigelas* liberam seu lipopolissacarídeo tóxico, uma endotoxina que provavelmente contribui para irritação da parede intestinal.

B. Exotoxina da *Shigella dysenteriae*

A *S. dysenteriae* tipo 1 (bacilo de *Shiga*) produz uma exotoxina termolábil que afeta tanto o intestino quanto o sistema nervoso central. A exotoxina é uma proteína antigênica (que estimula a produção de antitoxina) e letal para animais de laboratório. Ao atuar como enterotoxina, provoca diarreia da mesma forma que a toxina *Shiga-like* da *E. coli*, talvez pelo mesmo mecanismo. Nos seres humanos, a exotoxina também inibe a absorção de açúcar e aminoácidos no intestino delgado. Ao atuar como “neurotoxina”, esse material pode contribuir para a extrema gravidade e a natureza fatal das infecções por *S. dysenteriae*,

bem como para as reações do sistema nervoso central observadas (i. e., meningismo, coma). Os pacientes com infecções causadas por *Shigella flexneri* ou *Shigella sonnei* desenvolvem antitoxina que neutraliza a exotoxina da *S. dysenteriae in vitro*. A atividade tóxica é distinta da propriedade invasiva das *Shigelas* na disenteria. As duas podem atuar em sequência, a toxina provocando uma diarreia inicial volumosa e não sanguinolenta, e a invasão do intestino grosso resultando em posterior disenteria com sangue e pus nas fezes.

Manifestações clínicas

Depois de um curto período de incubação (1 a 2 dias), há o início súbito de dor abdominal, febre e diarreia aquosa. A diarreia é atribuída à ação da exotoxina no intestino delgado (ver anteriormente). Em 1 dia ou mais, quando a infecção acomete o íleo e colo, o número de evacuações aumenta, e as fezes tornam-se menos líquidas, porém frequentemente contêm muco e sangue. Cada evacuação é acompanhada de esforço e tenesmo (espasmos retais), com conseqüente dor na área abdominal inferior. Em mais de 50% dos casos em adultos, a febre e a diarreia desaparecem espontaneamente em 2 a 5 dias. Contudo, em crianças e idosos, a perda de água e eletrólitos pode resultar em desidratação, acidose e mesmo em morte. A doença causada por *S. dysenteriae* pode ser particularmente grave.

Durante a fase de recuperação, a maioria dos indivíduos elimina bacilos disentéricos por curto tempo, embora alguns continuem sendo portadores intestinais crônicos, podendo sofrer surtos recorrentes da doença. Durante a recuperação da infecção, a maioria dos pacientes desenvolve anticorpos circulantes contra a *Shigela* que não protegem o indivíduo contra reinfecção.

Exames diagnósticos laboratoriais**A. Amostras**

As amostras consistem em fezes frescas, flocos de muco e *swabs* retais para cultura. Um grande número de leucócitos fecais e alguns eritrócitos são frequentemente vistos ao microscópio. As amostras de soro, quando desejado, devem ser obtidas a intervalos de 10 dias para se demonstrar uma elevação nos títulos de anticorpos aglutinantes.

B. Cultura

O material deve ser semeado em meios de cultura diferenciais (p. ex., ágar de MacConkey ou EMB) e em meios seletivos (ágar entérico de Hektoen ou ágar para *Salmonella-Shigella*), os quais suprimem outras Enterobacteriaceae e microrganismos gram-positivos. As colônias incolores (lactose-negativas) são inoculadas em ágar TSI. Os microrganismos que não produzem H_2S , que produzem ácido, mas não gás na base, e que alcalinizam a área inclinada em ágar TSI, e não são móveis devem ser submetidos a aglutinação em lâmina por antissoros específicos contra *Shigela*.

C. Sorologia

Os indivíduos normais frequentemente apresentam aglutininas contra várias espécies de *Shigella*. Entretanto, as determinações seriadas dos títulos de anticorpos podem revelar uma elevação

de anticorpos específicos. A sorologia não é utilizada para se estabelecer o diagnóstico de infecções por *Shigella*.

Imunidade

A infecção é seguida de uma resposta dos anticorpos específicos de tipo. A inoculação de *Shigelas* mortas estimula a produção de anticorpos no soro, mas não consegue proteger os seres humanos contra a infecção. Os anticorpos IgA no intestino podem ser importantes para limitar a reinfecção, podendo ser estimulados por cepas vivas atenuadas administradas por via oral em forma de vacinas experimentais. Os anticorpos séricos dirigidos contra antígenos somáticos de *Shigella* são IgM.

Tratamento

O ciprofloxacino, ampicilina, doxiciclina e sulfametoxazol-trime-toprima são mais comumente inibidores contra as *Shigelas* isoladas e podem suprimir as crises clínicas agudas de disenteria e reduzir a duração dos sintomas. Esses agentes podem não erradicar os microrganismos do trato intestinal. A resistência a vários fármacos pode ser transmitida pelos plasmídeos, e as infecções resistentes são disseminadas. Muitos casos são autolimitados. Deve-se evitar o uso de opioides na disenteria causada por *Shigella*.

Epidemiologia, prevenção e controle

As *Shigelas* são transmitidas por “alimentos, dedos, fezes e moscas” de uma pessoa para outra. A maioria dos casos de infecção por *Shigella* ocorre em crianças com menos de 10 anos de idade. A shigelose, causada primariamente por *S. sonnei*, se tornou um importante problema em creches nos EUA. A *S. dysenteriae* pode disseminar-se amplamente. A quimioprofilaxia em massa por períodos limitados (p. ex., em militares) tem sido experimentada, mas amostras de *Shigella* resistentes tendem a aparecer rapidamente. Como os seres humanos constituem o principal hospedeiro reconhecido das *Shigelas* patogênicas, os esforços de controle devem ser voltados para a eliminação dos microrganismos desse reservatório por meio de (1) controle sanitário da água, dos alimentos e do leite; disponibilidade de esgotos; e controle das moscas; (2) isolamento dos pacientes e desinfecção das fezes; (3) detecção de casos subclínicos e portadores, em particular em indivíduos que manipulam alimentos; e (4) tratamento antibiótico dos indivíduos infectados.

GRUPO DA SALMONELLA-ARIZONA

As salmonelas são frequentemente patogênicas para os seres humanos ou animais quando adquiridas por via oral. São transmitidas a partir de animais e produtos de origem animal para os seres humanos, nos quais provocam enterite, infecção sistêmica e febre entérica.

Morfologia e identificação

As salmonelas variam quanto ao comprimento. A maioria dos microrganismos isolados é móvel, com flagelos peritríquios. As salmonelas crescem rapidamente em meios de cultura simples, mas quase nunca fermentam a lactose ou a sacarose. Formam ácido e, às vezes, gás a partir da glicose e da manose. Em geral, produzem H_2S . Esses microrganismos sobrevivem congelados em água por

longo tempo. As salmonelas mostram-se resistentes a determinadas substâncias químicas (p. ex., verde-brilhante, tetrionato de sódio, desoxicolato de sódio) que inibem outras bactérias entéricas; esses compostos são, portanto, úteis para inclusão em meios de cultura, para isolar as salmonelas a partir de amostras de fezes.

Classificação

A classificação das salmonelas é complexa, uma vez que os microrganismos representam mais um *continuum* do que uma espécie definida. Os membros do gênero *Salmonella* foram originalmente classificados com base na epidemiologia, na variedade de hospedeiros, nas reações bioquímicas e nas estruturas dos antígenos O, H e Vi (quando presentes). Os nomes (p. ex., *Salmonella typhi*, *Salmonella typhimurium*) foram dados como se fossem gênero e espécie; essa forma de nomenclatura continua sendo utilizada, porém seu uso é incorreto. Os estudos de hibridização do DNA com DNA demonstraram que existem sete grupos evolutivos. Atualmente, o gênero *Salmonella* está dividido em duas espécies, cada uma com várias espécies e sorotipos. As duas espécies são *Salmonella enterica* e *Salmonella bongori* (anteriormente subespécies V). *S. enterica* possui cinco subespécies: subespécie *enterica* (subespécie I), subespécie *salamae* (subespécie II), subespécie *arizonae* (subespécie IIIa), subespécie *diarizonae* (subespécie IIIb), subespécie *houtenae* (subespécie IV) e subespécie *indica* (subespécie VI). A maioria das doenças humanas é causada pelas cepas da subespécie I, escrita como *Salmonella enterica* subespécie *enterica*. Raramente, infecções humanas podem ser causadas pelas subespécies IIIa e IIIb ou por outras subespécies encontradas com frequência em animais de sangue frio. Muitas vezes essas infecções estão associadas a animais de estimação exóticos, como répteis. Parece provável que a nomenclatura amplamente aceita para classificação será a seguinte: *S. enterica* subespécie *enterica*, sorotipo *Typhimurium*, que pode ser reduzido a *S. typhimurium* com o nome do gênero em itálico e o nome do sorotipo em tipo romano. Os laboratórios de referência nacionais e internacionais podem utilizar as fórmulas antigênicas após o nome da subespécie, visto que proporcionam uma informação mais precisa sobre os microrganismos isolados (Quadro 15.4).

Existem mais de 2.500 sorotipos de salmonelas, inclusive mais de 1.400 no grupo da hibridização do DNA I capazes de infectar os seres humanos. Quatro sorotipos de salmonelas que causam febre entérica podem ser identificados no laboratório clínico por testes bioquímicos e sorológicos. Esses sorotipos devem ser rotineiramente identificados em virtude de sua importância clínica. São eles: *Salmonella paratyphi* A (sorogrupo A), *Salmonella paratyphi* B (sorogrupo B), *Salmonella choleraesuis* (sorogrupo C1) e *Salmonella typhi* (sorogrupo D). As mais de 1.400 outras salmonelas isoladas em laboratórios clínicos são sorogrupadas pelos seus antígenos O como A, B, C₁, C₂, D e E; alguns não são tipáveis com este grupo de antissoros. Em seguida, os microrganismos isolados são remetidos a laboratórios de referência para identificação sorológica definitiva, o que possibilita aos órgãos de saúde pública monitorar e avaliar a epidemiologia das infecções por *Salmonella* em níveis estadual e nacional.

Variação

Os microrganismos podem perder antígenos H e tornar-se imóveis. A perda do antígeno O está associada a uma alteração das

QUADRO 15.5 Doenças clínicas induzidas por *Salmonellae*

	Febres entéricas	Septicemias	Enterocolites
Período de incubação	7 a 20 dias	Variável	8 a 48 h
Início	Insidioso	Abrupto	Abrupto
Febre	Gradual, passando para alto platô, com estado "tifoïdal"	Aumento rápido, com pico de temperatura "séptica"	Geralmente baixa
Duração da doença	Algumas semanas	Variável	2 a 5 dias
Sintomas gastrintestinais	Prisão de ventre precoce (com frequência); posteriormente, diarreia com sangue	Frequentemente ausentes	Náuseas, vômitos, diarreia no início
Culturas de sangue	Positivas na primeira e na segunda semanas da doença	Positivas durante a febre alta	Negativas
Cultura de fezes	Positivas a partir da segunda semana, depois negativas	Geralmente negativas	Positivas logo após o início

colônias, que passam de lisas para rugosas. O antígeno Vi pode ser perdido em parte ou completamente. Os antígenos podem ser adquiridos (ou perdidos) no processo de transdução.

Patogênese e manifestações clínicas

S. typhi, *S. choleraesuis*, *S. paratyphi* A e *S. paratyphi* B são primariamente infecciosas para os seres humanos, e a infecção por esses microrganismos implicava na aquisição a partir de fonte humana. Entretanto, a maioria das salmonelas é principalmente patogênica em animais que constituem o reservatório para a infecção humana: aves domésticas, porcos, roedores, bovinos, animais de estimação (desde tartarugas até papagaios) e muitos outros.

Os microrganismos quase sempre penetram por via oral, geralmente com água ou alimentos contaminados. A dose infectante média para causar infecção clínica ou subclínica em seres humanos é de 10^5 a 10^8 salmonelas (podendo talvez ser de apenas 10^3 microrganismos no caso da *Salmonella typhi*). Entre os fatores do hospedeiro que contribuem para a resistência à infecção por *Salmonella* destacam-se a acidez gástrica, microbiota intestinal normal e imunidade intestinal local (ver adiante).

As salmonelas causam três tipos principais de doença nos seres humanos, embora as formas mistas sejam frequentes (Quadro 15.5).

A. "Febres entéricas" (febre tifoïde)

Esta síndrome é causada apenas por algumas salmonelas, das quais a mais importante é a *S. typhi* (febre tifoïde). As salmonelas ingeridas alcançam o intestino delgado, a partir do qual penetram nos vasos linfáticos e, em seguida, na corrente sanguínea. Os microrganismos são transportados pelo sangue para muitos órgãos, inclusive o intestino. As salmonelas multiplicam-se no tecido linfóide intestinal e são excretadas nas fezes.

Após um período de incubação de 10 a 14 dias, ocorrem febre, mal-estar, cefaleia, prisão de ventre, bradicardia e mialgia. A febre aumenta até atingir um patamar elevado, o baço e o fígado tornam-se aumentados. Manchas rosadas, geralmente na pele do abdome ou do tórax, são observadas brevemente em casos raros. A contagem de leucócitos é normal ou baixa. Na fase pré-antibiótica, as principais complicações da febre

entérica consistiam em hemorragia e perfuração intestinais, com taxa de mortalidade de 10 a 15%. Porém, o tratamento com antibióticos reduziu essa taxa para menos de 1%.

As principais lesões consistem em hiperplasia e necrose do tecido linfóide (p. ex., placas de Peyer), hepatite, necrose focal do fígado e inflamação da vesícula biliar, do periósteo, dos pulmões e de outros órgãos.

B. Bacteriemia com lesões focais

Tal quadro está comumente associado a *S. choleraesuis*, mas pode ser causado por qualquer sorotipo de *Salmonella*. Após infecção oral, ocorre a invasão precoce da corrente sanguínea (com possíveis lesões focais nos pulmões, nos ossos, nas meninges, etc.), mas em geral sem manifestações intestinais. As hemoculturas são positivas.

C. Enterocolite

Trata-se da manifestação mais comum de infecção por *Salmonella*. Nos EUA, *S. typhimurium* e *S. enteritidis* são proeminentes, porém a enterocolite pode ser causada por qualquer um dos mais de 1.400 sorotipos do grupo I das salmonelas. No decorrer de 8 a 48 horas após a ingestão de salmonelas, ocorrem náuseas, cefaleia, vômitos e diarreia profusa, com poucos leucócitos nas fezes. É comum a ocorrência de febre baixa, porém o episódio geralmente desaparece em 2 a 3 dias.

Há lesões inflamatórias nos intestinos delgado e grosso. Bacteriemia é rara (2 a 4%), exceto em indivíduos imunodeficientes. Em geral, as hemoculturas são negativas, porém as coproculturas mostram-se positivas para as salmonelas, podendo permanecer assim por várias semanas após a recuperação clínica.

Exames diagnósticos laboratoriais**A. Amostras**

As amostras de sangue para cultura devem ser coletadas repetidamente. Nas febres entéricas e septicemias, as hemoculturas são frequentemente positivas na primeira semana da doença. As culturas de medula óssea podem ser úteis. As culturas de urina podem ser positivas depois da segunda semana.

As amostras de fezes também devem ser coletadas repetidamente. Nas febres entéricas, as fezes fornecem resultados

positivos a partir da segunda ou da terceira semana. Na enterocolite, resultados positivos da coprocultura são obtidos durante a primeira semana.

A obtenção de uma cultura positiva de drenagem duodenal estabelece a presença de salmonelas no trato biliar de portadores.

B. Métodos bacteriológicos para isolamento das salmonelas

1. Culturas com meios diferenciais — os meios de cultura EMB, de MacConkey ou de desoxicolato possibilitam a rápida detecção dos microrganismos que não fermentam a lactose (não apenas salmonelas e *Shigelas* como também *Proteus*, *Serratia*, *Pseudomonas*, etc.). Os microrganismos gram-positivos são ligeiramente inibidos. O meio de cultura com sulfito de bismuto possibilita uma rápida detecção de salmonelas, as quais formam colônias pretas devido à produção de H₂S. Muitas salmonelas produzem H₂S.

2. Culturas com meios seletivos — a amostra é semeada em ágar para *Salmonella-Shigella* (SS), ágar entérico de Hektoen (HE), ágar desoxicolato-lisina-xilose (XLD) ou ágar de desoxicolato-citrato, que favorecem mais o crescimento de salmonelas e *Shigelas* do que o de outras Enterobacteriaceae.

3. Culturas de enriquecimento — a amostra (geralmente fezes) também é colocada em caldo de selenito F ou tetracionato, ambos capazes de inibir a replicação das bactérias intestinais normais, permitindo a multiplicação das salmonelas. Após 1 a 2 dias de incubação, o material é semeado em meios de cultura diferenciais e seletivos.

4. Identificação final — as colônias sob suspeita dos meios de cultura sólidos são identificadas com base nos padrões de reações bioquímicas (Quadro 15.1) e testes de aglutinação em lâmina com soros específicos.

C. Métodos sorológicos

As técnicas sorológicas são utilizadas para identificar culturas desconhecidas com soros conhecidos (ver adiante). Tais técnicas também podem ser utilizadas para determinar os títulos de anticorpos em pacientes com doença desconhecida, mas isso não é muito útil no diagnóstico de infecções por *Salmonella*.

1. Teste de aglutinação — soros conhecidos e o material de cultura desconhecido são misturados em uma lâmina. A aglutinação, quando ocorre, pode ser observada em poucos minutos. Esse teste é particularmente útil para a identificação rápida e preliminar das culturas. Existem *kits* disponíveis comercialmente para aglutinação e determinação dos sorogrupos das salmonelas pelos seus antígenos O: A, B, C₁, C₂, D e E.

2. Teste de aglutinação e diluição em tubo (reação de Widal) — os níveis séricos de aglutininas aumentam acentuadamente durante a segunda e a terceira semanas de infecção por *S. typhi*. A reação de Widal para detectar esses anticorpos contra os antígenos O e H tem sido utilizada há décadas. São necessárias pelo menos duas amostras de soro, coletadas a um intervalo de 7 a 10 dias, para comprovar uma elevação nos títulos de anticorpos. Diluições seriadas de soro desconhecido

são testadas contra antígenos de salmonelas representativas. Resultados falsos positivos e falsos negativos podem ocorrer. O critério interpretativo, quando se testa uma única amostra de soro varia, mas um título contra o antígeno O maior que 1:320 e contra o antígeno H maior que 1:640 é considerado positivo. Títulos elevados de anticorpos contra o antígeno Vi são observados em alguns portadores. Alternativas à reação de Widal incluem o método colorimétrico rápido e os métodos de ensaios imunoenzimáticos. Há relatos conflitantes na literatura sobre a superioridade desses métodos em relação à reação de Widal. Resultados de testes sorológicos para a infecção por *Salmonella* não podem ser usados para estabelecer um diagnóstico definitivo para a febre tifoide e são mais frequentemente utilizados em áreas no mundo de poucos recursos, quando as culturas de sangue não estão prontamente disponíveis.

Imunidade

As infecções por *S. typhi* ou *S. paratyphi* geralmente conferem certo grau de imunidade. Pode ocorrer reinfecção, porém costuma ser mais leve que a primeira infecção. Os anticorpos circulantes contra os antígenos O e Vi estão relacionados com resistência à infecção e doença. Entretanto, podem ocorrer recidivas 2 a 3 semanas após a recuperação, apesar da produção de anticorpos. Os anticorpos IgA secretores podem impedir a fixação das salmonelas ao epitélio intestinal.

Os indivíduos com hemoglobina S/S (anemia falciforme) são excessivamente suscetíveis a infecções por *Salmonella*, em particular osteomielite. Aqueles com hemoglobina A/S (traço falciforme) podem ser mais suscetíveis que os indivíduos normais (com hemoglobina A/A).

Tratamento

Apesar de as febres entéricas e a bacteriemia com lesões focais exigirem tratamento antimicrobiano, a maioria dos casos de enterocolite não necessita de tratamento. O tratamento antimicrobiano da enterite por *Salmonella* em recém-nascidos é importante. Na enterocolite, os sintomas clínicos e a excreção das salmonelas podem ser prolongados pela terapia antimicrobiana. Na diarreia grave, é essencial proceder a uma reposição de líquidos e eletrólitos.

A terapia antimicrobiana das infecções invasivas por *Salmonella* é realizada com ampicilina, sulfametoxazol-trime-toprima ou cefalosporina de terceira geração. A resistência a vários fármacos, transmitida geneticamente por plasmídeos entre bactérias entéricas, representa um problema nas infecções por salmonela. O antibiograma é um importante auxiliar na escolha do antibiótico apropriado.

Na maioria dos portadores, os microrganismos persistem na vesícula biliar (particularmente na presença de cálculos biliares) e no trato biliar. Alguns portadores crônicos foram curados apenas com ampicilina — porém, na maioria dos casos é necessário combinar a colecistectomia com tratamento medicamentoso.

Epidemiologia

As fezes dos indivíduos com doença subclínica insuspeita ou portadores constituem uma fonte de contaminação mais

importante que os casos clínicos evidentes imediatamente isolados (p. ex., quando portadores que manipulam alimentos estão “disseminando” os microrganismos). Muitos animais, inclusive bovinos, roedores e aves domésticas, são naturalmente infectados por uma variedade de salmonelas e apresentam as bactérias em seus tecidos (carne), excrementos ou ovos. A elevada incidência de salmonelas em frangos comercialmente preparados tem sido amplamente divulgada. A incidência da febre tifoide diminuiu, porém a de outras infecções por *Salmonella* tem aumentado notavelmente nos EUA. O problema é provavelmente agravado pelo uso disseminado de rações animais contendo antimicrobianos que favorecem a proliferação de salmonelas resistentes a fármacos e sua transmissão potencial a seres humanos.

A. Portadores

Após a ocorrência de infecção manifesta ou subclínica, alguns indivíduos continuam a abrigar salmonelas em seus tecidos por um período variável (portadores convalescentes ou permanentes sadios). Cerca de 3% dos sobreviventes da febre tifoide tornam-se portadores permanentes, abrigando os microrganismos na vesícula biliar, no trato biliar ou, raramente, no intestino ou no trato urinário.

B. Fontes de infecção

Consistem em bebidas e alimentos contaminados com salmonelas. As seguintes fontes são importantes:

1. **Água** — a contaminação com fezes frequentemente resulta em epidemias explosivas.
2. **Leite e outros produtos derivados (sorvete, queijo, creme)** — contaminação com fezes e pasteurização inadequada ou manipulação imprópria. Algumas epidemias podem ser atribuídas à fonte do abastecimento.
3. **Frutos do mar** — em virtude de água contaminada.
4. **Ovos desidratados ou congelados** — provenientes de aves infectadas ou contaminados durante o processamento.
5. **Carnes e derivados** — a partir de animais infectados (aves domésticas) ou contaminação com fezes de roedores ou seres humanos.
6. **Drogas “recreativas”** — maconha e outras drogas.
7. **Corantes de origem animal** — corantes (p. ex., carmina) utilizados em medicamentos, alimentos e cosméticos.
8. **Animais domésticos** — tartarugas, cães, gatos e animais exóticos como répteis.

Prevenção e controle

Devem-se tomar medidas sanitárias para evitar a contaminação da água e dos alimentos por roedores ou outros animais que excretam salmonelas. É preciso cozinhar totalmente as aves domésticas, carnes e ovos. Os portadores não devem trabalhar na manipulação de alimentos e precisam seguir precauções higiênicas estritas.

Dois vacinas contra a febre tifoide estão atualmente disponíveis nos EUA, uma vacina atenuada administrada por via oral e uma vacina polissacarídica produzida com polissacarídeo Vi para uso intramuscular*. A vacinação é recomendada para indivíduos em viagem para áreas endêmicas, especialmente regiões rurais e pequenas cidades, em que as opções de comida são limitadas. Ambas as vacinas apresentam um grau de eficiência de 50 a 80%. O tempo necessário para imunização e a idade limite variam para cada tipo de vacina e os indivíduos devem consultar o *site* do Centers for Disease Control and Prevention (CDC).

RESUMO DO CAPÍTULO

- Os membros da família Enterobacteriaceae são bastonetes gram-negativos, que geralmente apresentam bom crescimento em meios laboratoriais usuais.
- Os membros desse grupo são catalase e nitrato-positivos e, com exceção de *Plesiomonas*, são todos oxidase-positivos. Esses microrganismos podem ser rapidamente identificados pela habilidade de fermentar a lactose em meio MacConkey e outras reações bioquímicas, ou ainda por novas tecnologias como o MALDI-TOF.
- As Enterobacteriaceae expressam uma variedade de antígenos que incluem o antígeno somático O (lipopolissacarídeo), o capsular K e o flagelar H. As espécies de *Salmonella* expressam os antígenos Vi. Esses antígenos são fatores de virulência e podem ser usados para sorotipagem desses microrganismos.
- As Enterobacteriaceae causam uma série de infecções humanas, que podem ser classificadas em doenças entéricas e doenças extraintestinais, como, por exemplo, infecções urinárias.
- Os gêneros associados a doenças entéricas incluem: *Salmonella*, *Shigella* e *Escherichia* diarreio gênica. A *E. coli* apresenta pelo menos seis cepas baseadas em diferentes mecanismos de patogenicidade e fatores de virulência (p. ex., capacidade toxigênica ou invasiva).
- A infecção extraintestinal mais comum causada por esses microrganismos é a infecção urinária. A *E. coli* é o agente etiológico mais comum, porém microrganismos urease-positiva, como espécies de *Proteus*, podem causar cistites e induzir a formação de cálculos renais.
- As espécies de Enterobacteriaceae adquiridas em ambiente hospitalar são geralmente resistentes a diferentes antibióticos.

QUESTÕES DE REVISÃO

1. Uma estudante universitária de 20 anos e idade foi ao centro de saúde por apresentar disúria e frequência urinária durante 24 horas. Ela tornou-se sexualmente ativa recentemente. Ao exame de urina, foram vistas muitas células polimorfonucleares. O microrganismo que tem maior probabilidade de ser o responsável por estes sinais e sintomas é:

* N. de R.T. No Brasil, está disponível a vacina polissacarídica, fora do calendário vacinal, conhecida como *Typhim* Vi. Esta vacina apresenta eficácia de até 75%, oferecendo proteção contra a doença durante aproximadamente três anos.

- (A) *Staphylococcus aureus*
 (B) *Streptococcus agalactiae*
 (C) *Gardnerella vaginalis*
 (D) Espécies *Lactobacillus*
 (E) *Escherichia coli*
2. Uma mulher de 27 anos de idade é admitida em um hospital devido a febre, com anorexia progressiva, dor de cabeça, fraqueza e estado mental alterado nos últimos 2 dias. Ela trabalha em uma companhia aérea como aeromoça, voando entre a Índia e outras regiões do Sudeste Asiático e a Costa-Oeste dos EUA. Dez dias antes de sua admissão no hospital, apresentou diarreia que durou cerca de 36 horas. Nos últimos 3 dias, apresentou prisão de ventre. A temperatura é de 39°C, pulso médio de 68/minuto, pressão sanguínea de 120/80 mmHg e 18 respirações por minuto. A paciente sabe quem ela é e onde está, mas não lembra a data. Apresenta lucidez para pegar suas roupas de cama. Observam-se manchas rosadas em seu tronco. O restante do exame físico é normal. São realizadas hemoculturas e um acesso intravenoso é colocado. O mais provável agente causador de sua doença é:
- (A) *Escherichia coli* enterotoxigênica (ETEC)
 (B) *Shigella sonnei*
 (C) *Salmonella enterica* subespécie *enterica* sorotipo *typhimurium* (*Salmonella typhimurium*)
 (D) *Salmonella enterica* subespécie *enterica* sorotipo *typhi* (*Salmonella typhi*)
 (E) *Escherichia coli* enteroinvasiva (EIEC)
3. Na hemocultura da paciente da Questão 2, houve o crescimento de bacilo gram-negativo não fermentador de lactose. Qual das seguintes alternativas é um provável componente desse microrganismo?
- (A) Antígeno O 157, antígeno H 7 (O157:H7)
 (B) Antígeno Vi (cápsula; antígeno de virulência)
 (C) Antígeno O 139 (O139)
 (D) Urease
 (E) K1 (antígeno capsular tipo 1)
4. Uma mulher de 37 anos de idade com história de infecções do trato urinário foi internada em enfermaria de emergência com ardor ao urinar além de frequência e urgência urinária. Relatou que sua urina tem odor de amônia. A causa mais provável de sua infecção urinária é:
- (A) *Enterobacter aerogenes*
 (B) *Proteus mirabilis*
 (C) *Citrobacter freundii*
 (D) *Escherichia coli*
 (E) *Serratia marcescens*
5. Um estudante de 18 anos de idade teve cólicas abdominais e diarreia. Foi inoculada uma placa de ágar de MacConkey onde cresceram bacilos gram-negativos. O ágar de ferro tríplice (TSI) é usado para triar os isolados para salmonelas e *Shigelas*. Um resultado sugestivo de um destes dois patógenos pode ser:
- (A) Produção de urease
 (B) Motilidade no meio
 (C) Incapacidade de fermentar lactose e sacarose
 (D) Fermentação da glicose
 (E) Produção de gás no meio
6. Um sorotipo incomum da *Salmonella enterica* subespécie *enterica* foi encontrado pelos laboratórios de saúde de estados adjacentes. Todos os isolados eram de uma pequena área geográfica situada entre os dois estados, sugerindo uma fonte comum para os isolados. (Os isolados eram provenientes de adultos jovens e saudáveis que haviam fumado maconha; a mesma salmonela foi isolada de uma amostra de maconha.) Por qual método o laboratório pode determinar que esses isolados são os mesmos?
- (A) Tipagem do antígeno capsular (antígeno K)
 (B) Tipagem dos antígenos O e H
 (C) Sequenciamento do DNA
 (D) Determinação dos padrões de fermentação dos açúcares
 (E) Determinação dos padrões da reação da descarboxilase
7. Um homem de 43 anos de idade, diabético, teve uma úlcera aberta de 4 cm no pé. Na cultura de material da úlcera cresceram *Staphylococcus aureus*, *Bacteroides fragilis* e um bacilo gram-negativo, o qual formou um véu que cobriu a superfície da placa de ágar após 36 h. O bacilo gram-negativo é um membro do gênero:
- (A) *Escherichia*
 (B) *Enterobacter*
 (C) *Serratia*
 (D) *Salmonella*
 (E) *Proteus*
8. Um menino de 4 anos de idade, de Kansas City, que começou a pré-escola recentemente e que fica em creche depois da escola é levado ao seu pediatra devido a uma doença diarreica, caracterizada por febre de 38,2°C, dor abdominal grave e início de diarreia aquosa. Sua mãe ficou preocupada, pois as fezes agora estão sanguinolentas e 24 horas após a doença a criança parece estar muito doente. A mãe relata que outras duas crianças da mesma creche recentemente tiveram doença diarreica, uma das quais provavelmente apresentou fezes sanguinolentas. Qual dos patógenos seguintes é o mais provável causador da doença nesta criança?
- (A) Uma cepa enterotoxigênica de *Escherichia coli*
 (B) *Salmonella enterica* subespécie *enterica*, sorotipo *typhi* (*Salmonella typhi*)
 (C) *Shigella sonnei*
 (D) *Edwardsiella tarda*
 (E) *Klebsiella oxytoca*
9. Uma menina de 5 anos de idade foi a uma festa de aniversário em um restaurante *fast food*. Depois de cerca de 48 horas, ela apresentou cólicas e dores abdominais, febre baixa e teve cinco episódios de fezes com sangue. A criança foi levada a uma enfermaria de emergência na tarde seguinte, pois a diarreia continuava e ela estava pálida e letárgica. À apresentação, ela apresentou temperatura de 38°C, estava hipotensa e com taquicardia. O exame do abdome revelou sensibilidade no quadrante inferior. Os exames laboratoriais revelaram creatinina de 2,0 mg/dL; hemoglobina de 8,0 mg/dL, trombocitopenia e evidência de hemólise. Qual é o mais provável agente causador da doença desta criança?
- (A) *Escherichia coli* O157:H7
 (B) *Salmonella enterica* subespécie *enterica*, sorotipo *typhimurium*
 (C) *Escherichia coli* enteropatogênica
 (D) *Edwardsiella tarda*
 (E) *Plesiomonas shigelloides*
10. Um homem de 55 anos de idade, sem teto e alcoolista, apresenta uma pneumonia multilobar grave, com necessidade de intubação e ventilação mecânica. A coloração pelo método de Gram de seu escarro revelou inúmeros leucócitos polimorfonucleares e bastonetes gram-negativos que parecem possuir cápsula. O organismo é fermentador de lactose em ágar de MacConkey e é muito mucoide. É imóvel e lisina-descarboxilase-positivo. Qual é o mais provável agente causador da doença neste homem?

- (A) *Serratia marcescens*
 (B) *Enterobacter aerogenes*
 (C) *Proteus mirabilis*
 (D) *Klebsiella pneumoniae*
 (E) *Morganella morganii*
11. Qual das seguintes afirmativas sobre os antígenos O está correta?
 (A) Todas as Enterobacteriaceae possuem antígenos O idênticos
 (B) São encontrados no polissacarídeo capsular de bactérias entéricas
 (C) São ligados covalentemente ao cerne do polissacarídeo
 (D) Não estimulam resposta imunológica no hospedeiro
 (E) Não são importantes na patogênese da infecção causada por bactérias entéricas
12. Qual dos seguintes testes é o procedimento menos sensível para o diagnóstico de colite causada pela *shiga* toxina produzida por *Escherichia coli*?
 (A) Cultura em ágar de MacConkey sorbitol
 (B) Teste de toxina usando ensaios imunoenzimáticos
 (C) Ensaio de citotoxicidade em cultivo celular utilizando células Vero
 (D) Reação em cadeia da polimerase para detecção de genes que codificam a *shiga* toxina
13. Um homem HIV-positivo recentemente viajou de férias para o Caribe por duas semanas. Ele desenvolveu diarreia aquosa e dores abdominais, sem relato de febre durante a segunda semana de férias. Após três semanas, se dirigiu à clínica médica com sintomas persistentes e perda de peso. Dado ao histórico, a suspeita seria:
 (A) *E. coli* enteroinvasiva
 (B) *Salmonella typhi*
 (C) *E. coli* enteropatogênica
 (D) *Shigella flexneri*
 (E) *E. coli* enteroagregativa
14. Qual o mecanismo de ação da toxina termolábil de ETEC?
 (A) Lesão A/E
 (B) Ativação do adenilato ciclase
 (C) Aderência agregativa
 (D) Disfunção ribossomal
 (E) Nenhuma das respostas anteriores
15. Uma mulher jovem apresenta infecção urinária recorrente causada pela mesma amostra de *Proteus mirabilis*. Qual é a maior preocupação nesse caso?

- (A) Ela não tomar a medicação corretamente
 (B) Ela ser gestante e nessa condição se tornar mais suscetível a ITUs.
 (C) Ela poder desenvolver cálculos na bexiga ou nos rins
 (D) Do seu parceiro também estar contaminado
 (E) Ela poder apresentar diabetes e uma possível tolerância ao teste de glicose

Respostas

- | | | | |
|------|------|-------|-------|
| 1. E | 5. C | 9. A | 13. E |
| 2. D | 6. B | 10. D | 14. B |
| 3. B | 7. E | 11. C | 15. C |
| 4. B | 8. C | 12. A | |

REFERÊNCIAS

- Abbott S: *Klebsiella, Enterobacter, Citrobacter, Serratia, Plesiomonas, and other Enterobacteriaceae*. In Versalovic J, Carroll KC, Funke G et al. (editors). *Manual of Clinical Microbiology*, 10th ed. ASM Press, 2011.
- Donnenberg MS: *Enterobacteriaceae*. In Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (editors). *Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*, 7th ed. Churchill Livingstone Elsevier, 2009.
- Dupont HL: *Shigella* species (bacillary dysentery). In Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (editors). *Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*, 7th ed. Churchill Livingstone Elsevier, 2009.
- Eigner U, Holfelder M, Oberdorfer K et al. Performance of a matrix-assisted laser desorption ionization-time-of-flight mass spectrometry system for the identification of bacterial isolates in the clinical routine laboratory. *Clin Lab* 2009;55:289–296.
- Nataro JP, Bopp CA, Fields PI et al.: *Escherichia, Shigella, and Salmonella*. In Versalovic J, Carroll KC, Funke G et al. (editors). *Manual of Clinical Microbiology*, 10th ed. ASM Press, 2011.
- Pegues DA, Miller SI: *Salmonella* species, including *Salmonella typhi*. In Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (editors). *Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*, 7th ed. Elsevier, 2010.

Pseudomonas, *Acinetobacter* e bactérias gram-negativas incomuns

As espécies *Pseudomonas* e *Acinetobacter* encontram-se amplamente distribuídas no solo e na água. Algumas vezes, a *Pseudomonas aeruginosa* coloniza seres humanos e constitui o principal patógeno humano do grupo. A *P. aeruginosa* é um microrganismo invasivo e toxigênico, que provoca infecções em pacientes com defesas anormais, e constitui um importante patógeno hospitalar.

Neste capítulo estão incluídas as bactérias gram-negativas que raramente causam doença em seres humanos. Algumas dessas bactérias (p. ex., cromobactérias e criseobactérias) são encontradas no solo ou na água, e atuam como patógenos oportunistas em seres humanos. Outras bactérias gram-negativas (p. ex., espécies de *Capnocytophaga*, *Eikenella corrodens*, *Kingella* e *Moraxella*) pertencem à microbiota normal dos seres humanos e ocorrem em uma ampla variedade de infecções; com frequência, constituem causas inesperadas de doença.

O GRUPO DAS PSEUDOMONAS

As espécies de *Pseudomonas* são bacilos gram-negativos, móveis e aeróbios, alguns dos quais produzem pigmentos hidrossolúveis. São amplamente encontradas no solo, na água, em plantas e animais. *Pseudomonas aeruginosa* está frequentemente presente, em pequeno número, na microbiota intestinal normal e na pele dos seres humanos, e constitui o principal patógeno do grupo. Outras espécies de pseudomonas raramente provocam doença. A classificação das pseudomonas baseia-se na homologia rRNA/DNA e nas características comuns de cultura. As pseudomonas de importância clínica estão relacionadas no Quadro 16.1.

PSEUDOMONAS AERUGINOSA

P. aeruginosa encontra-se amplamente distribuída na natureza e costuma ser encontrada em ambientes úmidos nos hospitais. Pode colonizar seres humanos normais, nos quais atua como saprófita. Provoca doença em indivíduos com defesas anormais do hospedeiro.

Morfologia e identificação

A. Microrganismos típicos

P. aeruginosa é um microrganismo móvel, em forma de bastonete, que mede cerca de $0,6 \times 2 \mu\text{m}$ (Fig. 16.1). É gram-negativa e ocorre como bactérias isoladas, em pares, e, ocasionalmente, em cadeias curtas.

B. Cultura

P. aeruginosa é um aeróbio obrigatório que cresce facilmente em muitos tipos de meio de cultura, produzindo, às vezes, um odor adocicado ou semelhante ao de uva ou milho. Algumas cepas hemolisam o sangue. *P. aeruginosa* forma colônias lisas e redondas, de coloração esverdeada fluorescente. Com frequência, produz o pigmento azulado não fluorescente **piocianina**, que se difunde em ágar. Outras espécies *Pseudomonas* não produzem piocianina. Muitas cepas de *P. aeruginosa* também produzem o pigmento fluorescente **pioverdina**, que confere ao ágar a coloração esverdeada (Fig. 16.2). Algumas cepas produzem o pigmento vermelho **piorrubina** ou o pigmento negro **piomelanina**.

Em cultura, *P. aeruginosa* pode produzir vários tipos de colônia (Fig. 16.3). *P. aeruginosa* de diferentes tipos de colônia também pode exibir diversas atividades bioquímicas e enzimáticas, bem como diferentes padrões de sensibilidade aos antimicrobianos. Algumas vezes, não fica claro se os diferentes tipos de colônia representam diferentes cepas da *P. aeruginosa* ou se são a mesma cepa. As culturas das amostras obtidas de pacientes com fibrose cística (FC) frequentemente produzem colônias mucoides de *P. aeruginosa* em consequência da superprodução de alginato, um exopolissacarídeo. Nos pacientes com FC, o exopolissacarídeo parece fornecer uma matriz para que os organismos permaneçam em um biofilme (Caps. 2 e 9).

C. Características de crescimento

P. aeruginosa cresce bem a 37 a 42°C. Seu crescimento a 42°C ajuda a diferenciá-la das outras *Pseudomonas* do grupo fluorescente. É **oxidase-positiva**. Não fermenta os carboidratos, porém muitas cepas oxidam a glicose. Em geral, a identificação baseia-se na morfologia das colônias, na positividade da oxidase, na presença de pigmentos característicos e no crescimento a 42°C. A diferenciação entre *P. aeruginosa* e as outras espécies *Pseudomonas* com base na sua atividade bioquímica exige a realização de testes com uma grande bateria de substratos.

Estrutura antigênica e toxinas

Os *pili* (fimbrias) estendem-se a partir da superfície celular e promovem a fixação da bactéria às células epiteliais do hospedeiro. O exopolissacarídeo é responsável pelas colônias mucoides observadas em culturas de pacientes com FC. O

QUADRO 16.1 Classificação de algumas pseudomonas clinicamente importantes^a

Grupo e subgrupo de homologia do rRNA	Gênero e espécie	
I Grupo fluorescente	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	
	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	
	<i>Pseudomonas putida</i>	
	Grupo não fluorescente	<i>Pseudomonas stutzeri</i>
		<i>Pseudomonas mendocina</i>
II	<i>Burkholderia pseudomallei</i>	
	<i>Burkholderia mallei</i>	
	<i>Burkholderia cepacia</i>	
	<i>Cupriavidus</i>	
	<i>Delftia</i>	
	<i>Pandoraea</i>	
	<i>Ralstonia pickettii</i>	
III	Espécies <i>Comamonas</i>	
	Espécies <i>Acidovorax</i>	
IV	Espécies <i>Brevundimonas</i>	
V	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	

^a Muitas outras espécies são ocasionalmente encontradas em amostras clínicas ou do ambiente.

lipopolissacarídeo, que existe em vários imunotipos, é responsável por muitas das propriedades endotóxicas do microrganismo. A *P. aeruginosa* pode ser tipada de acordo com o imunotipo de polissacarídeo e a suscetibilidade à piocina (bacteriocina). A maioria das *P. aeruginosa* isoladas de infecções clínicas produz enzimas extracelulares, como elastases, proteases e duas hemolisinas: a fosfolipase C termolábil e um glicolípido termoestável.

Muitas cepas de *P. aeruginosa* produzem a exotoxina A, que provoca necrose tecidual e é letal para os animais quando

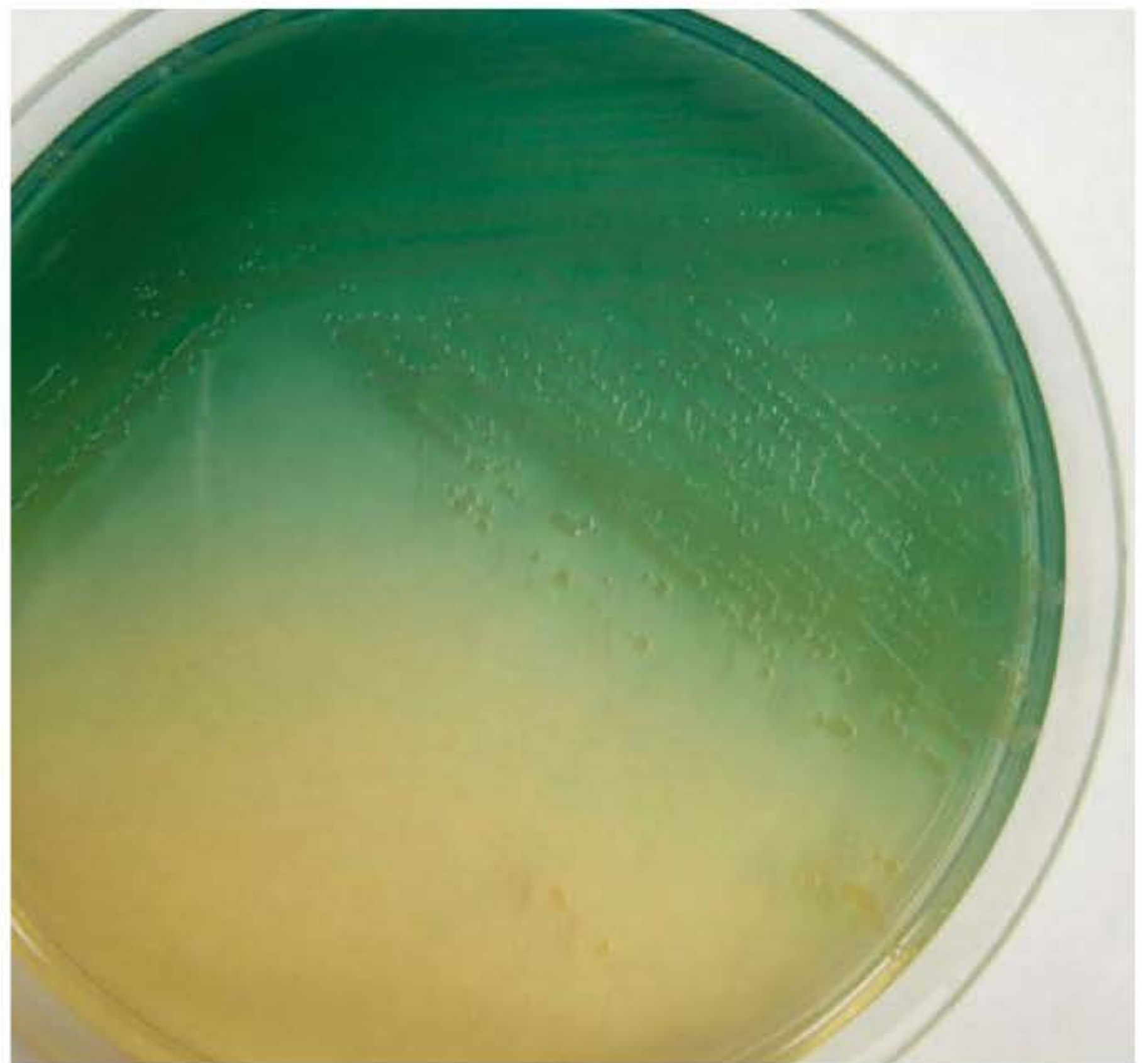


FIGURA 16.2 *Pseudomonas aeruginosa* em uma placa de ágar Mueller-Hinton de 10 cm. As colônias individuais apresentam 3 a 4 mm de diâmetro. O microrganismo produz piocianina, que é azul, e pioverdina, que é verde. Em conjunto, estes pigmentos produzem a coloração azul-esverdeada que é observada em torno das colônias em crescimento no ágar. (Cortesia de S. Lowe.)

injetada em forma purificada. A toxina bloqueia a síntese das proteínas por um mecanismo de ação idêntico ao da toxina diftérica, embora as estruturas das duas toxinas não sejam idênticas. Antitoxinas contra a exotoxina A são encontradas em alguns soros humanos, como os de pacientes que se recuperaram de infecções graves por *P. aeruginosa*.

Patogênese

P. aeruginosa só é patogênica quando introduzida em áreas desprovidas de defesas normais, como, por exemplo, quando as mucosas e a pele são rompidas por lesão tecidual direta, (em caso de queimaduras) pela introdução de catéteres intravenosos ou urinários, ou quando há neutropenia, como na quimioterapia do câncer. A bactéria se fixa, colonizando as mucosas e a pele, invadindo-as localmente e ocasionando doença sistêmica. Esses processos são promovidos pelos *pili*, enzimas e toxinas já descritos. O lipopolissacarídeo desempenha um papel direto no desencadeamento de febre, choque, oligúria, leucocitose e leucopenia, coagulação intravascular disseminada (CID) e síndrome de angústia respiratória do adulto.

P. aeruginosa e outras espécies de pseudomonas são resistentes a muitos antimicrobianos, e, por conseguinte, tornam-se dominantes e importantes quando bactérias mais suscetíveis da microbiota normal são suprimidas.

Manifestações clínicas

A *P. aeruginosa* provoca infecção de feridas e queimaduras, originando pus azul-esverdeado, meningite, (quando introduzida

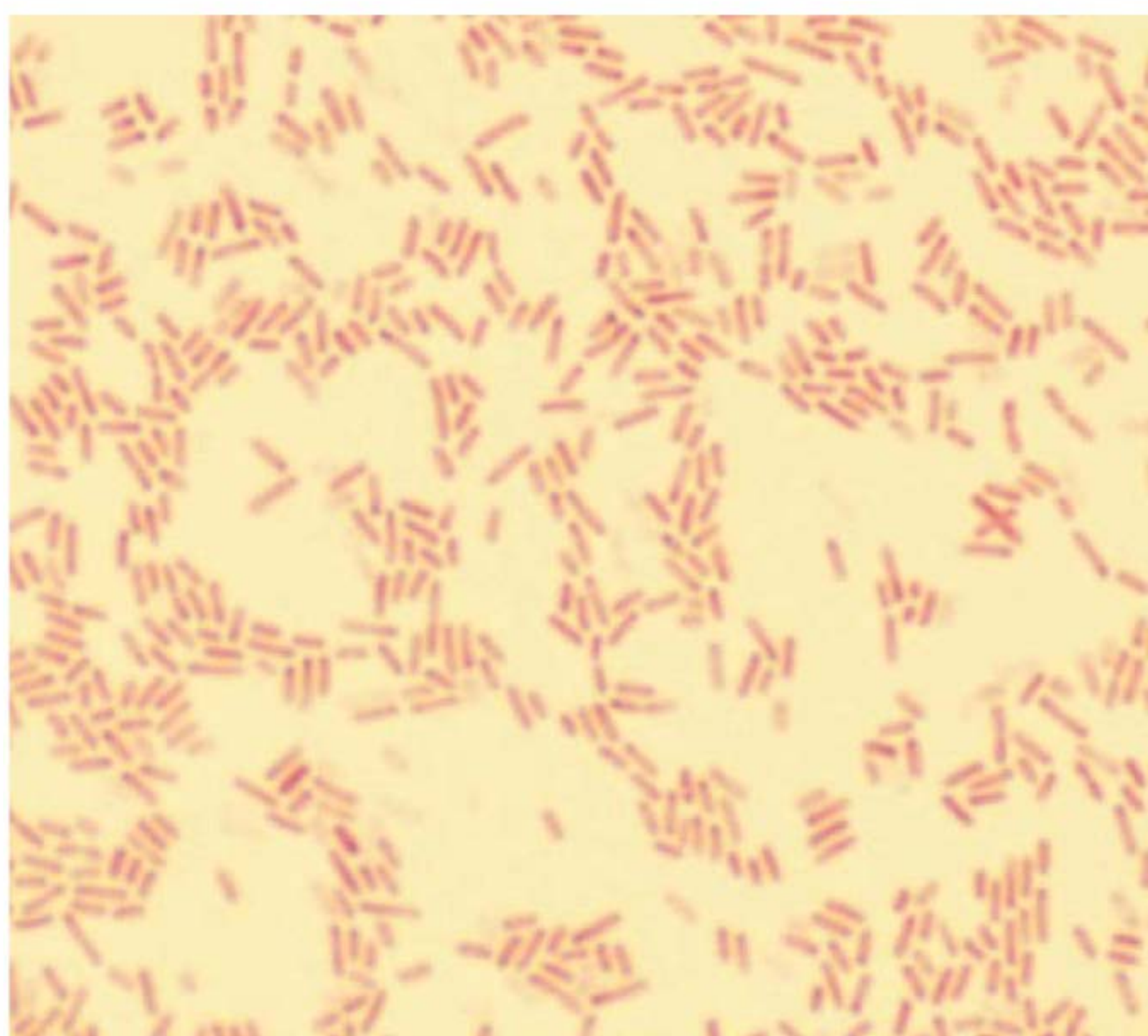


FIGURA 16.1 Coloração pelo método de Gram de *Pseudomonas aeruginosa*, que apresenta cerca de $0,6 \times 2 \mu\text{m}$. Aumento original de 1.000 vezes. (Cortesia de H. Reyes.)

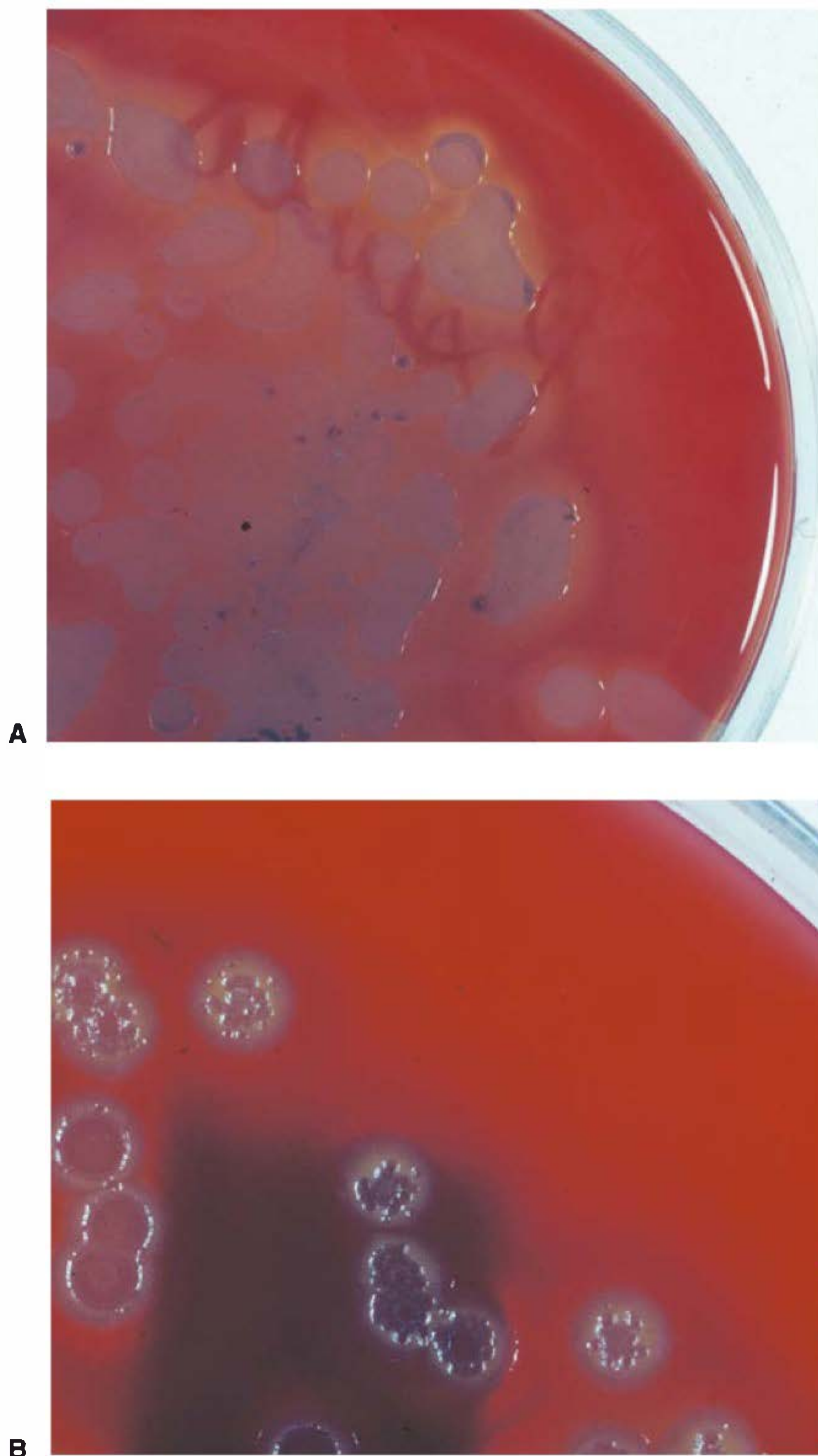


FIGURA 16.3 Variação na morfologia colonial de *Pseudomonas aeruginosa*. (A) Colônias verde-acinzentadas de 6 a 8 mm de diâmetro em uma placa de ágar-sangue de 10 cm; o sangue em torno das colônias apresenta-se hemolisado. (B) Colônias secas, prateadas, em uma placa similar de ágar-sangue; não se observa hemólise (a sombra escura na parte inferior da figura é de uma etiqueta colada no fundo da placa). (Cortesia de H. Reyes.)

por punção lombar ou durante neurocirurgias) e infecção das vias urinárias (quando introduzida através de cateteres e instrumentos ou em soluções de irrigação). O comprometimento das vias respiratórias, sobretudo por respiradores contaminados, resulta em pneumonia necrosante. A bactéria é frequentemente encontrada na otite externa leve em nadadores. Pode provocar otite externa invasiva (maligna) em pacientes diabéticos. A infecção ocular, que pode levar a rápida destruição do olho, é mais comum após lesão ou procedimentos cirúrgicos. Em lactentes ou indivíduos debilitados, *P. aeruginosa* pode invadir a corrente sanguínea e provocar sepse fatal, situação comumente observada em pacientes com leucemia ou linfoma tratados

com antineoplásicos ou radioterapia, bem como naqueles com queimaduras graves. Na maioria das infecções causadas por *P. aeruginosa*, os sinais e sintomas são inespecíficos e estão relacionados com o órgão acometido. Às vezes, é possível detectar verdoglobina (um produto de degradação da hemoglobina) ou pigmento fluorescente em feridas, queimaduras ou urina por fluorescência com ultravioleta. A necrose hemorrágica da pele ocorre frequentemente na sepse causada por *P. aeruginosa*; as lesões, denominadas **ectima gangrenoso**, são circundadas por eritema e, com frequência, não contêm pus. *P. aeruginosa* pode ser observada em amostras de lesões de ectima coradas pelo método de Gram, ou a partir de culturas positivas. O ectima gangrenoso é raro na bacteriemia causada por outros microrganismos, além de *P. aeruginosa*. Uma forma de foliculite associada a não higienização e controle do cloro em piscinas, banheiras de hidromassagem e ofurôs tem sido observada em indivíduos saudáveis.

Exames diagnósticos laboratoriais

A. Amostras

As amostras de lesões cutâneas, pus, urina, sangue, líquido cefalorraquidiano, escarro e outro material devem ser obtidas conforme seja indicado pelo tipo de infecção.

B. Esfregaços

Bacilos gram-negativos são frequentemente observados nos esfregaços. Não existe característica morfológica específica capaz de diferenciar entre pseudomonas em amostras e outros bacilos gram-negativos ou entéricos.

C. Cultura

As amostras são semeadas em ágar-sangue e nos diferentes meios comumente empregados para o crescimento de bacilos gram-negativos entéricos. As pseudomonas crescem facilmente na maioria desses meios, porém podem fazê-lo mais lentamente que os bacilos entéricos. *P. aeruginosa* não fermenta a lactose, sendo facilmente diferenciada das bactérias fermentadoras de lactose. A cultura constitui o teste específico para o diagnóstico de infecção por *P. aeruginosa*.

Tratamento

As infecções clinicamente significativas por *P. aeruginosa* não devem ser tratadas com um único fármaco (monoterapia), visto que a taxa de sucesso é baixa com esse tipo de tratamento e os clones resistentes podem ser rapidamente selecionados. Usa-se uma penicilina de espectro ampliado ativa contra a *P. aeruginosa*, tal como a piperacilina, em combinação com um aminoglicosídeo, geralmente tobramicina. Outros fármacos ativos contra a *P. aeruginosa* são o aztreonam, os carbapenêmicos, (como imipenem ou meropenem) e as fluoroquinolonas (como o ciproflaxacino). Entre as cefalosporinas mais novas, a ceftazidima, a cefoperazona e a cefepima mostraram-se ativas contra a *P. aeruginosa*; a ceftazidima é frequentemente prescrita com um aminoglicosídeo no tratamento primário das infecções por *P. aeruginosa*, especialmente em

pacientes com neutropenia. Os padrões de sensibilidade de *P. aeruginosa* variam geograficamente, e antibiogramas são indicados como medida auxiliar na escolha da terapia antimicrobiana. A multirresistência tem se tornado um dos maiores problemas no controle de infecções por *P. aeruginosa*, em ambientes hospitalares, pela expressão de β -lactamases cromossomiais, β -lactamases de padrão amplificado, mutações em porinas e por bomba de efluxo.

Epidemiologia e controle

P. aeruginosa é primariamente um patógeno hospitalar, e os métodos de controle da infecção assemelham-se aos empregados para as outras infecções nosocomiais. Como crescem em ambientes úmidos, deve-se dar atenção especial a pias, banheiras, chuveiros e outras áreas úmidas. Para fins epidemiológicos, as cepas podem ser tipadas por meio de técnicas de tipagem molecular.

BURKHOLDERIA PSEUDOMALLEI

Burkholderia pseudomallei é um pequeno bacilo gram-negativo, oxidase-positivo, aeróbio e móvel que cresce em meios bacteriológicos-padrões, formando colônias que variam de mucoides e lisas a rugosas e enrugadas, de coloração creme a laranja. O microrganismo cresce a 42°C e oxida a glicose, a lactose e inúmeros carboidratos. Provoca **meliodose** em seres humanos, principalmente no Sudeste Asiático e no norte da Austrália. O microrganismo é um saprófita natural cultivado a partir do solo, da água, de arrozais e hortas. A infecção humana provavelmente origina-se dessas fontes pela contaminação de escoriações na pele e possivelmente por ingestão ou inalação. A infecção epizootica por *B. pseudomallei* ocorre em carneiros, cabras, suínos, cavalos e outros animais, embora os animais não pareçam constituir um reservatório primário do microrganismo.

A meliodose pode manifestar-se em forma de infecção aguda, subaguda ou crônica. O período de incubação pode ser curto, de apenas 2 a 3 dias, mas também ocorrem períodos latentes de vários meses a anos. Uma infecção supurativa localizada pode ocorrer no local de inoculação, onde exista uma abertura na pele. Essa infecção localizada pode levar à forma septicêmica aguda da infecção, com comprometimento de muitos órgãos. Os sinais e sintomas dependem dos principais locais de acometimento. A forma de meliodose mais comum é a infecção pulmonar, que pode consistir em pneumonite primária (*B. pseudomallei* transmitida através das vias respiratórias superiores ou da nasofaringe) ou secundária a infecção supurativa localizada e bacteriemia. O paciente pode apresentar febre e leucocitose, com a consolidação dos lobos superiores. Posteriormente, pode não apresentar febre, enquanto ocorre o desenvolvimento de cavidades dos lobos superiores, produzindo um aspecto semelhante ao da tuberculose em radiografias de tórax. Alguns pacientes desenvolvem infecção supurativa crônica, com abscessos na pele, cérebro, pulmões, miocárdio, fígado, ossos e outros locais. Os pacientes com infecções supurativas crônicas podem ser afebris e apresentar doença indolente. Algumas vezes, a infecção latente é reativada em decorrência de imunossupressão.

Deve-se considerar o diagnóstico de meliodose em um paciente que resida em área endêmica e apresente doença pulmonar fulminante dos lobos superiores ou doença sistêmica inexplicada. A coloração de uma amostra apropriada pelo método de Gram revela a presença de pequenos bacilos gram-negativos; coloração bipolar (aspecto em alfinete de segurança) é observada em amostras coradas pelo método de Wright ou por azul de metileno. Uma cultura positiva é diagnóstica. A positividade do teste sorológico é útil para o diagnóstico e constitui evidência de infecção passada.

A meliodose possui uma elevada taxa de mortalidade, quando não tratada. Pode ser necessária drenagem cirúrgica da infecção localizada. Em geral, *B. pseudomallei* mostra-se sensível a ceftazidima, imipenem, meropenem, amoxicilina com ácido clavulânico (também com ceftriaxona e cefotaxima). *B. pseudomallei* geralmente é resistente a penicilina, ampicilina e cefalosporinas de primeira e segunda gerações, e a gentamicina e tobramicina. Dependendo do caso clínico, a terapia intensiva deve ser iniciada com ceftazidima, imipenem ou meropenem por um período mínimo de 10 a 14 dias; pode-se considerar o uso de sulfametoxazol-trimetoprima em pacientes com alergia grave aos β -lactâmicos. Terapia de erradicação com sulfametoxazol-trimetoprima ou doxicilina deve seguir-se à terapia intensiva inicial e prosseguir por, no mínimo 3 meses. Pode ocorrer doença recorrente devido a falha na erradicação por diversas razões, mas a mais importante é o não acompanhamento da terapia de erradicação.

BURKHOLDERIA MALLEI

Burkholderia mallei é um pequeno bastonete gram-negativo aeróbio, não pigmentado e imóvel que cresce rapidamente na maioria dos meios bacteriológicos. Provoca **mormo**, uma doença de cavalos, mulas e burros, transmissível a seres humanos. Nos cavalos, a doença caracteriza-se por comprometimento pulmonar proeminente, lesões ulcerativas subcutâneas e espessamento linfático com nódulos. Ocorre também doença sistêmica. A infecção em seres humanos, que pode ser fatal, inicia-se geralmente como uma úlcera da pele ou das mucosas, seguida de linfangite e sepse. A inalação dos microrganismos pode ocasionar pneumonia primária.

O diagnóstico baseia-se na elevação dos títulos de aglutinina e na cultura do microrganismo a partir de amostras das lesões locais de seres humanos ou cavalos. Os casos humanos podem ser tratados de maneira eficaz com o mesmo regime antimicrobiano usado para tratar a meliodose.

A doença tem sido controlada pelo abate de cavalos e mulas infectados, e na atualidade é extremamente rara. Em alguns países, as infecções em laboratórios constituem a única fonte da doença.

COMPLEXO BURKHOLDERIA CEPACIA E BURKHOLDERIA GLADIOLI

A espécie prototípica *Burkholderia cepacia* e pelo menos outras nove genoespécies compõem o **complexo *Burkholderia cepacia***. *Burkholderia gladioli* é uma espécie estreitamente relacionada. Dessa forma, a classificação dessas bactérias é complexa;

sua identificação específica é difícil. Trata-se de microrganismos ambientais, aptos a crescer em água, solo, plantas, animais e vegetais em decomposição. Nos hospitais, membros do complexo *B. cepacia* são isolados de uma ampla variedade de fontes ambientais e da água, a partir das quais pode ser transmitida aos pacientes. Os pacientes com FC, em particular aqueles com doença granulomatosa crônica, são vulneráveis a infecção por bactérias do complexo *B. cepacia*, particularmente por *Burkholderia multivorans* (genoespécie II) e por *Burkholderia cenocepacia* (genoespécie III). É provável que *B. cepacia* possa ser transmitida de um paciente com FC para outros por contato próximo. Esses pacientes podem ter transporte assintomático, deterioração progressiva ao longo de meses, ou rápida deterioração progressiva com pneumonia necrosante e bacteriemia. Embora um percentual relativamente pequeno dos pacientes com FC adquira a infecção, a associação com doença progressiva torna a *B. cepacia* um sério problema para esses indivíduos. O diagnóstico de infecção por *B. cepacia* em um paciente com FC pode mudar significativamente a vida do paciente, pois pode não ser permitida a proximidade com outros pacientes com FC (isolamento) e esses pacientes podem ter seu nome retirado da lista de candidatos a transplante de pulmão.

B. cepacia cresce na maioria dos meios empregados em cultivo de amostras de pacientes para bactérias gram-negativas. Além disso, podem-se utilizar meios de cultura seletivos que contenham colistina (p. ex., ágar seletivo *B. cepacia*), principalmente quando o espécime clínico é proveniente de um paciente fibrocístico. *B. cepacia* cresce mais lentamente que os bacilos gram-negativos entéricos, e as colônias podem levar 3 dias para se tornarem visíveis. *B. cepacia* são oxidase-positivas, lisina descarboxilase-positivas e produzem ácido a partir da glicose, mas a diferenciação entre *B. cepacia* e outras pseudomonas, inclusive a *Stenotrophomonas maltophilia*, exige uma bateria de testes bioquímicos, e pode ser difícil. Recomenda-se encaminhar os microrganismos isolados para laboratórios de referência devido às implicações prognósticas de colonização em pacientes com FC. Nos EUA, há um laboratório de referência que emprega métodos fenotípicos e genotípicos para confirmar a identidade dos microrganismos no complexo *B. cepacia*. a Cystic Fibrosis Foundation, (<http://www.cff.org>). Devem ser feitos testes de sensibilidade para o complexo *B. cepacia*, embora o crescimento lento desses microrganismos possa dificultar o teste de rotina. O complexo *B. cepacia* isolado de pacientes com FC costuma ser resistente a vários fármacos. O antibiótico de escolha terapêutica é o sulfametoxazol-trimetoprima.

STENOTROPHOMONAS MALTOPHILIA

Stenotrophomonas maltophilia é um bastonete gram-negativo de vida livre, de ampla distribuição no ambiente. Em ágar-sangue, as colônias apresentam uma cor lavanda-esverdeada ou cinza. O microrganismo é geralmente oxidase-negativo e positivo para lisina descarboxilase, DNase e oxidação da glicose e maltose (portanto o nome “*maltophilia*”).

S. maltophilia constitui uma causa cada vez mais importante de infecções hospitalares em pacientes submetidos a terapia antimicrobiana e nos imunocomprometidos. O microrganismo é isolado de inúmeros locais anatômicos, como secreções das vias respiratórias, urina, feridas e sangue. Os

microrganismos isolados frequentemente fazem parte da microbiota presente nas amostras. Quando os resultados das hemoculturas são positivos, a infecção está comumente associada ao uso de cateteres de plástico intravenosos permanentes.

Em geral, a *S. maltophilia* é sensível ao combinado sulfametoxazol-trimetoprima e ácido clavulânico ticarcilina, mas mostra-se resistente a outros antimicrobianos comumente utilizados, como as cefalosporinas, aminoglicosídeos, imipenem e quinolonas. O uso disseminado dos fármacos aos quais a *S. maltophilia* é resistente desempenha importante papel no aumento da frequência com que esse microrganismo provoca doença.

OUTRAS PSEUDOMONAS

No Quadro 16.1, há uma lista de alguns dos inúmeros gêneros e espécies de pseudomonas, ocasionalmente patógenos oportunistas. O diagnóstico de infecções causadas por essas pseudomonas é estabelecido por meio de cultura das bactérias e sua identificação por reações diferenciais com um conjunto complexo de substratos bioquímicos. Contudo, muitas das espécies pseudomonas, excluindo-se a *P. aeruginosa*, não são fermentadoras, o que dificulta sua identificação pelos métodos de rotina. Instrumentos automatizados e diferentes kits não apresentam boa acurácia na identificação e diferenciação das espécies não *P. aeruginosa* e de gêneros relacionados. A espectrometria por MALDI-TOF é uma técnica promissora e pode facilitar a rápida identificação das espécies mais comuns, isoladas em diferentes materiais clínicos humanos. Pode ser necessário encaminhar a amostra a um laboratório de referência para identificação molecular, usando RNAr 16S ou outras sequências genéticas-alvos, visando a identificação definitiva. Muitas das pseudomonas apresentam padrões de sensibilidade antimicrobiana diferentes dos observados para *P. aeruginosa*.

ACINETOBACTER

As espécies de *Acinetobacter* são bactérias gram-negativas aeróbias de ampla distribuição no solo e na água que ocasionalmente podem ser cultivadas a partir de amostras de pele, mucosas, secreções e do ambiente hospitalar.

Acinetobacter baumannii é a espécie mais comumente isolada. *Acinetobacter lwoffii*, *Acinetobacter johnsonii*, *Acinetobacter haemolyticus* e outras espécies são isoladas ocasionalmente. Alguns microrganismos isolados não receberam nomes de espécies, sendo referidos como genoespécies. As espécies *Acinetobacter* também foram previamente designadas por várias denominações diferentes, como *Mima polymorpha* e *Herellea vaginicola*, refletindo muitas das características dos microrganismos.

Em geral, as espécies de *Acinetobacter* exibem aspecto cocobacilar ou em forma de cocos; assemelham-se às neissérias em esfregaços devido ao predomínio das formas diplocócicas nos líquidos corporais e em meios sólidos. As formas em bastonete também ocorrem, e ocasionalmente as bactérias parecem gram-positivas. *Acinetobacter* cresce bem na maioria dos

meios de cultura utilizados para cultura das amostras de pacientes. As espécies *Acinetobacter* isoladas de pacientes com meningite e bacteriemia têm sido confundidas com *Neisseria meningitidis*. De modo semelhante, o *Acinetobacter* isolado do trato genital feminino é confundido com *Neisseria gonorrhoeae*, mas as neissérias produzem oxidase, o que não ocorre com o *Acinetobacter*.

As espécies de *Acinetobacter* são frequentemente comensais, porém, às vezes, provocam infecção nosocomial. *A. baumannii* é isolado do sangue, do escarro, da pele, do líquido pleural e da urina, geralmente em infecções associadas a dispositivos. *A. johnsonii* é um patógeno hospitalar de baixa virulência, encontrado em hemoculturas de pacientes com cateteres de plástico intravenosos. O *Acinetobacter* encontrado em pacientes com pneumonia hospitalar frequentemente origina-se da água de umidificadores ou vaporizadores. Em pacientes com bacteriemia por *Acinetobacter*, os cateteres intravenosos são quase sempre a fonte de infecção. Em pacientes com queimaduras ou imunodeficiências, *Acinetobacter* atua como patógeno oportunista, podendo causar sepse. Com frequência, as cepas de *Acinetobacter* mostram-se multirresistentes aos antimicrobianos, o que pode dificultar o tratamento da infecção. Em muitos casos, o único antibiótico de escolha terapêutica é a colistina. Amostras multirresistentes são uma causa comum de infecções de feridas no Irã. Devem ser feitos antibiogramas a fim de auxiliar na escolha dos melhores antimicrobianos para o tratamento. As cepas de *Acinetobacter* respondem mais comumente a gentamicina, amicacina ou tobramicina, bem como às penicilinas de espectro ampliado ou cefalosporinas mais recentes.

BACTÉRIAS GRAM-NEGATIVAS INCOMUNS

AGGREGATIBACTER

O *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (formalmente *Actinobacillus actinomycetemcomitans*) é um pequeno microrganismo cocobacilar gram-negativo de crescimento lento. Conforme o nome indica, costuma ser encontrado na actinomicose. Provoca também doença periodontal grave em adolescentes, endocardite, abscessos, osteomielite e outras infecções. O tratamento consiste em tetraciclina ou cloranfenicol, e, algumas vezes, penicilina G, ampicilina ou eritromicina. Outro importante microrganismo desse gênero é o *Aggregatibacter aphrophilus* (formalmente *Haemophilus aphrophilus* ou "A" do acrônimo HACEK [*Haemophilus*, *aggregatibacter*, *Cardiobacterium*, *Eikenella* e *Kingella*]). Ver o Capítulo 18 para dados adicionais.

ACHROMOBACTER E ALCALIGENES

A classificação das espécies dentro do gênero *Achromobacter* e *Alcaligenes* é confusa e está sendo modificada. Estes grupos incluem espécies de bacilos gram-negativos oxidase-positivos, com flagelos peritríquios e móveis, o que os diferencia das pseudomonas. Tais microrganismos alcalinizam o meio com citrato e o meio de oxidação-fermentação contendo glicose. Mostram-se urease-negativos. Também fazem parte da

microbiota bacteriana humana normal, sendo isolados de respiradores, nebulizadores e sistemas de diálise renal. São ocasionalmente isolados de urina, sangue, líquido cerebrospinal, feridas e abscessos.

OCHROBACTRUM

O gênero *Ochrobactrum* compreende espécies anteriormente classificadas no gênero *Achromobacter* e outras espécies *Ochrobactrum*. É similar ao *Achromobacter* e *Alcaligenes*. O *Ochrobactrum anthropi* é o isolado mais frequente em bacteriemias isoladas a partir de cateteres intravasculares. Esta bactéria também pode contaminar produtos biológicos.

CAPNOCYTOPHAGA

As espécies de *Capnocytophaga* são bacilos gram-negativos, capnofílicos, fusiformes ou filamentosos, de crescimento lento, fermentadores e anaeróbios facultativos que exigem a presença de CO₂ para crescimento aeróbio. Podem exibir **motilidade com deslizamento**, que pode ser observada como brotamentos de colônias. Produzem uma substância que modifica a atividade quimiotática das células polimorfonucleares. A *Capnocytophaga ochracea*, a *Capnocytophaga sputigena* e a *Capnocytophaga gingivalis* são membros da microbiota oral normal dos seres humanos, sendo associadas à doença periodontal grave em adolescentes. Ocasionalmente, provocam bacteriemia e doença sistêmica grave em pacientes imunocomprometidos, particularmente nos granulocitopênicos com ulcerações orais. A *Capnocytophaga canimorsus* (formalmente, fermentadora disgônica 2 [DF-2]) é encontrada na microbiota oral dos cães. Quando transmitida a seres humanos, provoca, algumas vezes, infecção fulminante em pacientes asplênicos, alcoolistas e raramente em indivíduos sadios. A *Capnocytophaga cynodegmi* (semelhante à DF-2) está associada a infecções de feridas decorrentes de mordidas ou arranhaduras de cães ou gatos.

CARDIOBACTERIUM

O *Cardiobacterium hominis*, outra bactéria com nome descritivo, é um bastonete gram-negativo pleomórfico e anaeróbio facultativo que faz parte da microbiota normal das vias respiratórias superiores e do intestino, e ocasionalmente provoca endocardite. Com o emprego de meios de hemocultura modernos, não é mais necessário observar as culturas por mais de 5 ou 7 dias de incubação para o crescimento do *Cardiobacterium* e outros membros do grupo HACEK.

CROMOBACTÉRIAS

O *Chromobacterium violaceum* é um bacilo gram-negativo semelhante às pseudomonas, que em geral produz um pigmento violeta. Ocorre em climas subtropicais, no solo e na água, podendo infectar animais e seres humanos por meio de aberturas na pele ou via intestino, o que pode resultar em abscessos, diarreia e sepse, com muitos casos de morte. As cromobactérias são frequentemente sensíveis ao cloranfenicol, às tetraciclina e aos aminoglicosídeos.

EIKENELLA CORRODENS

E. corrodens (o “E” do acrônimo HACEK) é um pequeno bastonete gram-negativo capnofílico e exigente que faz parte da microbiota gengival e intestinal de 40 a 70% dos seres humanos. Cerca de 50% dos microrganismos isolados formam depressões no ágar durante os vários dias de incubação necessários para seu crescimento. A *Eikenella* é oxidase-positiva e não fermenta os carboidratos. É encontrada em infecções de microbiota mista associadas à contaminação por microrganismos da mucosa oral; frequentemente encontrada com estreptococos, costuma ocorrer em infecções secundárias a mordidas humanas. A *Eikenella* mostra-se uniformemente resistente à clindamicina, que pode ser utilizada para elaborar um meio em ágar seletivo. Em geral, a *Eikenella* é sensível à ampicilina, bem como às penicilinas e cefalosporinas mais recentes. Cepas produtoras de β -lactamase têm sido descritas.

CHRYSEOBACTERIUM

Os microrganismos do grupo *Chryseobacterium* consistem em bacilos gram-negativos finos, longos e imóveis, oxidase-positivos, proteolíticos e fracamente fermentadores. Em geral, formam colônias amarelas distintas. As *Chryseobacterium* são comumente encontradas em escoadouros, fossas e nos equipamentos médicos expostos a água contaminada e não esterilizada. Ocasionalmente, colonizam o trato respiratório. *Elizabethkingia meningoseptica* (formalmente *Chryseobacterium meningosepticum*) raramente provoca meningite e está associada à pneumonias nosocomiais. As espécies de *Chryseobacterium* costumam ser resistentes a muitos antimicrobianos.

KINGELLA

O grupo *Kingella* (o “K” do acrônimo HACEK) inclui quatro espécies, das quais a *Kingella kingae* é um microrganismo oxidase-positivo, imóvel e hemolítico quando cultivado em ágar-sangue. Trata-se de um bastonete gram-negativo, porém as formas cocobacilares e diplocócicas são comuns. Faz parte da microbiota oral normal e ocasionalmente causa infecções em ossos, articulações e tendões. Após *Staphylococcus aureus*, é a causa mais comum de artrite séptica em crianças menores de 5 anos. É provável que entre na circulação após pequeno traumatismo oral, como, por exemplo, durante a escovação dos dentes. Esse microrganismo é difícil de ser isolado a partir do líquido sinovial. A inoculação do espécime clínico em garrafas de hemoculturas aumenta a probabilidade de isolamento. Mostra-se sensível a penicilina, ampicilina, eritromicina e outros antimicrobianos.

MORAXELLA

O grupo *Moraxella* inclui seis espécies. Trata-se de microrganismos imóveis, não fermentadores e oxidase-positivos. Quando corados, aparecem como pequenos bacilos gram-negativos, cocobacilos ou cocos. São membros da microbiota normal das vias respiratórias e ocasionalmente provocam bacteriemia, endocardite, conjuntivite, meningite e outras infecções. A maioria mostra-se sensível à penicilina e a outros antimicrobianos.

A *Moraxella catarrhalis* frequentemente produz β -lactamase (Cap. 20).

RESUMO DO CAPÍTULO

- Bactérias gram-negativas, que não são membros da família Enterobacteriaceae, compreendem um grupo de microrganismos diversos, variando desde residentes da microbiota normal humana (como grupo HACEK) até microrganismos ambientais oportunistas (como o *Stenotrophomonas maltophilia*) e patógenos oportunistas (como *Pseudomonas aeruginosa*).
- *P. aeruginosa* é um microrganismo oxidase-negativo, frequentemente pigmentado, bastonete gram-negativo não fermentador da glicose e produtor de diferentes enzimas (tais como elastase) e de outros fatores de virulência importantes em sua patogênese. Esse microrganismo causa uma variedade de manifestações clínicas, desde infecções cutâneas, foliculites em usuários de piscinas e ofurôs, até septicemia e ectima gangrenoso em pacientes neutropênicos.
- Os microrganismos denominados HACEK são frequentemente encontrados na cavidade oral, requerem CO₂ para seu crescimento, não crescem em ágar MacConkey e podem causar endocardite infecciosa em pacientes com lesão valvar preexistente.
- *Acinetobacter* sp. e *Stenotrophomonas maltophilia* são dois microrganismos frequentemente associados a infecções hospitalares extremamente refratárias à antibioticoterapia. Em alguns casos, colistina é o único antibiótico de escolha terapêutica para amostras de *Acinetobacter* multirresistentes.

QUESTÕES DE REVISÃO

1. *Pseudomonas aeruginosa* foi isolado de uma cultura de escarro de um paciente com fibrose cística, formando colônias muito mucoides. Qual das alternativas a seguir corresponde à implicação desta observação?
 - (A) *Pseudomonas aeruginosa* são altamente suscetíveis ao antimicrobiano aminoglicosídico tobramicina
 - (B) Essa cepa de *P. aeruginosa* está infectada com uma piocina (uma bacteriocina)
 - (C) As colônias são mucoides devido à cápsula polissacarídica de ácido hialurônico
 - (D) O gene da exotoxina A foi inativado e a cepa de *P. aeruginosa* não é mais capaz de bloquear a síntese proteica da célula hospedeira
 - (E) A cepa de *P. aeruginosa* formou um biofilme nas vias respiratórias do paciente
2. Um bacilo gram-negativo do ambiente resistente a cefalosporinas, aminoglicosídeos e quinolonas, tornou-se um importante patógeno hospitalar devido à seleção pelo emprego desses antimicrobianos. Tal bacilo gram-negativo pode levar 2 a 3 dias para crescer, devendo ser diferenciado da *Burkholderia cepacia*. Essa bactéria é a(o):
 - (A) *Pseudomonas aeruginosa*
 - (B) *Acinetobacter baumannii*
 - (C) *Alcaligenes xylosoxidans*
 - (D) *Klebsiella pneumoniae*
 - (E) *Stenotrophomonas maltophilia*

3. Este bacilo gram-negativo, oxidase-positivo e não fermentador de carboidratos é frequentemente encontrado em infecções humanas por mordidas:
- Escherichia coli*
 - Neisseria meningitidis*
 - Chromobacterium violaceum*
 - Eikenella corrodens*
 - Proteus mirabilis*
4. Uma adolescente de 17 anos de idade com fibrose cística (FC) teve um ligeiro aumento na frequência da tosse e produção de escarro mucoide. Uma amostra de escarro foi obtida e semeada em meio de cultura de rotina. O crescimento predominante foi de bacilos gram-negativos que formam colônias muito mucoides após 48 horas de incubação. Tais bacilos são oxidase-positivos, crescem a 42°C e apresentam odor de uva. Qual destas alternativas é esse bacilo gram-negativo?
- Klebsiella pneumoniae*
 - Pseudomonas aeruginosa*
 - Staphylococcus aureus*
 - Streptococcus pneumoniae*
 - Burkholderia cepacia*
5. O escarro da paciente de 17 anos de idade com FC (Questão 4) foi também semeado em ágar-manitol hipertônico, que ficou amarelo (com a base rosada) e no qual cresceram colônias brancas com cocos gram-positivos, catalase e coagulase-positivos. Os microrganismos que estão crescendo no ágar-manitol hipertônico são a(o):
- Burkholderia cepacia*
 - Streptococcus pneumoniae*
 - Stenotrophomonas maltophilia*
 - Staphylococcus aureus*
 - Streptococcus pyogenes*
6. O escarro da paciente de 17 anos de idade com FC (Questão 4) também foi semeado em ágar contendo colistina. Após 72 horas de incubação, cresceram bacilos gram-negativos oxidase-positivos, mas que são difíceis de identificar. Esse microrganismo é uma causa de grande preocupação, tendo sido enviado a um laboratório de referência onde métodos moleculares podem ser usados para identificar ou descartar qual dos seguintes microrganismos?
- Pseudomonas aeruginosa*
 - Burkholderia cepacia*
 - Haemophilus influenzae*
 - Pseudomonas putida*
 - Burkholderia pseudomallei*
7. Quando um microrganismo do complexo *Burkholderia cepacia* é isolado de um paciente com fibrose cística (FC), deve-se tomar grande cuidado na identificação do microrganismo. O motivo desse cuidado corresponde à alternativa:
- Burkholderia cepacia* é geralmente suscetível a penicilina G, enquanto outros bacilos gram-negativos similares são resistentes
 - A presença de uma bactéria do complexo *B. cepacia* em um paciente com FC tem grandes implicações para o prognóstico de longo prazo e opções terapêuticas para o paciente
 - Somente *B. cepacia* produz biofilmes
 - O complexo *B. cepacia* produz uma enzima, a esputolisase, que liquefaz o escarro facilitando a limpeza das vias respiratórias do paciente pela tosse
 - Os meios seletivos para *Pseudomonas aeruginosa* normalmente usados para culturas de escarro de pacientes com FC em geral inibem os microrganismos do complexo *B. cepacia*, tornando difícil sua identificação
8. Qual(is) das seguintes afirmativas sobre *Acineobacter* é(são) real(is)?
- Estão disseminadas na natureza e no ambiente hospitalar
 - Geralmente não são patogênicas para indivíduos saudáveis
 - Podem assemelhar-se a cocos gram-positivos
 - Podem mimetizar a morfologia de espécies *Neisseria* na coloração pelo método de Gram de secreções endocervicais no diagnóstico de gonorreia na mulher
 - Podem ser uma causa significativa de pneumonia associada a ventilação mecânica em pacientes de unidades de tratamento intensivo
 - Todas as opções anteriores
9. Um bombeiro de 37 anos de idade inalou fumaça e foi hospitalizado para receber suporte ventilatório. Ele apresentou tosse grave e começou a expectorar escarro purulento. A coloração pelo método de Gram de um esfregaço do escarro mostrou a presença de inúmeras células polimorfonucleares e inúmeras bacilos gram-negativos. A cultura de escarro gerou inúmeras bacilos gram-negativos oxidase-positivos, que cresceram bem a 42°C. As cepas produzem uma coloração verde em ágar. O ágar contendo as colônias verdes fica fluorescente quando exposto a luz ultravioleta. O microrganismo causador da infecção nesse paciente é:
- Pseudomonas aeruginosa*
 - Klebsiella pneumoniae*
 - Escherichia coli*
 - Burkholderia cepacia*
 - Burkholderia pseudomallei*
10. O pigmento produzido pelo microrganismo da Questão 9 é:
- Verde aquamarino
 - Aerobactina
 - Enteroquelina
 - Pioverdina
 - Prodigiosina
11. A *Burkholderia cepacia* é pouco encontrada em:
- Piscinas
 - Solo
 - Tanques de água
 - Plantas
12. Qual das seguintes afirmativas sobre *Pseudomonas aeruginosa* está correta?
- P. aeruginosa* é em geral sensível à penicilina G
 - P. aeruginosa* cresce facilmente em hemoculturas anaeróbias
 - P. aeruginosa* é capaz de penetrar na pele humana intacta pela elaboração de uma enzima invasiva
 - P. aeruginosa* raramente causa pneumonia
 - P. aeruginosa* possui fímbrias que promovem aderência às células epiteliais
13. O mecanismo de ação da exotoxina A da *Pseudomonas aeruginosa* é:
- Ativação da acetilcolina esterase
 - Bloquear o fator 2 de alongamento
 - Formar poros em leucócitos e aumentar a permeabilidade aos cátions
 - Aumentar a adenosina monofosfato intracelular
 - Transformar a lecitina em fosforilcolina e diacilglicerol
14. As bactérias do grupo HACEK às vezes causam endocardites ou outras infecções. Este acrônimo representa qual das seguintes alternativas?
- Cardiobacterium hominis*
 - Eikenella corrodens*

- (C) *Kingella kingae*
 (D) *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (antigamente *Actinobacillus actinomycetemcomitans*)
 (E) *Aggregatibacter aphrophilus* (antigamente *Haemophilus aphrophilus*)
 (F) Todas as opções anteriores
15. Homem de 30 anos de idade, dono de um cachorro, apresentou febre de 39°C, hipotensão e sinais iniciais de coagulação intravascular disseminada. A anamnese revelou uma cicatriz no quadrante esquerdo, lesões em petéquias nos membros inferiores e evidências de escoriações provocadas pelo seu cão nos membros superiores e inferiores. O quadro sugere sepse. O patógeno mais provável é:
- (A) *Neisseria meningitidis*
 (B) *Capnocytophaga canimorsus*
 (C) *Stenotrophomonas maltophilia*
 (D) Espécies de *Alcaligenes*
 (E) Espécies de *Achromobacter*

Respostas

- | | | | |
|------|------|-------|-------|
| 1. E | 5. D | 9. A | 13. B |
| 2. E | 6. B | 10. D | 14. E |
| 3. D | 7. B | 11. A | 15. B |
| 4. B | 8. F | 12. E | |

REFERÊNCIAS

- Henry DA, Speert DP: *Pseudomonas*. In Versalovic J, Carroll KC, Funke G et al. (editors). *Manual of Clinical Microbiology*, 10th ed. ASM Press, 2011.
- LiPuma JJ et al.: *Burkholderia*, *Stenotrophomonas*, *Ralstonia*, *Cupriavidus*, *Pandoraea*, *Brevundimonas*, *Comamonas*, *Delftia*, and *Acidovorax*. In Versalovic J, Carroll KC, Funke G et al. (editors). *Manual of Clinical Microbiology*, 10th ed. ASM Press, 2011.
- Maschmeyer G, Göbel UB: *Stenotrophomonas maltophilia* and *Burkholderia cepacia* complex. In Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (editors). *Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*, 7th ed. Elsevier, 2010.
- Pier GB, Ramphal R: *Pseudomonas aeruginosa*. In Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (editors). *Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*, 7th ed. Elsevier, 2010.
- Vaneechoutte M, Dijkshoorn L, Nemec A et al.: *Acinetobacter*, *Chryseobacterium*, *Moraxella*, and other nonfermentative gram-negative rods. In Versalovic J, Carroll KC, Funke G et al. (editors). *Manual of Clinical Microbiology*, 10th ed. ASM Press, 2011.
- Steinberg JP, Burd EM: Other gram-negative and gram-variable bacilli. In Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (editors). *Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*, 7th ed. Elsevier, 2010.

Vibriões, *Campylobacter*, *Helicobacter* e bactérias associadas

As espécies *Vibrio*, *Aeromonas*, *Plesiomonas*, *Campylobacter* e *Helicobacter* são bacilos gram-negativos amplamente distribuídos na natureza. Os vibriões são encontrados em águas marinhas e superficiais. *Aeromonas* é encontrada predominantemente em águas de rios, lagos e lagoas e, às vezes, em animais de sangue frio. *Plesiomonas* ocorre em animais de sangue frio e de sangue quente. *Campylobacter* é encontrado em inúmeras espécies de animais, inclusive muitos animais domesticados. *Vibrio cholerae* produz uma enterotoxina que causa cólera e diarreia aquosa profusa, que pode levar rapidamente a desidratação e morte. *Campylobacter jejuni* constitui uma causa comum de enterite em seres humanos. Com menor frequência, *Aeromonas* e, raramente, *Plesiomonas* têm sido associadas a doença diarreica em seres humanos. *Helicobacter pylori* é associado a gastrite e úlcera duodenal.

OS VIBRIÕES

Os vibriões estão entre as bactérias mais comuns encontradas em águas superficiais no mundo inteiro. Trata-se de bacilos aeróbios curvos e móveis, dotados de um flagelo polar. O *V. cholerae* dos sorogrupos O1 e O139 provocam cólera em seres humanos, enquanto outros vibriões podem causar sepse ou enterite. Os vibriões de importância clínica estão relacionados no Quadro 17.1.

VIBRIO CHOLERAЕ

A epidemiologia da cólera corresponde estritamente ao reconhecimento da transmissão do *V. cholerae* pela água e ao desenvolvimento de sistemas sanitários de abastecimento de água.

Morfologia e identificação

A. Microrganismos típicos

Ao ser isolado, o *V. cholerae* é um bacilo curvo, em forma de vírgula, de 2 a 4 μm de comprimento (Fig. 17.1). Tem motilidade ativa devido à presença de um flagelo polar. Em culturas prolongadas, os vibriões podem transformar-se em bacilos retos que se assemelham a bactérias gram-negativas entéricas.

B. Cultura

O *V. cholerae* produz colônias convexas, lisas e redondas, opacas e granuladas à luz transmitida. O *V. cholerae* e a maioria

dos outros vibriões crescem bem à temperatura de 37°C em diversos meios de cultura, inclusive meios definidos que contenham sais minerais e asparagina como fontes de carbono e nitrogênio. O *V. cholerae* cresce bem em meio seletivo ágar de **tiossulfato-citrato-bile-sacarose (TCBS)**, produzindo colônias amarelas (fermentador da lactose) de fácil visualização contra o fundo verde-escuro do ágar (Fig. 17.2). Os vibriões são oxidase-positivos, o que os diferencia das bactérias gram-negativas entéricas. Em geral, os vibriões crescem a um pH muito alto (8,5 a 9,5) e são rapidamente destruídos pelo ácido. Por conseguinte, culturas que contenham carboidratos fermentáveis tornam-se logo estéreis.

Em áreas em que a cólera é endêmica, culturas diretas de amostras de fezes em meios seletivos, como o TCBS, e culturas enriquecidas em água peptona alcalina são apropriadas. Todavia, as coproculturas de rotina em meios especiais, como o TCBS, geralmente não se mostram necessárias ou são de custo injustificado em áreas nas quais a cólera é rara.

C. Características de crescimento

O *V. cholerae* fermenta regularmente a sacarose e a manose, mas não a arabinose. A positividade do teste da oxidase constitui uma etapa essencial na identificação preliminar do *V. cholerae* e outros vibriões. As espécies *Vibrio* mostram-se sensíveis ao composto O/129 (fosfato de 2,4-diamino-6,7-diisopropilpteridina), o que as diferencia das espécies de *Aeromonas*, que são resistentes a esse composto. As espécies *Vibrio* são, em sua maioria, halotolerantes, e o NaCl frequentemente estimula o seu crescimento. Alguns vibriões são halofílicos, exigindo a presença de NaCl para seu crescimento. Outra diferença entre vibriões e *Aeromonas* é que os primeiros crescem em meios de cultura que contenham NaCl a 6%, enquanto as *Aeromonas* não crescem.

Estrutura antigênica e classificação biológica

Muitos vibriões compartilham um único antígeno H flagelar termolábil. Os anticorpos dirigidos contra o antígeno H provavelmente não estão envolvidos na proteção dos hospedeiros suscetíveis.

O *V. cholerae* apresenta lipopolissacarídeos O que conferem especificidade sorológica. Existem pelo menos 206 grupos do antígeno O. As cepas do *V. cholerae* dos grupos O1 e O139 causam cólera clássica ocasionalmente, e o *V. cholerae* não O1/não O139 provoca uma doença semelhante à cólera. Os anticorpos

QUADRO 17.1 Vibriões de importância clínica

Organismo BHU	Doença humana
<i>Vibrio cholerae</i> sorogrupos O1 e O139	Cólera epidêmica e pandêmica
<i>Vibrio cholerae</i> sorogrupos não O1/não O139	Diarreias tipo cólera; diarreia moderada; infecção extraintestinal (raramente)
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	Gastreenterites, talvez infecção extraintestinal
Outros <i>Vibrio mimicus</i> , <i>Vibrio vulnificus</i> , <i>Vibrio hollisae</i> , <i>Vibrio fluvialis</i> , <i>Vibrio damsela</i> , <i>Vibrio anginolyticus</i> , <i>Vibrio metschnikovii</i> , <i>Vibrio cincinnatiensis</i>	Orelha, feridas, tecidos moles e outras infecções extraintestinais, todas incomuns

dirigidos contra os antígenos O tendem a proteger animais de laboratório contra infecções por *V. cholerae*.

O *V. cholerae* do sorogrupo O1 apresenta determinantes que possibilitam sua tipagem posteriormente; os principais sorotipos são o Ogawa, Inaba e Hikojima. Dois biotipos do *V. cholerae* epidêmicos foram definidos: clássico e El Tor. O biotipo El Tor produz uma hemolisina, fornece resultados positivos no teste de Voges-Proskauer e mostra-se resistente à polimixina B. Técnicas moleculares também podem ser utilizadas para a tipagem do *V. cholerae*. Utiliza-se a tipagem para estudos epidemiológicos e, em geral, os testes são realizados apenas em laboratórios de referência.

O *V. cholerae* O139 é muito semelhante ao *V. cholerae* O1 do biotipo El Tor. O primeiro não produz o lipopolissacarídeo O1, nem apresenta todos os genes necessários para sintetizar esse antígeno; produz uma cápsula de polissacarídeo como as outras cepas do *V. cholerae* não O1, enquanto o *V. cholerae* O1 não tem cápsula.

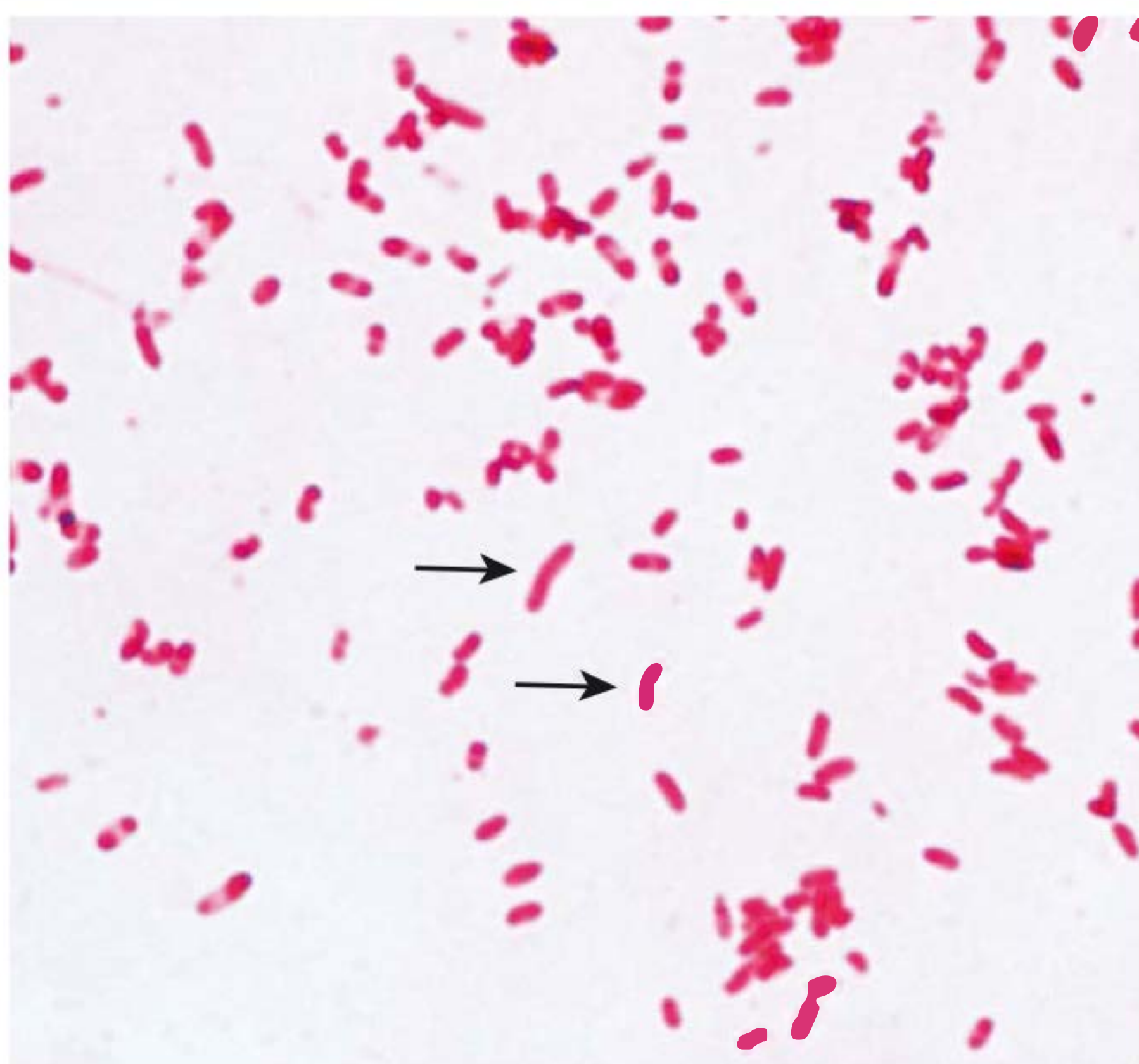


FIGURA 17.1 Coloração pelo método de Gram de *Vibrio cholerae*. Com frequência são em forma de vírgula ou levemente encurvados (setas) e apresentam 1×2 a $4 \mu\text{m}$. Aumento original de 1.000 vezes.

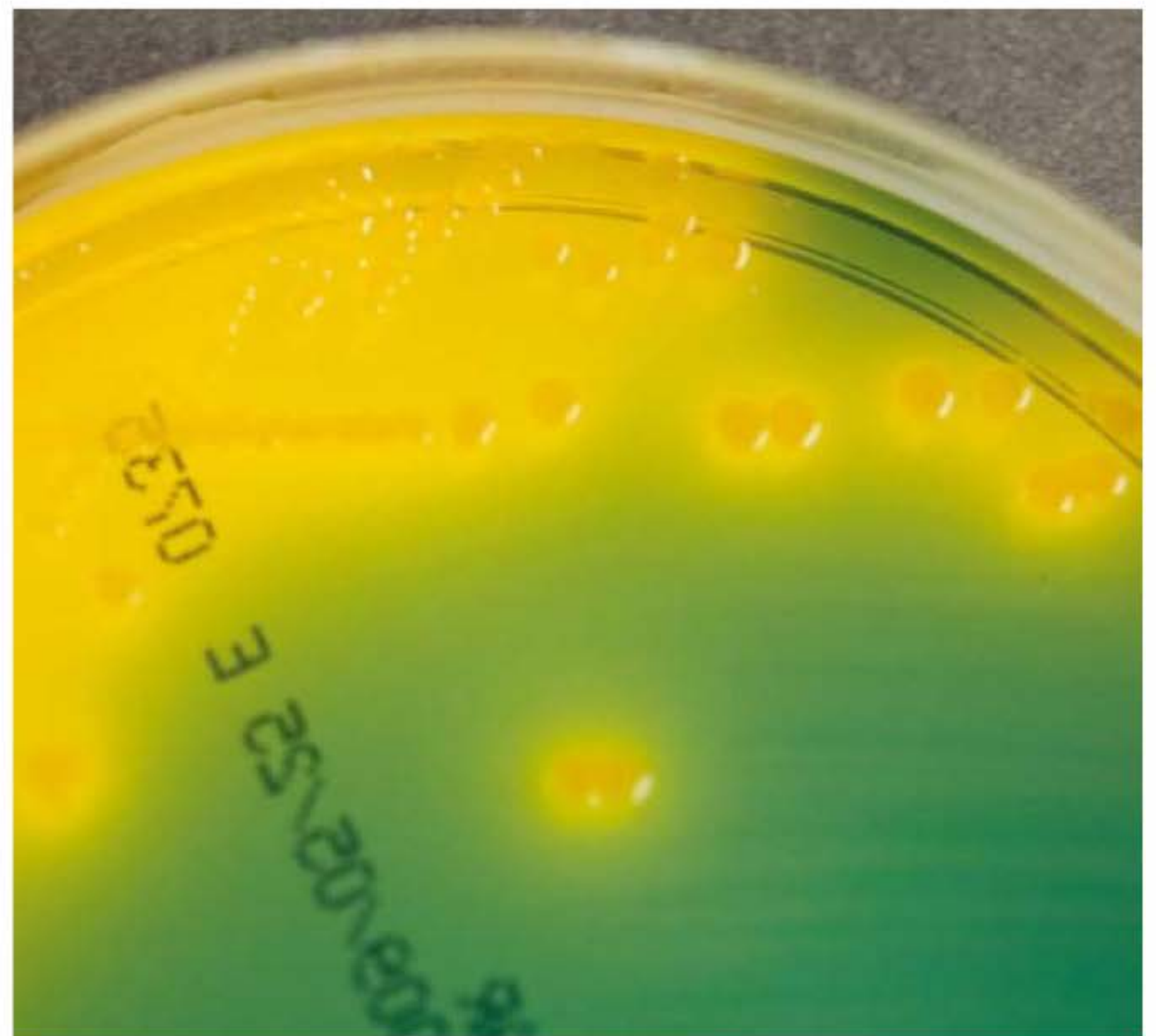


FIGURA 17.2 Colônias de *Vibrio cholerae* crescendo em ágar tiosulfato, citrato, sais biliares e sacarose (TCBS). As colônias amarelo-brilhantes têm 2 a 3mm de diâmetro e são circundadas por um indicador amarelo difuso de até 1 cm de diâmetro em ágar. A placa tem 10 cm de diâmetro.

Enterotoxina do *Vibrio cholerae*

O *V. cholerae* produz uma enterotoxina termolábil com peso molecular de cerca de 84.000, constituída das subunidades A (MM de 28.000) e B (Cap. 9). O gangliosídeo GM_1 atua como receptor da mucosa para a subunidade B, promovendo a entrada da subunidade A no interior da célula. A ativação da subunidade A_1 resulta em níveis mais altos de adenosina monofosfato cíclico (cAMP) intracelular, bem como hipersecreção prolongada de água e eletrólitos. Verifica-se um aumento na secreção de cloreto dependente do sódio e a absorção de sódio e cloreto pelas microvilosidades é inibida. Ocorre diarreia eletrolítica (de até 20 a 30 L/dia) com consequentes desidratação, choque, acidose e morte. Os genes da enterotoxina do *V. cholerae* localizam-se no cromossomo bacteriano. A enterotoxina da cólera está antígenicamente relacionada com a LT da *Escherichia coli*, podendo estimular a produção de anticorpos neutralizantes. Todavia, o exato papel dos anticorpos antitóxicos e antibacterianos na proteção contra a cólera não está bem esclarecido.

Patogênese e patologia

Em condições naturais, o *V. cholerae* só é patogênico para os seres humanos. Em um indivíduo com acidez gástrica normal pode ser necessária a ingestão de 10^{10} ou mais de microrganismos para haver infecção quando o veículo é a água, pois os microrganismos são suscetíveis ao ácido. Quando o veículo é o alimento, são necessários apenas 10^2 a 10^4 microrganismos, devido à capacidade de tamponamento do alimento. Qualquer medicação ou condição passível de diminuir a acidez gástrica torna o indivíduo mais suscetível a infecção por *V. cholerae*.

A cólera não é uma infecção invasiva. Os microrganismos não alcançam a corrente sanguínea, mas permanecem no trato intestinal. O *V. cholerae* fixa-se às microvilosidades da borda em escova das células epiteliais, onde se multiplica e libera a toxina da cólera, bem como talvez mucinases e endotoxina.

Manifestações clínicas

Cerca de 50% das infecções por *V. cholerae* clássico são assintomáticas, assim como cerca de 75% das infecções pelo biotipo El Tor. O período de incubação é de 12 horas a 3 dias para os indivíduos que desenvolvem sintomas, dependendo, em grande parte, do tamanho do inóculo ingerido. Há um início súbito de náuseas, vômitos e diarreia profusa, com cólicas abdominais. As fezes, semelhantes a “água de arroz”, contêm muco, células epiteliais e grande número de vibriões. Ocorre perda rápida de líquido e eletrólitos, resultando em profunda desidratação, colapso circulatório e anúria. A taxa de mortalidade sem tratamento situa-se entre 25 e 50%. O diagnóstico de um caso de cólera totalmente desenvolvido não representa problema na presença de uma epidemia. Entretanto, não é fácil diferenciar casos esporádicos ou leves de outras doenças diarreicas. O biotipo El Tor tende a causar doença mais leve que o biotipo clássico.

Exames diagnósticos laboratoriais

A. Amostras

As amostras para cultura consistem em fragmentos de muco das fezes.

B. Esfregaços

O aspecto microscópico dos esfregaços de amostras de fezes não é característico. A microscopia em campo escuro ou contraste de fase pode revelar a presença de vibriões de grande motilidade.

C. Cultura

O crescimento é rápido em ágar com peptona, ágar-sangue com pH próximo de 9,0 ou ágar-TCBS, e as colônias típicas podem ser repicadas em 18 horas. Para enriquecimento, algumas gotas de fezes podem ser incubadas durante 6 a 8 horas em caldo de taurocolato-peptona (pH de 8,0 a 9,0). Os microrganismos obtidos a partir dessa cultura podem ser corados ou repicados. A identificação dos vibrios, incluindo *V. cholerae*, usando sistemas comerciais e kits comerciais, apresentam grandes variações em relação à acurácia. A espectrometria baseada em MALDI-TOF ainda não está plenamente validada para esse grupo de microrganismos.

D. Exames específicos

O *V. cholerae* pode ser identificado por meio de testes de aglutinação em lâmina com a utilização de anti-O grupo 1 ou antissoro grupo 139, bem como pelos padrões de reações bioquímicas. O diagnóstico de cólera tem sido facilitado pelo uso de imunocromatografia em fita (*lateral flow*).

Imunidade

A acidez gástrica proporciona certa proteção contra os vibriões da cólera.

O surto de cólera é seguido de imunidade contra a reinfeção, porém a duração e o nível da imunidade permanecem desconhecidos. Em animais de laboratório, anticorpos IgA específicos ocorrem no lúmen intestinal. Verifica-se o desenvolvimento de anticorpos semelhantes no soro após a infecção, porém sua permanência é de apenas alguns meses. A presença de anticorpos vibriocidas no soro (título $\geq 1:20$) é associada a proteção do indivíduo contra a colonização e a doença. A existência de anticorpos antitoxina não tem sido associada a proteção.

Tratamento

O aspecto mais importante do tratamento consiste em reposição de água e eletrólitos para corrigir a desidratação grave e a depleção de sal. Diferentes diretrizes, incluindo as da OMS, para reidratação do paciente infectado estão disponíveis e, também, listadas como referência no final deste capítulo. Muitos antimicrobianos mostram-se eficazes contra o *V. cholerae*, porém exercem papel secundário no tratamento do paciente. A tetraciclina oral e a doxiciclina tendem a reduzir o volume de fezes na cólera e diminuírem o período de eliminação dos vibriões. Em algumas áreas endêmicas, constatou-se o aparecimento de resistência do *V. cholerae* à tetraciclina, transportada por plasmídeos transmissíveis. Em crianças e gestantes, alternativas às tetraciclinas incluem eritromicina e furazolidona.

Epidemiologia, prevenção e controle

Ocorreram seis pandemias (epidemias mundiais) de cólera entre 1817 e 1923, causadas mais provavelmente pelo *V. cholerae* O1 do biotipo clássico e originário em grande parte da Ásia, geralmente do subcontinente indiano. A sétima pandemia começou em 1961, nas Ilhas Celebes, Indonésia, com disseminação para Ásia, Oriente Médio e África. Essa pandemia foi causada pelo *V. cholerae* do biotipo El Tor. A partir de 1991, a sétima pandemia alastrou-se até o Peru e, em seguida, para outros países das Américas do Sul e Central. Outros casos também foram observados na África. Milhões de pessoas tiveram cólera nessa pandemia. Alguns consideram a doença causada pelo sorotipo O139 a oitava pandemia, que se iniciou no subcontinente indiano entre 1992 e 1993 e disseminou-se pela Ásia. A doença é rara na América do Norte desde meados dos anos 1800, porém existe um foco endêmico na costa do golfo da Louisiana e no Texas.

A cólera é endêmica na Índia e no Sudeste Asiático. A partir destes centros, é levada por rotas de navios, de comércio e de migração de peregrinos. A doença é transmitida por contato que envolva indivíduos com doença leve ou inicial, bem como pela água, por alimentos e moscas. Em muitos casos, apenas 1 a 5% dos indivíduos suscetíveis expostos desenvolvem a doença. O estado de portador raramente ultrapassa 3 a 4 semanas, e a importância dos portadores na transmissão não é clara. Os vibriões sobrevivem na água por um período de até 3 semanas.

O *V. cholerae* vive em ambientes aquáticos, e tais ambientes são os reservatórios naturais dos vibriões; vive ligado a algas, copépodos e conchas de crustáceos. Pode sobreviver por anos e crescer — mas, quando as condições não são ideais para o crescimento, pode permanecer em estado latente.

O controle baseia-se em educação e melhoria das condições de saneamento, em particular com relação aos alimentos e à água. Os pacientes devem ser isolados, e seus excrementos desinfetados, devendo-se proceder a um acompanhamento dos contatos. A quimioprofilaxia com antimicrobianos pode ter alguma utilidade. A injeção repetida de vacina contendo lipopolissacarídeos extraídos de vibriões ou suspensões densas de *Vibrio* pode conferir proteção limitada a indivíduos intensamente expostos (p. ex., contatos familiares), mas não é eficaz como medida de controle epidêmico.

VIBRIO PARAHAEMOLYTICUS E OUTROS VIBRIÕES

O *Vibrio parahaemolyticus* é uma bactéria halofílica que provoca gastroenterite aguda após a ingestão de frutos do mar contaminados, como peixe cru ou mariscos. Depois de um período de incubação de 12 a 24 horas, ocorrem náuseas e vômitos, cólicas abdominais, febre e diarreia aquosa e sanguinolenta. Com frequência, observam-se leucócitos fecais. A enterite tende a ceder espontaneamente em 1 a 4 dias sem nenhum tratamento, a não ser a restauração do equilíbrio hidreletrolítico. Ainda não foi isolada enterotoxina a partir desse microrganismo. A doença ocorre em todo o mundo, com maior incidência na Ásia e em outras áreas onde as pessoas consomem frutos do mar crus. O *V. parahaemolyticus* não cresce adequadamente em alguns dos meios de cultura diferenciais utilizados para o crescimento de salmonelas e *shigellas*, mas cresce bem em ágar-sangue. Além disso, cresce adequadamente em TCBS, produzindo colônias verdes (não fermenta a sacarose). Em geral, o *V. parahaemolyticus* é identificado pelo seu crescimento oxidase-positivo em ágar-sangue.

O *Vibrio vulnificus* pode causar graves infecções em ferimentos, bacteriemia e provavelmente gastroenterite. Trata-se de uma bactéria de vida livre encontrada em estuários nos EUA, nas costas do Atlântico e do Pacífico e especialmente na costa do Golfo. Têm sido relatadas infecções na Coreia, e o microrganismo pode ter distribuição mundial. O *V. vulnificus* é particularmente encontrado em ostras, sobretudo nos meses quentes. Ocorre bacteriemia sem foco de infecção em pessoas que ingeriram ostras contaminadas e apresentam alcoolismo ou hepatopatia. Feridas podem ficar infectadas em indivíduos normais ou imunocomprometidos que entram em contato com água na qual a bactéria esteja presente. Com frequência, a infecção segue rápida evolução, com o surgimento de doença grave. Cerca de 50% dos pacientes com bacteriemia morrem. As infecções em ferimentos podem ser leves, porém quase sempre evoluem rapidamente (em poucas horas), com o surgimento de lesões cutâneas bolhosas, celulite e miosite com necrose. Diversas das primeiras mortes na Louisiana e no Texas após a passagem do furacão Katrina foram causadas por *Vibrio vulnificus*. Devido à rápida progressão da infecção, costuma ser necessário instituir um tratamento com antibióticos

apropriados antes da confirmação da etiologia por cultura. O diagnóstico é estabelecido pela cultura do microrganismo em meios padronizados; o TCBS constitui o meio preferido para coproculturas, no qual a maioria das cepas produz colônias azul-esverdeadas (sacarose-negativas).

A tetraciclina parece o fármaco de escolha para as infecções causadas pelo *V. vulnificus*; o ciprofloxacino também pode ser eficaz com base na sua atividade *in vitro*.

Vários outros vibriões também causam doenças em seres humanos. O *Vibrio mimicus* provoca diarreia após a ingestão de frutos de mar não cozidos, em particular ostras cruas. O *Vibrio hollisae* e o *Vibrio fluvialis* também causam diarreia. O *Vibrio alginolyticus* provoca infecção dos olhos e das orelhas ou de ferimentos após exposição à água do mar. O *Vibrio damsela* também causa infecções de feridas. Outros vibriões constituem causas muito raras de doença em seres humanos.

Verificação de conceitos

- As espécies de vibriões são halófilas, oxidase-positivas, móveis, bastonetes gram-negativas curvadas e são encontradas no ambiente aquático no mundo inteiro.
- Muitas espécies de vibriões são patógenos humanos, porém *V. cholerae* é a espécie de maior importância global responsável por pandemias de cólera. Embora haja mais de 200 sorotipos de *V. cholerae*, os sorotipos O1 e O139 estão associados à cólera.
- O *V. cholerae* O1 pode ser classificado nos biotipos clássico e em El Tor. O biotipo clássico foi responsabilizado pela maioria das pandemias e provoca a maioria dos casos de infecções sintomáticas. Já o biotipo El Tor foi a causa de pandemias recentes.
- O *V. cholerae* causa uma diarreia aquosa aguda, após ingestão de água ou alimentos contaminados, associada à produção de uma enterotoxina termolábil do tipo AB. A subunidade B se liga ao receptor gangliosídeo GM1 e a subunidade A induz a ativação do AMPc, resultando na secreção de cloreto e bloqueando a reabsorção do sódio pelas microvilosidades.
- O diagnóstico da cólera é realizado por coprocultura em meios seletivos como o TCBS, juntamente o caldo peptonado alcalino. O tratamento envolve reidratação e o uso de tetraciclina e doxiciclina.
- Outras importantes espécies de vibrio incluem o *V. parahaemolyticus*, a principal causa de infecções gastrintestinais por alimentos contaminados na Ásia, e o *V. vulnificus* associado a casos de septicemia em indivíduos com cirrose.

AEROMONAS

A taxonomia do gênero *Aeromonas* está em fase de transição. O gênero foi incluído na nova família Aeromonadaceae a partir da família Vibrionaceae. Com base nos grupos de hibridização do DNA, muitas genoespécies têm sido reconhecidas; algumas são espécies que receberam nova denominação, outras foram recém-designadas, e outras ainda não receberam nome. Os seguintes três grupos são de importância clínica primária nas infecções humanas: complexo *Aeromonas hydrophila*, complexos *Aeromonas caviae* e *Aeromonas veronii* biotipo *sobria*.

As espécies *Aeromonas* são móveis e têm 1 a 4 µm de comprimento. A morfologia das colônias assemelha-se à dos bacilos gram-negativos entéricos (Cap. 15) e produzem grandes zonas de hemólise em ágar-sangue. As espécies *Aeromonas* cultivadas a partir de amostras de fezes crescem rapidamente em meios de cultura diferenciais empregados para cultura de bacilos gram-negativos entéricos, podendo ser facilmente confundidas com bactérias entéricas. As espécies *Aeromonas* são diferenciadas dos bacilos gram-negativos entéricos pela verificação de uma reação oxidase-positiva no crescimento obtido a partir de uma placa de ágar-sangue. As espécies *Aeromonas* são diferenciadas dos vibriões em virtude de sua resistência ao composto O/129 (ver anteriormente) e ausência de crescimento em meios de cultura que contenham NaCl a 6%.

Em geral, as espécies *Aeromonas* produzem hemolisinas. Algumas cepas produzem uma enterotoxina. A presença de citotoxinas e a capacidade de invadir células em cultura de tecidos têm sido notadas, porém nenhuma dessas características foi demonstrada como indubitavelmente associada a doença diarreica em seres humanos. Os postulados de Koch não foram preenchidos, em grande parte devido à ausência de um modelo animal aceitável capaz de reproduzir a diarreia humana associada à *Aeromonas*. Contudo, as gastroenterites causadas principalmente pelo complexo *A. caviae* compreendem desde uma diarreia aquosa aguda à disenteria. As espécies de *Aeromonas* também estão associadas a infecções extraintestinais, como: bacteriemia e infecções de feridas, que ocorrem como resultado de traumas em ambientes aquáticos e são causadas primariamente por *A. hydrophila*.

As cepas da *Aeromonas* são sensíveis às tetraciclinas, aos aminoglicosídeos e às cefalosporinas de terceira geração.

PLESIOMONAS

Plesiomonas shigelloides é um bacilo gram-negativo com flagelos polares e oxidase positivo, realocado recentemente na família Enterobacteriaceae. *Plesiomonas* é mais comum nas regiões tropicais e subtropicais. Constitui um microrganismo da água e do solo, sendo isolada a partir de peixes de água doce e muitos animais. A maioria dos microrganismos isolados a partir de seres humanos foi encontrada em culturas de amostras de fezes de pacientes com diarreia. *Plesiomonas* cresce em meios de cultura diferenciais utilizados para isolar *Salmonella* e *Shigella* de amostras fecais (Cap. 15). Algumas cepas de *Plesiomonas* compartilham antígenos com *Shigella sonnei*, e ocorrem reações cruzadas com o antissoro contra *Shigella*. *Plesiomonas* pode ser distinguida de *shigellas* em fezes diarreicas pelo teste da oxidase: *Plesiomonas* é oxidase-positiva, o que não ocorre com a *Shigella*. *Plesiomonas* é positiva para a DNase, teste que, além de outros bioquímicos, a distingue de *Aeromonas*.

CAMPYLOBACTER

As espécies do gênero *Campylobacter* causam doenças diarreicas e sistêmicas e estão entre as causas mais disseminadas de infecção em todo o mundo. A infecção de animais domesticados por *Campylobacter* também é disseminada. A classificação das bactérias na família Campylobacteriaceae tem mudado

frequentemente. Algumas espécies antes classificadas como *Campylobacter* foram reclassificadas no gênero *Helicobacter*. O gênero *Arcobacter* foi criado. Os microrganismos que provocam doença intestinal ou sistêmica são discutidos nesta seção. O *Helicobacter pylori*, que causa infecção gástrica, será discutido separadamente adiante. *C. jejuni* é o microrganismo protótipo do grupo e uma causa muito comum de diarreia em seres humanos.

CAMPYLOBACTER JEJUNI E CAMPYLOBACTER COLI

C. jejuni e *C. coli* apareceram como patógenos humanos comuns, provocando principalmente enterite e, em alguns casos, infecção sistêmica. *C. jejuni* e *C. coli* causam infecções clinicamente indistinguíveis, e os laboratórios em geral não diferenciam as duas espécies. É provável que 5 a 10% das infecções atribuídas ao *C. jejuni* sejam causadas pelo *C. coli*. Estas bactérias são pelo menos tão comuns quanto as salmonelas e as *shigelas* como causa de diarreia. Nos EUA, estima-se que ocorram 2 milhões de casos anualmente.

Morfologia e identificação

A. Microrganismos típicos

C. jejuni e as outras espécies do mesmo gênero são bacilos gram-negativos em forma de vírgula, de S ou de “asa de gaivota” (Fig. 17.3); são móveis, com um único flagelo polar, e não formam esporos.

B. Cultura

As características de cultura são mais importantes no isolamento e na identificação do *C. jejuni* e das outras espécies do gênero. São necessários meios de cultura seletivos, e a incubação deve ser feita em atmosfera com concentração reduzida de O₂ (5% de O₂), bem como o acréscimo de CO₂ (10% de CO₂). Uma forma relativamente simples de produzir a atmosfera de incubação consiste em colocar as placas em uma jarra de incubação anaeróbia sem o catalisador e produzir o gás com um gerador de gás comercial ou pela troca de gases. A incubação das placas para isolamento do *C. jejuni* deve ser feita a 42°C. Apesar de *C. jejuni* crescer bem a 36 a 37°C, a incubação a 42°C previne o crescimento da maioria das outras bactérias encontradas nas fezes, simplificando a identificação de *C. jejuni*. Vários meios de cultura seletivos são amplamente utilizados. O meio de Skirrow contém vancomicina, polimixina B e trimetoprima para inibir o crescimento de outras bactérias, porém esse meio é menos sensível que outros meios comerciais que contêm carvão e outros compostos inibitórios, além de cefalosporina. Contudo, a presença desse antibiótico inibe o crescimento de *Campylobacter fetus* e várias outras espécies de *Campylobacter*. Os meios seletivos são apropriados ao isolamento do *C. jejuni* a 42°C; quando meios sem antibióticos são incubados a 36 a 37°C, outras espécies de *Campylobacter* podem ser isoladas. As colônias tendem a ser incolores ou acinzentadas; podem ser úmidas e espalhar-se, ou ser redondas e convexas; ambos os tipos de colônia podem aparecer na mesma placa de ágar.

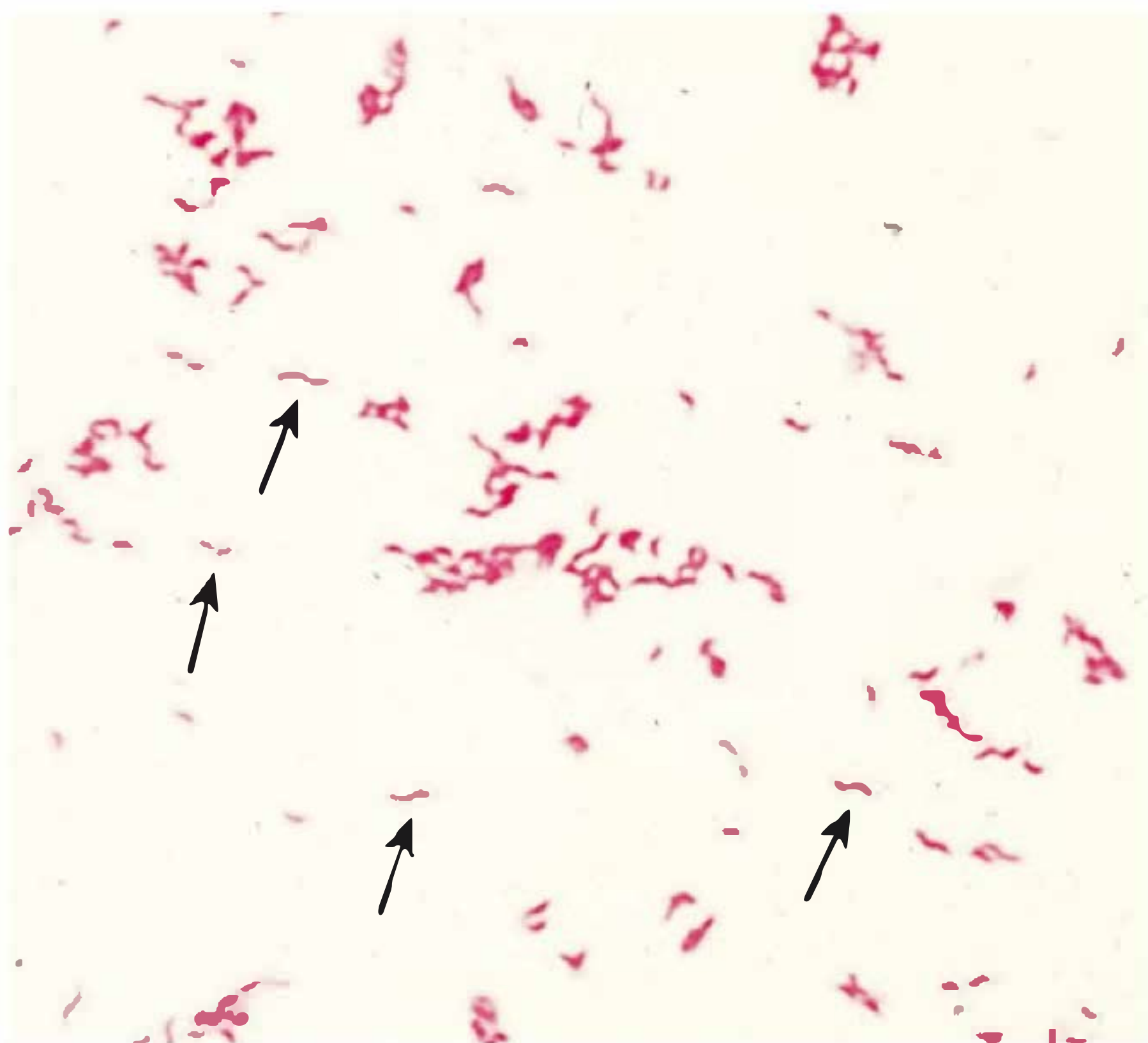


FIGURA 17.3 Coloração pelo método de Gram de *Campylobacter jejuni* mostrando bacilos gram-negativos em forma de “vírgula” ou de “asas de gaivota” (setas). *Campylobacter* cora-se fracamente e pode ser difícil visualizá-lo. Aumento original de 1.000 vezes.

C. Características de crescimento

Devido aos meios de cultura seletivos e às condições de incubação para o crescimento, é necessário um conjunto reduzido de testes para a identificação do microrganismo. O *C. jejuni* e as outras espécies patogênicas do gênero em seres humanos são oxidase e catalase-positivos. As espécies de *Campylobacter* não oxidam nem fermentam os carboidratos. Os esfregaços corados pelo método de Gram revelam uma morfologia típica. Podem ser utilizados testes de redução do nitrato, produção de sulfeto de hidrogênio, do hipurato e sensibilidade a antimicrobianos para posterior identificação das espécies.

Estrutura antigênica e toxinas

As espécies de *Campylobacter* apresentam lipopolissacarídeos com atividade endotóxica. Toxinas extracelulares e enterotoxinas citopáticas foram encontradas, porém o significado das toxinas na doença humana não é bem-definido.

Patogênese e patologia

A infecção é adquirida por via oral a partir de alimentos, bebidas, contato com animais ou produtos de origem animal infectados, especialmente aves de criação. O *C. jejuni* é sensível ao ácido gástrico e geralmente é necessária a ingestão de cerca de 10^4 microrganismos para causar infecção, inóculo semelhante ao que é preciso para a infecção causada por *Salmonella* e *Shigella*, embora menor do que aquele para a infecção por *Vibrio*. Os microrganismos multiplicam-se no intestino delgado, invadem o epitélio e causam inflamação, resultando no aparecimento de eritrócitos e leucócitos nas fezes. Ocasionalmente, a corrente sanguínea é invadida, e desenvolve-se um quadro

clínico de febre entérica. A invasão tecidual localizada, associada à atividade tóxica, parece responsável pela enterite.

Manifestações clínicas

As manifestações clínicas consistem em início agudo de cólica abdominal, diarreia profusa, que pode ser visivelmente sanguinolenta, cefaleia, mal-estar e febre. Em geral, a doença é autolimitada a um período de 5 a 8 dias, mas, às vezes, pode persistir por mais tempo. O *C. jejuni* isolado costuma ser sensível à eritromicina, e o tratamento diminui a duração da eliminação fecal das bactérias. A maioria dos casos resolve-se sem tratamento antimicrobiano, porém cerca de 5 a 10% dos pacientes tratados podem apresentar recidiva. Certos sorotipos de *C. jejuni* estão associados à síndrome de Guillain-Barré, uma forma autoimune de paralisia flácida ascendente. Artrite reativa e síndrome de Reiter também podem ocorrer após diarreia aguda por *Campylobacter*.

Exames diagnósticos laboratoriais

A. Amostras

As fezes diarreicas constituem a amostra habitual. *C. jejuni*, *C. fetus* e outras espécies de *Campylobacter* podem ser isoladas de hemoculturas, normalmente em indivíduos imunossuprimidos e em idosos. Infecções extraintestinais são desconhecidas.

B. Esfregaços

Os esfregaços de fezes corados pelo método de Gram podem revelar os bacilos típicos em forma de “asa de gaivota”. A microscopia em campo escuro ou com contraste de fase pode mostrar a motilidade típica desses microrganismos.

C. Cultura

A cultura nos meios seletivos descritos anteriormente constitui o teste definitivo para o diagnóstico de enterite por *C. jejuni*. Se houver suspeita de outra espécie de *Campylobacter*, deverá ser utilizado um meio de cultura sem cefalosporina, com incubação a 36 a 37°C.

Epidemiologia e controle

A enterite por *Campylobacter* assemelha-se a outras diarreias bacterianas agudas, particularmente a disenteria por *shigella*. A fonte de infecção pode ser constituída por alimentos (p. ex., leite, aves inadequadamente cozidas) ou contato com animais ou com seres humanos infectados e seus excrementos. Os surtos que se originam de uma fonte comum (p. ex., leite não pasteurizado) podem exigir medidas de controle de saúde pública.

CAMPYLOBACTER FETUS

C. fetus apresenta duas subespécies, *fetus* e *venerealis*. *C. fetus* é um patógeno oportunista que provoca infecções sistêmicas em pacientes imunocomprometidos e pode, ocasionalmente, causar diarreia. O trato gastrintestinal pode ser a porta de entrada

quando *C. fetus* provoca bacteriemia e infecção sistêmica. *C. fetus* possui várias proteínas de superfície (proteína S, MM de 100.000 a 149.000), que formam uma estrutura semelhante a uma cápsula sobre a superfície do microrganismo (em comparação com as cápsulas de polissacarídeos de patógenos como *Neisseria meningitidis* e *Streptococcus pneumoniae*). Em um modelo murino de infecção por *C. fetus*, a presença da proteína S como cápsula de superfície esteve relacionada com a capacidade da bactéria de causar bacteriemia após desafio oral e morte em elevada porcentagem de animais. *C. fetus* subespécie *venerealis* é um patógeno humano raro.

OUTRAS ESPÉCIES DE CAMPYLOBACTER

Raramente são encontradas outras espécies de *Campylobacter* além de *C. jejuni*, o que se deve, em parte, aos métodos padronizados utilizados para isolamento de espécies de *Campylobacter* a partir de amostras de fezes: incubação a 42°C e uso de meio de cultura contendo cefalosporina. O *Campylobacter lari* é frequentemente encontrado em gaivotas e às vezes causa diarreia em seres humanos. O *Campylobacter upsaliensis* de cães às vezes causa diarreia em seres humanos. O *Helicobacter fennelliae* e o *Helicobacter cinaedi* podem causar doença diarreica ou extraintestinal. As espécies *Arcobacter* são patógenos entéricos incomuns.

HELICOBACTER PYLORI

Helicobacter pylori é um bacilo gram-negativo espiralado, associado à gastrite antral, úlcera duodenal (péptica), úlceras gástricas, adenocarcinoma gástrico e linfomas do tecido linfóide associado à mucosa (*mucosa-associated lymphoid tissue* [MALT]). Existem outras espécies de *Helicobacter* que infectam a mucosa gástrica, mas são raras.

Morfologia e identificação

A. Microrganismos típicos

H. pylori apresenta muitas características em comum com espécies *Campylobacter*. Tem inúmeros flagelos em um dos polos e exibe motilidade ativa.

B. Cultura

A sensibilidade da cultura pode ser limitada por tratamento anterior, contaminação com outras bactérias da mucosa e outros fatores. *H. pylori* cresce em 3 a 6 dias quando incubado a 37°C em ambiente microaerofílico, como para o *C. jejuni*. Os meios de cultura para isolamento primário são o meio de Skirrow com vancomicina, polimixina B e trimetoprima, o meio de ágar-chocolate, e outros meios seletivos com antibióticos (p. ex., vancomicina, ácido nalidíxico e anfotericina). As colônias são translúcidas, com 1 a 2 mm de diâmetro.

C. Características de crescimento

H. pylori é oxidase e catalase-positivo. Apresenta morfologia típica e motilidade, e é um intenso produtor de urease.

Patogênese e patologia

H. pylori exibe crescimento ótimo a pH de 6,0 a 7,0 e não cresce ou seria destruído pelo pH gástrico. O muco gástrico é relativamente impermeável ao ácido e tem forte capacidade de tamponamento. No lado luminal do muco, o pH é baixo (1,0 a 2,0), ao passo que, no lado epitelial, o pH é de cerca de 7,4. *H. pylori* é encontrado profundamente na camada mucosa, próximo à superfície epitelial, onde o pH fisiológico está presente. *H. pylori* também produz uma protease que modifica o muco gástrico e reduz posteriormente a capacidade do ácido de sofrer difusão através do muco. *H. pylori* tem potente atividade de urease, resultando em produção de amônia e maior tamponamento do ácido; movimenta-se muito, mesmo no muco, e tem a capacidade de atingir a superfície epitelial; reveste as células epiteliais gástricas, mas não as intestinais.

Em voluntários humanos, a ingestão de *H. pylori* resultou no desenvolvimento de gastrite e hipocloridria. Existe forte associação entre a presença de infecção por *H. pylori* e o desenvolvimento de ulceração duodenal. A terapia antimicrobiana resulta em eliminação de *H. pylori* e melhora da gastrite e da úlcera duodenal.

Os mecanismos pelos quais *H. pylori* provoca inflamação e lesão da mucosa não estão bem-definidos, mas é provável que envolvam fatores tanto bacterianos quanto do hospedeiro. As bactérias invadem a superfície das células epiteliais em grau limitado. As toxinas e o lipopolissacarídeo podem lesionar as células da mucosa, e a amônia produzida em decorrência da atividade da urease também pode causar lesão direta das células.

Do ponto de vista histológico, a gastrite caracteriza-se por inflamação aguda e crônica. Infiltrados de células polimorfonucleares e mononucleares são observados no interior do epitélio e na lâmina própria. Com frequência, os vacúolos existentes no interior das células são pronunciados. É comum haver a destruição do epitélio, e pode ocorrer atrofia glandular. Por conseguinte, *H. pylori* pode constituir um importante fator de risco para o desenvolvimento de câncer gástrico.

Manifestações clínicas

A infecção aguda pode resultar em doença gastrointestinal superior com náuseas e dor; além disso, também podem ocorrer vômitos e febre. Os sintomas agudos podem durar menos de 1 semana ou perdurar por até 2 semanas. Após colonização, a infecção por *H. pylori* persiste durante anos e talvez décadas ou mesmo por toda a vida. Cerca de 90% dos pacientes com úlceras duodenais e 50 a 80% daqueles com úlceras gástricas apresentam infecção por *H. pylori*. Recentes estudos confirmam que o *H. pylori* também pode desempenhar um papel no carcinoma gástrico e no linfoma.

Exames diagnósticos laboratoriais

A. Amostras

Amostras de biópsia gástrica podem ser usadas para exame histológico ou fragmentadas em solução salina e usadas para cultura. Amostras de sangue são coletadas para a determinação dos anticorpos séricos. Amostras de fezes podem ser utilizadas para detecção de antígenos de *H. pylori*.

B. Esfregaços

O diagnóstico de gastrite e infecção por *H. pylori* pode ser feito histologicamente. É necessário proceder a gastroscopia com biópsia. As colorações de rotina revelam a presença de gastrite, enquanto o método de Giemsa ou os corantes especiais de prata podem mostrar os microrganismos curvos ou espiralados.

C. Cultura

Conforme foi descrito anteriormente, culturas são realizadas quando pacientes não respondem ao tratamento, sendo também necessária a realização de teste de sensibilidade aos antimicrobianos (TSA).

D. Anticorpos

Vários ensaios foram desenvolvidos para a detecção de anticorpos séricos específicos contra *H. pylori*. Os anticorpos séricos persistem mesmo após a erradicação da infecção por *H. pylori*, de modo que o papel dos testes de anticorpos no diagnóstico da infecção ativa ou após tratamento é limitado.

E. Testes especiais

Testes rápidos para a detecção da atividade de urease são amplamente utilizados para identificação presuntiva do *H. pylori* nas amostras. O material de biópsia gástrica pode ser colocado em meio que contenha ureia com indicador colorimétrico. Na presença de *H. pylori*, a urease cliva rapidamente a ureia (1 a 2 horas), e o conseqüente deslocamento do pH resulta em mudança de cor do meio. Além disso, podem ser feitos testes *in vivo* para a atividade da urease. No teste respiratório com ureia marcada, ^{13}C ou ^{14}C é ingerida pelo paciente. Na presença de *H. pylori*, a atividade da urease produz CO_2 marcado, que pode ser detectado no ar exalado pelo paciente.

A detecção do antígeno de *H. pylori* em amostras de fezes é apropriada como teste de cura para os pacientes sabidamente infectados por *H. pylori* que receberam tratamento.

Imunidade

Os pacientes infectados por *H. pylori* desenvolvem anticorpos IgM contra a infecção. Posteriormente, verifica-se a produção de IgG e IgA, que persistem em altos títulos, tanto sistemicamente quanto na mucosa, nos pacientes com infecção crônica. O tratamento antimicrobiano precoce da infecção por *H. pylori* atenua a resposta humoral; acredita-se que tais pacientes sejam suscetíveis a infecções repetidas.

Tratamento

A terapia triplíce com metronidazol e subsalicilato de bismuto ou subcitrato de bismuto mais amoxicilina ou tetraciclina durante 14 dias erradica a infecção por *H. pylori* em 70 a 95% dos pacientes. A administração de um agente supressor de ácido durante 4 a 6 semanas acelera a cicatrização da úlcera. Os inibidores da bomba de prótons (IBPs) inibem diretamente o *H. pylori* e parecem constituir inibidores potentes da urease. O tratamento inicial preconizado é de 7 a 10 dias pela administração de um IBP, ou um tratamento quádruplo com IBP, metronidazol, tetraciclina e sais de bismuto por 10 dias.

Epidemiologia e controle

H. pylori é encontrado na mucosa gástrica de menos de 20% dos indivíduos com menos de 30 anos, mas sua prevalência aumenta para 40 a 60% dos indivíduos de 60 anos de idade, inclusive pessoas assintomáticas. Nos países em desenvolvimento, a prevalência da infecção pode atingir 80% ou mais em adultos. É provável que ocorra a transmissão de *H. pylori* de uma pessoa para outra devido à agregação intrafamiliar da infecção. A ocorrência de epidemias agudas de gastrite sugere uma fonte comum de *H. pylori*.

Verificação de conceitos

- As espécies de *Aeromonas* e *Plesiomonas* são oxidase-positivo e bastonetes gram-positivos, ao contrário das espécies de *Vibrio*, são isolados de água potável e do solo. Ambos os gêneros estão associados à diarreia e com menos frequência a uma variedade de infecções extraintestinais. Eles crescem em meios laboratoriais comuns, porém não no meio TCBS e são inibidos na presença de cloreto de sódio.
- As espécies de *Campylobacter* são oxidase-positivo e bacilos gram-negativos em forma de “vírgula”, de “S” ou de “asa de gaviota”. *C. jejuni* é o principal patógeno do gênero associado primariamente à diarreia febril que pode ser sanguinolenta. Alimentos contaminados, principalmente aves, são os principais veículos de infecção.
- *Campylobacter jejuni* e outras espécies de *Campylobacter* crescem bem a 42° C em ambiente de microaerofilia de 5% de oxigênio e 10% de CO_2 . Meios seletivos que contêm antibióticos são geralmente usados no isolamento desse microrganismo, nas fezes.
- *C. fetus* não é um microrganismo termófilo e é primariamente isolado de sangue e outros sítios extraintestinais de indivíduos imunossuprimidos.
- As espécies de *Helicobacter* são patógenos curvos ou espiralados. *H. pylori* está associado a doenças gastrintestinais superiores, como: gastrite, úlcera duodenal, adenocarcinoma gástrico e linfoma do MALT. Esse microrganismo é urease positivo, o que o protege da acidez gástrica. O diagnóstico é realizado por diferentes métodos, como: biópsia, teste respiratório com ureia marcada e pesquisa de antígenos nas fezes. O esquema de tratamento triplo ou quádruplo que inclui IBPs é necessário para o sucesso do tratamento.

QUESTÕES DE REVISÃO

1. O estado de portador persistente tem maior probabilidade de ocorrer após infecção gastrintestinal com qual das seguintes espécies?
 - (A) *Escherichia coli* O157:H7
 - (B) *Shigella dysenteriae*
 - (C) *Vibrio cholerae*
 - (D) *Campylobacter jejuni*
 - (E) *Salmonella typhi*
2. Um homem de 63 anos de idade foi ao seu restaurante favorito, especializado em ostras, em uma pequena cidade no leste da costa do golfo do Texas, e comeu duas dúzias de ostras. Dois dias depois,

- foi admitido em um hospital devido ao aparecimento abrupto de febre, calafrios e tontura ao levantar-se (na enfermaria, a pressão arterial estava em 60/40 mmHg). Enquanto estava na enfermaria, ele desenvolveu lesões eritematosas na pele, que evoluíram rapidamente para bolhas hemorrágicas, formando então úlceras. Esse homem bebia seis latas de cerveja e meia garrafa de uísque por dia. O microrganismo mais preocupante para esse paciente é:
- (A) *Vibrio vulnificus*
 (B) *Escherichia coli*
 (C) *Salmonella typhi*
 (D) *Clostridium perfringens*
 (E) *Streptococcus pyogenes* (estreptococos do grupo A)
3. Um garoto de 10 anos de idade estava brincando em um riacho quando cortou o pé em um objeto pontiagudo. Três dias depois, foi levado a uma enfermaria de emergência com dor e inchaço no local da ferida, que apresentava pus quando foi drenada. A causa mais provável dessa infecção é:
- (A) *Vibrio vulnificus*
 (B) *Escherichia coli*
 (C) *Aeromonas hydrophila*
 (D) *Proteus mirabilis*
 (E) *Salmonella typhimurium*
4. Uma família de quatro pessoas fez uma refeição que incluía carne de frango malpassada. Nos três dias seguintes, três membros desenvolveram um quadro caracterizado por febre, cefaleia, mialgia e mal-estar. Dois pacientes tiveram diarreia e dores abdominais simultaneamente. Uma terceira pessoa desenvolveu diarreia após os sintomas sistêmicos terem desaparecido. Na cultura de fezes, cresceu *Campylobacter jejuni*. Para isolar esta bactéria, qual das seguintes condições de cultivo é mais provável de ter sido usada?
- (A) Meio de tiosulfato-citrato-bile e sacarose, incubado a 37°C em 5% de oxigênio e 10% de CO₂
 (B) Meio seletivo de *Salmonella-Shigella* incubado a 37°C em ar ambiente
 (C) Ágar de MacConkey e ágar entérico de Hektoen incubados a 42°C em 5% de oxigênio e 10% de CO₂
 (D) Ágar-sangue a 5% incubado a 37°C em ar ambiente
 (E) Um meio contendo vancomicina, polimixina B e trimetoprima incubado a 42°C em 5% de oxigênio e 10% de CO₂
5. Bacteriemia associada a infecção gastrintestinal tem maior probabilidade de ocorrer com qual dos seguintes patógenos?
- (A) *Salmonella typhi*
 (B) *Vibrio cholerae*
 (C) *Shigella boydii*
 (D) *Vibrio parahaemolyticus*
 (E) *Campylobacter jejuni*
6. Durante os anos em que ocorreu o fenômeno do El Niño, na década de 1990, as águas do Puget Sound, entre o Estado de Washington e a Colúmbia Britânica, sofreram um considerável aquecimento. Durante esse período, muitas pessoas que comeram ostras e moluscos dessas águas ficaram doentes, apresentando diarreia explosiva e cólicas abdominais moderadamente graves. A diarreia normalmente era aquosa, mas em alguns pacientes apresentava-se sanguinolenta. Geralmente a diarreia tinha início 24 horas após a ingestão de frutos do mar. As culturas de fezes apresentavam bacilos gram-negativos patogênicos típicos. O microrganismo preocupante desse grupo é:
- (A) *Escherichia coli* enterotoxigênica
 (B) *Vibrio cholerae*
 (C) *Escherichia coli* entero-hemorrágica
 (D) *Vibrio parahaemolyticus*
 (E) *Shigella dysenteriae*
7. Um paciente atendido em uma enfermaria de emergência apresentava diarreia sem sangue havia 12 horas. O paciente mora na cidade de Washington, DC, e não viajou para fora da cidade recentemente. Qual das seguintes alternativas é *improvável* de ser o agente causador de diarreia nesse paciente?
- (A) *Salmonella typhimurium*
 (B) *Campylobacter jejuni*
 (C) *Shigella sonnei*
 (D) *Vibrio cholerae*
8. Uma mulher de 18 anos moradora na área rural de Bangladesh desenvolve diarreia profusa (8 L/dia). Ela não apresenta sintomas além da diarreia e manifestações clínicas decorrentes da perda de líquidos e eletrólitos causadas pela diarreia. O mais provável causador da diarreia é:
- (A) *Campylobacter jejuni*
 (B) *Escherichia coli* enterotoxigênica
 (C) *Salmonella typhimurium*
 (D) *Vibrio cholerae*
 (E) *Shigella dysenteriae*
9. A idade e a geografia são os principais fatores na prevalência de colonização por *Helicobacter pylori*. Em países em desenvolvimento, a prevalência de colonização pode ser maior que 80% em adultos. Nos EUA, a prevalência de colonização com este microrganismo em adultos de mais de 60 anos de idade é de:
- (A) 1 a 2%
 (B) 5 a 10%
 (C) 15 a 20%
 (D) 40 a 60%
 (E) 80 a 95%
10. Um homem de 59 anos de idade chega à sala de emergência no período da tarde por causa de inflamação aguda e dor na perna direita. Naquela manhã, ele trabalhara em um pequeno barco de pesca desportiva em um estuário na costa do Golfo do Texas. Enquanto caminhava ao redor do barco em águas rasas, ele coçou a perna, rompendo a pele no local que agora apresenta dor e inchaço. Ele não estava usando botas. Cerca de 1 hora após a lesão, o arranhão tornou-se vermelho e doloroso. Desenvolveu-se um inchaço no local. Em 3 horas, a perna inchou consideravelmente abaixo do joelho. A pele mostrava-se vermelha e edemaciada. Houve drenagem serosa da ferida, que sofreu ulceração e agora estava aumentada. Perto da ferida formaram-se bolhas, a maior com aproximadamente 2,5 cm de diâmetro. A causa mais provável dessa emergência médica é:
- (A) *Staphylococcus aureus*
 (B) *Streptococcus pyogenes*
 (C) *Clostridium perfringens*
 (D) *Escherichia coli*
 (E) *Vibrio vulnificus*
11. O fator do *Vibrio cholerae* responsável pela diarreia é uma toxina que:
- (A) Bloqueia EF-2
 (B) Produz um aumento dos níveis intracelulares de cAMP
 (C) Cliva SNARE
 (D) Bloqueia a ligação do EF-1 dependente ao aminoacil RNAt dos ribossomos
 (E) Cliva VAMP

12. Em setembro de 1854, ocorreu uma grave epidemia de cólera na área do Soho/Golden Square, em Londres. O Dr. John Snow, pai da epidemiologia, estudou a epidemia e ajudou a detê-la por qual das seguintes ações?
- (A) Banimento a venda de maçãs nos mercados locais
 (B) Remoção do manuseio da bomba de água da Broad Street
 (C) Proibição da venda de peixe importado da Normandia
 (D) Pasteurização do leite
13. Um homem de 45 anos de idade desenvolve uma úlcera que pode ser visualizada mediante raios X com um meio de contraste de fase do seu estômago. Uma amostra para biópsia é coletada da mucosa gástrica no local da úlcera. Um diagnóstico presuntivo pode ser obtido mais rapidamente, inoculando-se parte da amostra em:
- (A) Meio usado para detectar urease incubado a 37°C
 (B) Meio que contenha vancomicina, polimixina B e trimetoprima incubado a 42°C
 (C) Meio de ágar-MacConkey incubado a 37°C
 (D) Meio de tiossulfato-citrato-bile-sacarose incubado a 42°C
 (E) Meio de ágar-sangue incubado a 37°C
14. Qual das seguintes alternativas é útil na diferenciação entre espécies *Vibrio* e espécies *Aeromonas*?
- (A) Crescimento ou não crescimento em meio que contenha NaCl
 (B) Presença ou não de endotoxina na parede celular
 (C) Produção ou não de enterotoxina termolábil
 (D) Teste de invasão de enterócitos positivo ou negativo
15. Nos EUA, os órgãos oficiais de saúde pública frequentemente alertam a população para cozinhar bem a carne de frango adquirida em supermercados e açougues. Qual a porcentagem de frangos obtidos dessas fontes que provavelmente está contaminada com *Campylobacter jejuni*?
- (A) 1 a 5%
 (B) 6 a 15%
 (C) 15 a 30%
 (D) 30 a 50%
 (E) maior que 50%

Respostas

- | | | | |
|------|------|-------|-------|
| 1. E | 5. A | 9. D | 13. A |
| 2. A | 6. D | 10. E | 14. A |
| 3. C | 7. D | 11. B | 15. E |
| 4. E | 8. D | 12. B | |

REFERÊNCIAS

- Abbott SL, Janda JM, Johnson JA Farmer JJ III: *Vibrio*. In Versalovic J, Carroll KC, Funke G. et al. (editors). *Manual of Clinical Microbiology*, 10th ed. ASM Press, 2011.
- Allos BM, Blaser MJ: *Campylobacter jejuni* and related species. In Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (editors). *Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*, 7th ed. Elsevier, 2010.
- Blaser MJ: *Helicobacter pylori* and other gastric *Helicobacter* species. In Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (editors). *Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*, 7th ed. Elsevier, 2010.
- Fitzgerald C, Nachamkin I: *Campylobacter* and *Arcobacter*. In Versalovic J, Carroll KC, Funke G et al. (editors). *Manual of Clinical Microbiology*, 10th ed. ASM Press, 2011.
- Lawson AJ: *Helicobacter*. In Versalovic J, Carroll KC, Funke G et al. (editors). *Manual of Clinical Microbiology*, 10th ed. ASM Press, 2011.
- Horneman AJ, Ali A: *Aeromonas*. In Versalovic J, Carroll KC, Funke cG et al. (editors). *Manual of Clinical Microbiology*, 10th ed. ASM Press, 2011.
- Neill MA, Carpenter CCJ: Other pathogenic vibrios. In Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (editors). *Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*, 7th ed. Elsevier, 2010.
- Seas C, DuPont HL, Valdez LM, Gotuzzo E: Practical guidelines for the treatment of cholera. *Drugs* 1996;51:966–973.
- Seas C, Gotuzzo E: *Vibrio cholerae*. In Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (editors). *Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*, 7th ed. Elsevier, 2010.
- Steinberg JP, Burd EM: Other gram-negative and gram-variable bacilli. In Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (editors). *Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*, 7th ed. Elsevier, 2010.
- Wang XY, Ansaruzzaman M, Vaz R et al.: Field evaluation of a rapid immunochromatographic dipstick test for the diagnosis of cholera in a high-risk population. *BMC Infect Dis* 2006;6:17.
- World Health Organization: *Guidelines for Cholera Control*. Geneva: World Health Organization, 1992.

Haemophilus, Bordetella, Brucella e Francisella

ESPÉCIES HAEMOPHILUS

Trata-se de um grupo de pequenas bactérias gram-negativas, pleomórficas, cujo isolamento exige meios de cultura enriquecidos, que contenham geralmente sangue ou hemoderivados. O *Haemophilus influenzae* tipo b é um importante patógeno humano; o *Haemophilus ducreyi*, um patógeno sexualmente transmissível, provoca o cancroide; outras espécies de *Haemophilus* fazem parte da microbiota normal das mucosas e ocasionalmente causam doenças. *Haemophilus aphrophilus* e *Haemophilus paraphrophilus* agora são uma única espécie denominada de *Aggregatibacter aphrophilus*, do mesmo modo que *Haemophilus segnis* é agora membro do gênero *Aggregatibacter* (Quadro 18.1).

HAEMOPHILUS INFLUENZAE

É encontrado nas mucosas das vias respiratórias superiores dos seres humanos. Trata-se de uma causa importante de meningite em crianças e, em certas ocasiões, provoca infecções das vias respiratórias inferior e superior tanto em crianças quanto em adultos.

Morfologia e identificação

A. Microrganismos típicos

Em amostras coletadas de pacientes com infecções agudas, os microrganismos consistem em bacilos cocoides curtos (1,5 µm), que às vezes ocorrem em pares ou cadeias curtas. Nas culturas, a morfologia depende tanto da duração da incubação quanto do meio de cultura. Depois de 6 a 8 horas em meio enriquecido, predominam as formas cocobacilares pequenas. Posteriormente, são observados bastonetes mais longos, bactérias lisadas e formas muito pleomórficas.

Os microrganismos que crescem em culturas jovens (6 a 18 h), em meio enriquecido, apresentam uma cápsula bem-definida. Essa cápsula é o antígeno usado para a “tipagem” do *H. influenzae* (ver adiante).

B. Cultura

Em ágar-chocolate, colônias chatas, marrom-acinzentadas, com diâmetro de 1 a 2 mm, estão presentes após 24 horas de incubação. O IsoVitaleX em meios de cultura intensifica o

crescimento. *H. influenzae* não cresce em ágar-sangue de carneiro, exceto em torno de colônias de estafilococos (fenômeno conhecido como “satelitismo”). *Haemophilus haemolyticus* e *Haemophilus parahaemolyticus* são variantes hemolíticas de *H. influenzae* e de *H. parainfluenzae*, respectivamente.

C. Características de crescimento

A identificação de microrganismos do grupo *Haemophilus* depende, em parte, da demonstração da necessidade de certos fatores de crescimento denominados X e V. O fator X atua fisiologicamente como hemina; o fator V pode ser substituído pelo dinucleotídeo adenina nicotinamida (NAD) ou por outras coenzimas. Colônias de estafilococos em ágar-sangue de carneiro causam a liberação do NAD, produzindo o fenômeno de crescimento satélite. No Quadro 18.1 estão assinaladas as necessidades de fatores X e V por parte de várias espécies *Haemophilus*. A fermentação dos carboidratos é deficiente e irregular. Além da sorotipagem baseada no antígeno polissacarídico capsular (ver adiante), *H. influenzae* e *H. parainfluenzae* podem ser biotipados por características bioquímicas, como, por exemplo, produção de indol, descarboxilação da ornitina e produção da urease. A maioria das infecções invasivas causadas por *H. influenzae* pertencem aos biotipos I e II (há um total de oito).

D. Variação

Além da variação morfológica, o *H. influenzae* exibe acentuada tendência a perder sua cápsula e especificidade associada ao tipo. As colônias de variantes não encapsuladas não apresentam iridescência.

E. Transformação

Em circunstâncias experimentais apropriadas, o DNA extraído de determinado tipo de *H. influenzae* é capaz de transferir a especificidade do tipo para outras células (transformação). A resistência à ampicilina e ao cloranfenicol é controlada por genes situados em plasmídeos transmissíveis.

Estrutura antigênica

O *H. influenzae* encapsulado contém **polissacarídeos capsulares** (massa molecular > 150.000) de um de 6 tipos (a a f). O antígeno capsular tipo b é uma polirribosil-ribitol-fosfato

QUADRO 18.1 Características e necessidades de crescimento das espécies *Haemophilus* de importância médica

Espécies	Necessitam		
	X	V	Hemólise
<i>Haemophilus influenzae</i> (<i>H. aegyptius</i>)	+	+	-
<i>Haemophilus parainfluenzae</i>	-	+	-
<i>Haemophilus ducreyi</i>	+	-	-
<i>Haemophilus haemolyticus</i>	+	+	+
<i>Aggregatibacter aphrophilus</i> ^a	-	+/-	-
<i>Haemophilus paraphrohaemolyticus</i>	-	+	+
<i>Aggregatibacter segnis</i> ^b	-	+	-

^aAnteriormente *Haemophilus aphrophilus* e *Haememophilus paraphrophilus*.

^bAnteriormente *Haemophilus segnis*

X, heme; V, nicotinamida-adenina dinucleotídeo.

(*polyribosylribitol phosphate* [PRP]). O *H. influenzae* encapsulado pode ser tipado por aglutinação em lâmina, coagulação com estafilococos ou com partículas de látex revestidas com anticorpos específicos do tipo. O teste de intumescimento capsular com antissoro específico é análogo ao teste de Quellung para pneumococos. Pode-se efetuar uma tipagem comparável por imunofluorescência. A maioria dos *H. influenzae* na microbiota normal das vias respiratórias superiores não é encapsulada.

Os antígenos somáticos do *H. influenzae* consistem em proteínas da membrana externa. Os lipo-oligosacarídeos (endotoxinas) compartilham muitas estruturas com os das neissérias.

Patogênese

H. influenzae não produz exotoxinas. O microrganismo não encapsulado é um membro regular da microbiota respiratória normal dos seres humanos. A cápsula é antifagocítica na ausência de anticorpos anticapsulares específicos. A cápsula de polirribosil-ribitol-fosfato do *H. influenzae* tipo b constitui o principal fator de virulência.

A incidência do estado de portador do *H. influenzae* tipo b nas vias respiratórias superiores era de 2 a 4% antes da implementação das vacinas conjugadas, sendo hoje menos de 1%. A incidência do estado de portador do *H. influenzae* não tipável é de 50 a 80% ou mais. *H. influenzae* tipo b provoca meningite, pneumonia e empiema, epiglotite, celulite, artrite séptica e, em certas ocasiões, outras formas de infecção invasiva. *H. influenzae* não tipável tende a causar bronquite crônica, otite média, sinusite e conjuntivite após o comprometimento dos mecanismos de defesa normais do hospedeiro. A incidência do estado de portador para os tipos encapsulados a, e, c, a, f, é baixa (1 a 2%), e esses tipos encapsulados raramente provocam doença. Embora o tipo b possa causar bronquite crônica, otite média, sinusite e conjuntivite, isso ocorre com frequência muito menor do que o *H. influenzae* não tipável. De modo semelhante, o *H. influenzae* não tipável só provoca doença invasiva ocasionalmente (em cerca de 5% dos casos).

O sangue de muitos indivíduos com mais de 3 a 5 anos de idade é bactericida para o *H. influenzae*, e as infecções clínicas são menos frequentes nesses indivíduos. Entretanto, em 25% dos adultos nos EUA comprovou-se ausência de anticorpos bactericidas, e ocorreram infecções clínicas em adultos.

Manifestações clínicas

O *H. influenzae* tipo b penetra através do trato respiratório. Pode ocorrer extensão local do microrganismo com comprometimento dos seios da face e da orelha média. As amostras de *H. influenzae* não tipáveis e os pneumococos constituem dois dos agentes etiológicos mais comuns da otite média bacteriana e da sinusite aguda. Os microrganismos capsulados podem atingir a corrente sanguínea e ser transportados até as meninges ou, com menor frequência, podem instalar-se nas articulações, onde causam artrite séptica. Antes do emprego da vacina conjugada, o *H. influenzae* tipo b era a causa mais comum de meningite bacteriana em crianças de 5 meses a 5 anos nos EUA. Clinicamente, assemelha-se a outras formas de meningite infantil, e o estabelecimento do diagnóstico baseia-se na demonstração bacteriológica do microrganismo.

Em certas ocasiões, verifica-se o desenvolvimento de laringotraqueíte obstrutiva fulminante com epiglote edematosa e de coloração vermelho-cereja em lactentes, exigindo traqueostomia ou intubação imediatas para salvar a vida do paciente. Podem ocorrer pneumonite e epiglotite por *H. influenzae* após infecções das vias respiratórias superiores em crianças menores e em indivíduos idosos ou debilitados. Os adultos podem apresentar bronquite ou pneumonia por *H. influenzae*.

Exames diagnósticos laboratoriais

A. Amostras

As amostras consistem em escarro expectorado e outros tipos de espécimes respiratórios, pus, sangue e líquido cefalorraquiano (LCS) para esfregaços e culturas, dependendo do processo infeccioso.

B. Identificação direta

Existem kits disponíveis comercialmente para detecção imunológica de antígenos do *H. influenzae* no LCS. A obtenção de um resultado positivo indica que o líquido contém concentrações elevadas do polissacarídeo específico de *H. influenzae* tipo b. Esses testes de detecção de antígeno geralmente são menos sensíveis que a coloração pelo método de Gram, e por isso não são largamente empregados, especialmente porque a incidência de meningite causada por *H. influenzae* é baixa. Uma coloração pelo método de Gram de *H. influenzae* em escarro é mostrada na Figura 18.1.

C. Cultura

As amostras são cultivadas em ágar-chocolate enriquecido com IsoVitaleX até o aparecimento de colônias típicas. O *H. influenzae* é diferenciado dos bacilos gram-negativos relacionados pela sua necessidade dos fatores X e V, bem como pela ausência de hemólise em ágar-sangue (Quadro 18.1).

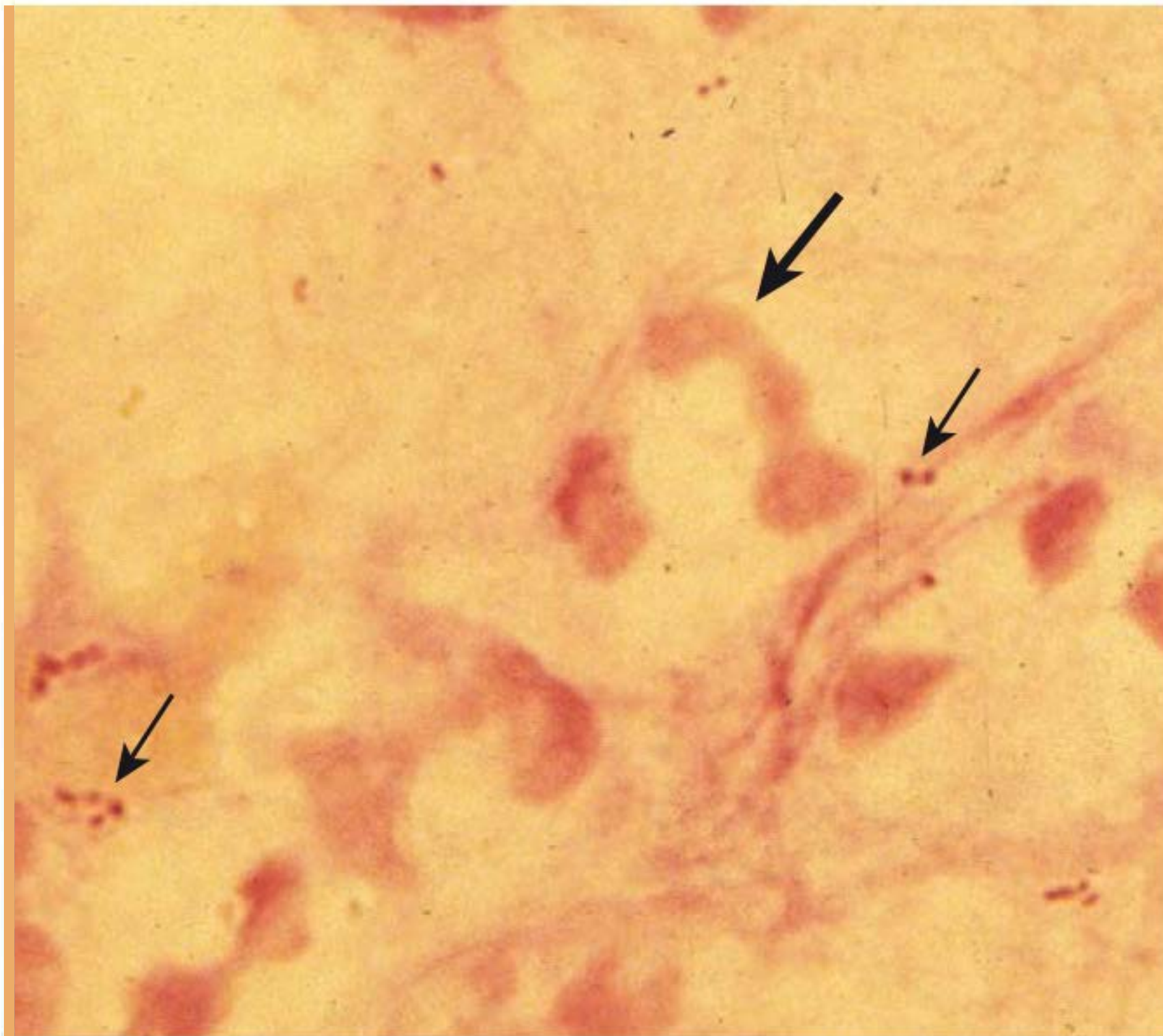


FIGURA 18.1 Coloração pelo método de Gram de *Haemophilus influenzae* em escarro. Os microrganismos são cocobacilos gram-negativos muito pequenos ($0,3 \times 1 \mu\text{m}$) (setas pequenas). Os objetos grandes de formas irregulares (seta grande) são núcleos de células polimorfonucleares. O muco está fracamente corado de rosa no fundo.

Os testes para a exigência dos fatores X (heme) e V (dinucleotídeo adenina nicotinamida) podem ser efetuados de diversas maneiras. As espécies de *Haemophilus* que necessitam do fator V crescem ao redor de tiras ou discos de papel contendo o fator V aplicado à superfície do ágar autoclavado antes do acréscimo de sangue (o fator V é termolábil). Uma alternativa consiste em colocar uma tira contendo o fator X paralelamente a outra que contenha o fator V em ágar com deficiência desses nutrientes. O crescimento de *Haemophilus* na área entre as tiras indica a necessidade de ambos os fatores. Um teste mais apropriado para se estabelecer a necessidade do fator X baseia-se na incapacidade do *H. influenzae* (e de algumas outras espécies de *Haemophilus*) de sintetizar o heme a partir do ácido δ -aminolevulínico. O inóculo é incubado com este ácido. As espécies de *Haemophilus* que não necessitam do fator X sintetizam porfobilinogênio, porfirinas, protoporfirina IX e heme. A presença de fluorescência vermelha sob luz ultravioleta (cerca de 360 nm) indica a existência de porfirinas e um teste positivo. As espécies de *Haemophilus* que sintetizam porfirinas (e, portanto, heme) não são *H. influenzae*. (Ver Quadro 18.1.)

Imunidade

Lactentes com menos de 3 meses de vida podem apresentar anticorpos séricos transmitidos pelas mães. Durante esse período, a infecção por *H. influenzae* é rara; todavia, subsequentemente ocorre a perda desses anticorpos. Com frequência, as crianças contraem infecções por *H. influenzae*, que costumam ser assintomáticas, mas podem manifestar-se em forma de doença respiratória ou meningite. O *H. influenzae* foi a causa mais comum de meningite bacteriana em crianças de 5 meses a 5 anos, até o início da década de 1990, quando as vacinas conjugadas se tornaram disponíveis (ver adiante). Dos 3 aos 5 anos, muitas

crianças não imunizadas já adquiriram naturalmente anticorpos anti-PRP que promovem a fagocitose e destruição bactericida dependente do complemento. A imunização de crianças com a vacina conjugada de *H. influenzae* tipo b induz a formação dos mesmos anticorpos.

Existe uma correlação entre a presença de anticorpos bactericidas e a resistência às principais infecções por *H. influenzae* tipo b. Contudo, não se sabe se esses anticorpos isoladamente são responsáveis pela imunidade. Podem ocorrer pneumonia ou artrite por *H. influenzae* em adultos com esses anticorpos.

Tratamento

A taxa de mortalidade de indivíduos acometidos por meningite por *H. influenzae* sem tratamento pode atingir 90%. Muitas cepas do *H. influenzae* tipo b são sensíveis à ampicilina, mas até 25% produzem betalactamase sob o controle de um plasmídeo transmissível e, portanto, são resistentes. Praticamente todas são sensíveis às cefalosporinas de terceira geração. A cefotaxima, administrada por via intravenosa, dá excelentes resultados. O diagnóstico e a terapia antimicrobiana imediatos são essenciais para minimizar o comprometimento neurológico e intelectual tardio. Entre as complicações tardias da meningite por *H. influenzae* tipo b destaca-se o acúmulo subdural localizado de líquido, que exige drenagem cirúrgica.

Epidemiologia, prevenção e controle

O *H. influenzae* tipo b encapsulado é transmitido de uma pessoa para outra por via respiratória. A doença causada pelo *H. influenzae* tipo b pode ser evitada pela administração de **vacina de conjugado de *Haemophilus b*** a crianças. Atualmente, duas vacinas conjugadas estão disponíveis para uso: a PRP-OMPC (polissacarídeo ligado a proteínas de membrana externa), um complexo de membrana externa de *Neisseria meningitidis* sorogrupo B e a PRP-T, que usa o toxoide tetânico. A partir dos 2 meses de vida, todas as crianças devem ser imunizadas com uma das vacinas conjugadas. Dependendo da vacina escolhida, as séries consistem em três doses aos 2, 4 e 6 meses de vida ou duas doses administradas aos 2 e 4 meses de vida. Outra dose de reforço é dada em um período entre 12 e 15 meses de vida. Todas as duas vacinas conjugadas podem ser dadas concomitantes com a administração de outras vacinas, como a DTaP (difteria, tétano e *pertussis* acelular). O uso disseminado da vacina do *H. influenzae* tipo b reduziu mais de 95% a incidência de meningite causada por *H. influenzae* tipo b em crianças. A vacina reduz a incidência do estado de portador de *H. influenzae* tipo b.

O contato com pacientes acometidos de infecção clínica por *H. influenzae* do tipo b está associado a pouco risco para os adultos, mas constitui um risco bem-definido para irmãos não imunizados e outras crianças não imunes com menos de 4 anos que tenham estreito contato com o paciente. Recomenda-se a profilaxia com rifampicina para essas crianças.

HAEMOPHILUS AEGYPTIUS

Esse microrganismo, antigamente denominado bacilo de Koch-Weeks, foi associado a uma forma de conjuntivite extremamente infecciosa (olho cor de rosa – “pink-eye”) em crianças.

H. aegypticus é estreitamente relacionado com *H. influenzae* biotipo III, agente etiológico da febre púrpura brasileira, caracterizada por febre, púrpura, choque e morte. No passado, essas infecções foram atribuídas erroneamente ao *H. aegypticus*.

AGGREGATIBACTER APHROPHILUS

Microrganismos pertencentes às espécies *H. aphrophilus* e *H. paraphrophilus* foram recentemente combinados na mesma espécie e a denominação foi mudada para *Aggregatibacter aphrophilus*. *Actinobacillus actinomyces temcomitans* também foi adicionado ao gênero *Aggregatibacter*. Os isolados de *A. aphrophilus* são encontrados com frequência como causadores de endocardite infecciosa e pneumonia. Estes microrganismos estão presentes na cavidade oral como parte da microbiota respiratória normal, juntamente com outras espécies do grupo HACEK (*Haemophilus*, *Actinobacillus/Aggregatibacter*, *Cardiobacterium hominis*, *Eikenella corrodens* e *Kingella kingae*) (ver Cap. 16).

HAEMOPHILUS DUCREYI

H. ducreyi provoca cancroide (cancro mole), uma doença sexualmente transmissível que consiste em uma úlcera irregular da genitália, com edema e hipersensibilidade acentuados. Os linfonodos regionais ficam aumentados e dolorosos. A doença deve ser diferenciada da sífilis, da infecção por herpes simples e do linfogranuloma venéreo.

Os pequenos bastonetes gram-negativos ocorrem em cadeias nas lesões, geralmente em associação com outros microrganismos piogênicos. O *H. ducreyi* exige a presença do fator X, mas não do fator V. Cresce melhor em raspados da base da úlcera em ágar-chocolate que contenha 1% de IsoVitaleX e vancomicina, 3 µg/mL, com incubação em 10% de CO₂ a 33°C. Não ocorre imunidade permanente após o cancroide. O tratamento preconizado pelo Centers for Disease Control and Prevention (CDC) é 1g de azitromicina por via oral. Outras condutas incluem ceftriaxona por via intramuscular e ciprofloxacino ou eritromicina por via oral por 2 semanas.

OUTRAS ESPÉCIES DE HAEMOPHILUS

H. haemoglobinophilus exige a presença do fator X, mas não do fator V. Essa espécie tem sido encontrada em cães, sem causar doença em seres humanos. *H. haemolyticus* é o microrganismo mais acentuadamente hemolítico do grupo *in vitro*, sendo encontrado tanto na nasofaringe normal quanto em associação com infecções raras das vias respiratórias superiores de gravidade moderada na infância. *Haemophilus parainfluenzae* assemelha-se ao *H. influenzae*, e é um habitante normal das vias respiratórias humanas; em certas ocasiões, é encontrado na endocardite infecciosa e na uretrite.

Verificação de Conceitos

- As espécies de *Haemophilus* são formados por bastonetes gram-negativos pleomórficos que necessitam do fator X

(hemina), do fator V (NAD) ou de ambos para seu crescimento. A maioria das espécies desse gênero é colonizadora do trato respiratório superior em seres humanos.

- *H. influenzae* é o principal patógeno do grupo e o mais virulento. Esse microrganismo é capsulado (especialmente o sorotipo b) e está associado a diferentes infecções invasivas, incluindo bacteriemia e meningite em indivíduos não imunizados.
- *H. influenzae* do tipo b foi uma causa importante de morbidade e de mortalidade em crianças, porém, hoje, é menos frequente em países desenvolvidos, com a implementação das vacinas conjugadas no esquema vacinal infantil.
- *H. aphrophilus* e *H. paraphrophilus* foram combinados em uma única espécie e alocados em um novo gênero *A. aphrophilus*. Outras espécies do gênero *Aggregatibacter* incluem *A. actinomyces temcomitans* e *A. segnis*. Esses microrganismos estão associados a uma variedade de infecções incluindo endocardites.
- *H. ducreyi* está associado a cancro mole, uma doença sexualmente transmissível.

ESPÉCIES DE BORDETELLA

Existem várias espécies de *Bordetella*. *Bordetella pertussis*, um patógeno altamente contagioso e importante nos seres humanos, provoca a coqueluche (*pertussis*). *Bordetella parapertussis* pode causar uma doença semelhante. *Bordetella bronchiseptica* (*B. bronchicanis*) provoca doença em animais, como a tosse do canil em cães e coriza em coelhos, e apenas em certas ocasiões causa doença respiratória e bacteriemia em seres humanos, principalmente em hospedeiros imunodeprimidos. *Bordetella avium* provoca coriza em perus e causa infecções respiratórias raras em seres humanos. Novas espécies e suas doenças associadas são *Bordetella hinzii* (bacteriemia, doença respiratória e artrite); *Bordetella holmsei* (bacteriemia entre pacientes imunodeprimidos); e *Bordetella trematum* (feridas e otite média). *B. pertussis*, *B. parapertussis* e *B. bronchiseptica* estão estreitamente relacionadas, com 72 a 94% de homologia do DNA e diferenças muito limitadas na análise enzimática de múltiplos loci. As três espécies podem ser consideradas três subespécies de uma espécie. *B. avium* é uma espécie distinta.

BORDETELLA PERTUSSIS

Morfologia e identificação

A. Microrganismos típicos

Consistem em diminutos cocobacilos gram-negativos que se assemelham ao *H. influenzae*. À coloração com azul de toluidina, é possível comprovar a presença de grânulos metacromáticos bipolares. Verifica-se a presença de cápsula.

B. Cultura

O isolamento primário da *B. pertussis* exige meios enriquecidos. Pode-se utilizar o meio de Bordet-Gengou (ágar de

batata-sangue-glicerol), que contém 0,5 µg/mL de penicilina G. Entretanto, é preferível empregar um meio que contenha carvão suplementado com sangue de cavalo (ágar Regan Lowe), devido ter o prazo de validade maior. As placas são incubadas a 35 a 37°C durante 3 a 7 dias em aerobiose e, em ambiente úmido (p. ex., saco plástico fechado). Os pequenos bastonetes gram-negativos que se coram fracamente são identificados por imunofluorescência. *B. pertussis* não é móvel.

C. Características de crescimento

O microrganismo é um aeróbio estrito, oxidase e catalase positivas, porém nitrato, citrato e ureia negativos. Esses resultados são úteis para o diferenciar de outras espécies de *Bordetella*. Não exige o fator X nem o fator V na repicagem. A hemólise do meio de cultura que contenha sangue está associada à *B. pertussis* virulenta.

D. Variação

Quando isolada de pacientes e cultivada em meios enriquecidos, *B. pertussis* encontra-se na fase hemolítica e virulenta produtora de toxina. Existem dois mecanismos de transformação de *B. pertussis* em formas não hemolíticas e avirulentas não produtoras de toxina. Ocorre modulação fenotípica reversível quando *B. pertussis* cresce em certas condições ambientais (p. ex., 28°C versus 37°C, presença de MgSO₄, etc.). Há variação de fase reversível após mutação de baixa frequência no locus genético que controla a expressão dos fatores de virulência (ver adiante). É possível que esses mecanismos possam desempenhar algum papel no processo infeccioso, mas tal papel não foi demonstrado na prática clínica.

Estrutura antigênica, patogênese e patologia

B. pertussis produz diversos fatores envolvidos na patogênese da doença. Um locus no cromossomo de *B. pertussis* atua como regulador central dos genes de virulência. Esse locus possui dois operons, *bvgA* e *bvgS*. Os produtos dos loci A e S assemelham-se aos sistemas regulatórios de dois componentes. O *bvgS* responde a sinais do ambiente, enquanto o *bvgA* é um ativador transcricional de genes de virulência. A **hemaglutinina filamentosa e as fimbrias** atuam como mediadoras da adesão às células epiteliais ciliadas e são essenciais para a colonização traqueal. A **toxina pertussis** promove linfocitose, sensibilização à histamina e aumento da secreção de insulina; além disso, tem atividade de ribosilação da adenosina difosfato (ADP), com estrutura A/B e mecanismo de ação semelhante ao da toxina da cólera. A hemaglutinina filamentosa e a toxina *pertussis* são proteínas secretadas, encontradas fora das células da *B. pertussis*. A **toxina adenilatociclase**, a **toxina dermonecrotica** e a **hemolisina** também são reguladas pelo sistema *bvg*. A **citotoxina traqueal** inibe a síntese do DNA nas células ciliadas, mas não é regulada pelo *bvg*. O lipopolissacarídeo na parede celular também pode ser importante na produção de lesão das células epiteliais das vias respiratórias superiores.

B. pertussis sobrevive apenas por um breve período fora do hospedeiro humano. Não existe vetor. A transmissão ocorre, em grande parte, pela via respiratória a partir de casos iniciais e, possivelmente, através de portadores. O microrganismo adere

à superfície epitelial da traqueia e dos brônquios, onde se multiplica rapidamente e interfere na ação ciliar. Não há invasão do sangue. As bactérias liberam as toxinas e substâncias que irritam as células superficiais, provocando tosse e linfocitose acentuada. Mais tarde, podem ocorrer necrose de partes do epitélio e infiltração polimorfonuclear (PMN) com inflamação peribrônquica e pneumonia intersticial. Os vasos secundários, como estafilococos ou *H. influenzae*, podem dar origem a pneumonia bacteriana. A obstrução dos bronquíolos menores por tampões de muco resulta em atelectasia e diminuição da oxigenação do sangue, processo que provavelmente contribui para a frequência de convulsões em lactentes com coqueluche.

Manifestações clínicas

Depois de um período de incubação de cerca de 2 semanas, surge o “estágio catarral”, com tosse leve e espirros, durante o qual grande número de microrganismos é liberado em forma de aerossol em perdigotos, e o paciente mostra-se altamente infeccioso, embora não esteja muito doente. Durante o estágio “paroxístico”, ocorre tosse de caráter explosivo com o característico “sibilo” à inspiração, resultando em rápida exaustão e podendo estar associado a vômitos, cianose e convulsões. Os “sibilos” e as principais complicações são observados predominantemente em lactentes, enquanto a tosse paroxística predomina em crianças maiores e adultos. A contagem de leucócitos mostra-se elevada (16.000 a 30.000/µL), com linfocitose absoluta. A convalescença é lenta. *B. pertussis* é uma causa comum das tosses prolongadas (4 a 6 semanas) em adultos. Em raras ocasiões, a coqueluche é seguida de encefalite, complicação grave e potencialmente fatal. Vários tipos de adenovírus e *Chlamydia pneumoniae* podem provocar um quadro clínico semelhante ao causado pela *B. pertussis*.

Exames diagnósticos laboratoriais

A. Amostras

A amostra preferida consiste em lavado nasal com solução salina. *Swabs* nasofaríngeos ou perdigotos da tosse expelidos em uma “placa de tosse” mantida na frente da boca do paciente durante o paroxismo às vezes são utilizados, mas não se mostram tão apropriados quanto o lavado nasal com solução salina.

B. Teste do anticorpo fluorescente (AF) direto

Pode-se utilizar o reagente para AF a fim de examinar as amostras de *swab* nasofaríngeo. Todavia, podem ser obtidos falsos resultados positivos e falsos resultados negativos; a sensibilidade do teste é de cerca de 50%. O teste do AF é mais útil na identificação de *B. pertussis* após cultura em meios sólidos.

C. Cultura

O líquido do lavado nasal com solução salina é cultivado em meio sólido (ver anteriormente). Os antibióticos nos meios de cultura tendem a inibir outros membros da microbiota respiratória, mas favorecem o crescimento da *B. pertussis*. Os microrganismos são identificados por imunofluorescência ou por aglutinação em lâmina com antissoros específicos.

D. Reação em cadeia da polimerase (PCR)

A reação em cadeia da polimerase (PCR, na sigla em inglês) constitui o método mais sensível para se estabelecer o diagnóstico de coqueluche. Devem-se incluir sequências iniciadoras (*primers*) para *B. pertussis* e *B. parapertussis*. Quando disponível, o teste da PCR deve substituir o teste do anticorpo fluorescente direto, que pode apresentar reação cruzada com outras espécies de *Bordetella*.

E. Sorologia

Os testes sorológicos em pacientes são de pouco auxílio para o diagnóstico, visto que a elevação dos anticorpos aglutinantes ou precipitantes só é observada a partir da terceira semana de doença. Uma única amostra de soro com títulos elevados de anticorpos pode ser útil para se diagnosticar a causa de uma tosse prolongada de várias semanas de duração.

Imunidade

A recuperação da coqueluche ou a imunização são seguidas de imunidade. Pode ocorrer uma segunda infecção, porém leve; já as reinfecções que ocorrem depois de vários anos em adultos podem ser graves. É provável que a primeira defesa contra a infecção por *B. pertussis* seja a produção do anticorpo que impede a fixação das bactérias aos cílios do epitélio respiratório. São necessárias células de fase I produtoras de toxina para a produção da vacina contra a coqueluche.

Tratamento

B. pertussis mostra-se sensível a vários antimicrobianos *in vitro*. A administração de eritromicina durante o estágio catarral da doença promove a eliminação dos microrganismos podendo ter valor profilático. O tratamento após o início da fase paroxística raramente altera a evolução clínica. Inalação de oxigênio e sedação podem impedir a lesão do cérebro por anoxia.

Prevenção

Durante o primeiro ano de vida, todos os lactentes devem receber três injeções de vacina contra a coqueluche, seguidas de uma série de reforço, em um total de cinco doses. Existem diversas vacinas contra *pertussis* acelulares liberadas nos EUA e em outros países. O uso dessas vacinas é recomendado. As vacinas acelulares têm pelo menos dois dos seguintes antígenos: a toxina *pertussis* inativada, hemaglutinina filamentosa, proteínas de fimbria e a pertactina.

Como diferentes vacinas contêm diferentes antígenos, deve-se utilizar o mesmo produto durante a série de imunização. A vacina contra a coqueluche costuma ser administrada em combinação com os toxoides diftérico e tetânico (DTaP). São recomendadas cinco doses da vacina *pertussis* antes do ingresso da criança na escola. O calendário usual é a administração de doses no 2º, 4º, 6º e 15º ao 18º meses de vida e uma dose de reforço entre 4 e 6 anos de idade. Em 2005, foi recomendado pelo Advisory Committee on Immunization Practices que todos os adolescentes e adultos recebam uma dose única

de reforço da DTaP (difteria, tétano e *pertussis* acelular) para substituir a dose de reforço de tétano e difteria sozinhos. Duas vacinas *pertussis* acelulares estão disponíveis nos EUA para uso em adolescentes e adultos.

A administração profilática de eritromicina durante 5 dias também pode ser benéfica para lactentes não imunizados ou adultos intensamente expostos.

Epidemiologia e controle

A coqueluche é endêmica nas áreas mais densamente povoadas do mundo inteiro e ocorre de modo intermitente em epidemias. Em geral, a fonte de infecção é um paciente que se encontra na fase catarral inicial da doença. A contagiosidade é alta, variando de 30 a 90%. A maioria dos casos é observada em crianças com menos de 5 anos, e a maioria das mortes ocorre durante o primeiro ano de vida.

O controle da coqueluche baseia-se principalmente na imunização ativa adequada de todos os lactentes.

BORDETELLA PARAPERTUSSIS

Microrganismo que pode provocar uma doença semelhante à coqueluche, mas é geralmente menos grave. A infecção é frequentemente subclínica. A *B. parapertussis* apresenta crescimento mais rápido que a *B. pertussis* típica e produz colônias maiores. Além disso, cresce em ágar-sangue. A *B. parapertussis* tem uma cópia silenciosa do gene da toxina *pertussis*.

BORDETELLA BRONCHISEPTICA

Consiste em um pequeno bacilo gram-negativo que habita as vias respiratórias dos caninos, nos quais pode causar a “tosse do canil” e pneumonite. Provoca coriza em coelhos e rinite atrófica em suínos. Raramente, é responsável por infecção crônica das vias respiratórias em seres humanos, principalmente em indivíduos com doenças de base. Cresce em meio de ágar-sangue. *B. bronchiseptica* tem uma cópia silenciosa do gene da toxina *pertussis*. Esse microrganismo expressa uma β -lactamase que confere resistência a penicilinas e cefalosporinas.

Verificação de conceitos

- As espécies de *Bordetella* compreendem cocobacilos gram-negativos. O gênero inclui diversas espécies, que vão desde microrganismos fastidiosos e virulentos, como *B. pertussis* (causadora da coqueluche), a espécies relacionadas a diferentes animais.
- *B. pertussis* elabora diferentes fatores de virulência que são responsáveis por sua patogênese, tais como hemaglutinina filamentosa, que promove a aderência e uma variedade de toxinas (toxina *pertussis*, citotoxina traqueal, hemolisina e toxina dermonecrótica), que estão relacionadas com os sintomas respiratórios graves e com linfocitose observados na coqueluche.
- *B. pertussis* é um microrganismo fastidioso de crescimento lento, necessitando de meios seletivos como ágar Regan-Lowe, que é incubado entre 35 a 37°C por até 7 dias.

- Os testes de amplificação do ácido nucleico combinado com a cultura são os métodos de escolha na identificação do microrganismo.
- A coqueluche inicia com uma fase catarral seguida por uma tosse paroxística, que pode durar semanas e termina com a fase de convalescência.
- O tratamento da coqueluche é de suporte. A administração de eritromicina reduz a infectividade, mas não altera o curso natural da doença. A coqueluche pode ser evitada por vacinação com a DTaP.
- Outras espécies de *Bordetella* podem causar infecções respiratórias, mas não estão associadas a casos clássicos de coqueluche.

BRUCELAS

As brucelas são parasitos obrigatórios de animais e seres humanos, sendo tipicamente de localização intracelular. Consistem em microrganismos relativamente inativos do ponto de vista metabólico. *Brucella melitensis* infecta tipicamente cabras; *Brucella suis*, suínos; *Brucella abortus*, o gado bovino; e *Brucella canis*, cães. Outras espécies são encontradas apenas em animais. Embora descritas como espécies, os estudos de relação do DNA mostraram a existência de apenas uma espécie no gênero, *B. melitensis*, com vários biotipos. A doença em seres humanos, denominada brucelose (febre ondulante, febre de Malta), caracteriza-se por uma fase bacteriêmica aguda, seguida de um estágio crônico que pode estender-se por muitos anos, podendo acometer muitos tecidos.

Morfologia e identificação

A. Microrganismos típicos

O aspecto das culturas jovens varia de cocos a bastonetes de 1,2 µm de comprimento, com predomínio de formas cocobacilares curtas. Os microrganismos são gram-negativos, mas coram-se frequentemente de modo irregular, sendo aeróbios, imóveis, e não formadores de esporos.

B. Cultura

Em meios enriquecidos, surgem colônias pequenas, convexas e lisas em 2 a 5 dias.

C. Características de crescimento

As brucelas estão adaptadas a um *habitat* intracelular, e suas exigências nutricionais são complexas. Algumas cepas foram cultivadas em meios definidos contendo aminoácidos, vitaminas, sais e glicose. Em geral, amostras frescas de origem animal ou humana são inoculadas em ágar de tripticase-soja ou meios de hemocultura. *B. abortus* necessita de 5 a 10% de CO₂ para crescer, enquanto as outras três espécies crescem na presença de ar.

As brucelas utilizam carboidratos, mas não produzem ácido nem gás em quantidades suficientes para sua classificação. As quatro espécies que infectam seres humanos produzem catalase e oxidase. O sulfeto de hidrogênio é produzido por muitas cepas, e os nitratos são reduzidos a nitritos.

As brucelas são moderadamente sensíveis ao calor e à acidez. São destruídas no leite pela pasteurização.

D. Variação

O microrganismo virulento típico forma colônias lisas e transparentes; em cultura, tende a assumir uma forma rugosa, avirulenta.

O soro de animais suscetíveis contém uma globulina e uma lipoproteína que suprimem o crescimento dos tipos não lisos e avirulentos, favorecendo o crescimento dos tipos virulentos. As espécies de animais resistentes carecem desses fatores, de modo que pode ocorrer rápida mutação para a forma avirulenta. A D-alanina exerce efeito semelhante *in vitro*.

Estrutura antigênica

A diferenciação entre as espécies ou biotipos da *Brucella* tornou-se possível com base na sua sensibilidade característica a corantes e na sua produção de H₂S. Poucos laboratórios mantiveram os procedimentos para a realização desses testes, de modo que as brucelas raramente são classificadas nas espécies tradicionais. Como o manuseio das brucelas em laboratório é perigoso, os testes de classificação das brucelas devem ser realizados somente em laboratórios de referência, tomando as devidas precauções de biossegurança.

Patogênese e patologia

Embora cada espécie de *Brucella* tenha um hospedeiro preferido, todas podem infectar grande variedade de animais, inclusive seres humanos.

Nos seres humanos, as vias comuns de infecção consistem no trato intestinal (ingestão de leite infectado), mucosas (perdigotos) e pele (contato com tecidos infectados de animais). O queijo preparado a partir de leite de cabra não pasteurizado é um vetor de infecção particularmente comum. A partir da porta de entrada, os microrganismos seguem seu trajeto pelos canais linfáticos e linfonodos regionais, dirigindo-se para o ducto torácico e a corrente sanguínea, que os distribui para os órgãos parenquimatosos. Formam-se nódulos granulomatosos, que podem evoluir para abscessos, no tecido linfático, no fígado, no baço, na medula óssea e em outras partes do sistema reticuloendotelial. Nessas lesões, as brucelas são encontradas principalmente no interior das células. Em certas ocasiões, ocorrem também osteomielite, meningite ou colecistite. A principal reação histológica na brucelose consiste em proliferação de células mononucleares, exsudação de fibrina, necrose de coagulação e fibrose. Os granulomas consistem em células epitelioides e gigantes, com necrose central e fibrose periférica.

As brucelas que infectam seres humanos exibem nítidas diferenças na sua patogenicidade. Em geral, a *B. abortus* provoca doença leve sem qualquer complicação supurativa; verifica-se a formação de granulomas não caseosos no sistema reticuloendotelial. *B. canis* também causa doença leve. A infecção por *B. suis* tende a ser crônica, com lesões supurativas; além disso, pode haver granulomas caseosos. A infecção causada por *B. melitensis* é mais aguda e grave.

Os indivíduos com brucelose ativa reagem mais acentuadamente (febre, mialgia) à injeção de endotoxina de *Brucella* do

que os indivíduos normais. Por conseguinte, a sensibilidade à endotoxina pode desempenhar um papel na patogênese.

A placenta e as membranas fetais de bovinos, suínos, ovinos e caprinos contêm eritritol, um fator de crescimento para brucelas. A proliferação dos microrganismos em fêmeas prenhes resulta em placentite e aborto nessas espécies. A placenta humana não contém eritritol, de modo que a ocorrência de aborto não faz parte da infecção por *Brucella* em seres humanos.

Manifestações clínicas

O período de incubação é de 1 a 4 semanas. O início é insidioso, com mal-estar, febre, fraqueza, dores e sudorese. Em geral, a febre aumenta à tarde, e sua queda durante a noite é acompanhada de sudorese intensa. Podem ocorrer sintomas gastrintestinais e nervosos. Os linfonodos aumentam de tamanho, e o baço torna-se palpável. A hepatite pode ser acompanhada de icterícia. Dor intensa e ocorrência de distúrbios da motilidade, particularmente dos corpos vertebrais, sugerem osteomielite. Esses sintomas de infecção generalizada por *Brucella* geralmente desaparecem em semanas ou meses, embora possam persistir lesões e sintomas localizados.

Após a infecção inicial, pode surgir um estágio crônico, caracterizado por fraqueza, dor, febre baixa, nervosismo e outras manifestações inespecíficas, compatíveis com sintomas psiconeuróticos. As brucelas não podem ser isoladas do paciente nesse estágio, mas os títulos de aglutininas podem mostrar-se elevados. É difícil estabelecer com certeza o diagnóstico de “brucelose crônica”, a não ser que haja lesões locais.

Exames diagnósticos laboratoriais

A. Amostras

Devem-se obter amostras de sangue para cultura, material de biópsia para cultura (linfonodos, osso, etc.) e soro para testes sorológicos.

B. Cultura

O ágar-brucela foi desenvolvido especificamente para o cultivo de espécies de *Brucella*. O meio é altamente enriquecido, e, na forma reduzida, é usado principalmente em culturas para bactérias anaeróbias. Na forma oxigenada, o meio permite que espécies *Brucella* cresçam muito bem. Entretanto, uma vez que frequentemente não se suspeita de infecção por *Brucella* quando são feitas as culturas de pacientes, o ágar-brucela, incubado aerobiamente, raramente é usado. As espécies de *Brucella* crescem nos meios comumente usados, inclusive o meio tripticase-soja com ou sem sangue de carneiro a 5%, meio de infusão cérebro-coração (BHI) e ágar-chocolate. As espécies de *Brucella* crescem rapidamente em hemoculturas (ver adiante). Meios líquidos usados para o cultivo do *Mycobacterium tuberculosis* também sustentam o crescimento de algumas cepas. Todas as culturas devem ser incubadas com 8 a 10% de CO₂, a 35 a 37°C, e devem ser observadas durante 3 semanas antes de serem descartadas como negativas; deve ser feito um cultivo cego com meios de cultura líquidos durante esse período.

Aspirado de medula óssea e sangue são os materiais dos quais as brucelas são isoladas com maior frequência. O método de escolha para amostras de medula óssea é utilizar tubos isoladores pediátricos, que não requerem centrifugação, com incubação de todo o conteúdo em meio sólido. As brucelas crescem facilmente em meios empregados em sistemas automatizados ou semiautomatizados de hemoculturas, geralmente em 1 semana; entretanto, é recomendado manter as culturas pelo menos por 3 semanas. Culturas negativas para *Brucella* não excluem a presença de doença, pois as brucelas só podem ser cultivadas de pacientes durante a fase aguda da doença ou recidiva da atividade.

Após poucos dias de incubação em ágar, as brucelas formam colônias com menos de 1 mm de diâmetro nas estrias de semeadura primária e são não hemolíticas. A observação de cocobacilos que coram fracamente como gram-negativos, catalase e oxidase-positivos, sugere espécies de *Brucella*. Todo o manuseio posterior deve ser feito em cabines de segurança biológica. Deve-se inocular um tubo de ureia de Christensen e observar com frequência. Teste de ureia positivo é característico de espécies *Brucella B. suis* e algumas cepas de *B. melitensis* podem dar resultado positivo em menos de 5 minutos após inoculação do tubo; outras cepas levam poucas horas a 1 dia para dar resultado positivo. Uma bactéria com estas características deve ser rapidamente enviada a um laboratório público de referência para identificação presuntiva. As espécies de *Brucella* enquadram-se na categoria B de agentes selecionados. Foram desenvolvidos métodos moleculares para rápida diferenciação de vários sorotipos de brucelas.

C. Sorologia

Os níveis de anticorpos IgM aumentam durante a primeira semana de doença aguda, atingem valores máximos em 3 meses e podem persistir durante a fase crônica da doença. Mesmo com antibioticoterapia apropriada, os níveis elevados de IgM podem persistir por até 2 anos em um pequeno percentual de pacientes. Os níveis de anticorpos IgG aumentam cerca de 3 semanas após o início da doença aguda, atingem valores máximos em 6 a 8 semanas e permanecem elevados durante a fase crônica da doença. Os níveis de IgA acompanham os de IgG. Os testes sorológicos habituais podem não detectar a infecção por *B. canis*.

1. Teste de aglutinação — para serem confiáveis, os testes séricos de aglutinação devem ser efetuados com antígenos padronizados de *Brucella* de colônias lisas, mortas pelo calor e fenolisadas. Títulos de aglutinina IgG superiores a 1:80 indicam infecção ativa. Os indivíduos que receberam vacina contra a cólera podem desenvolver títulos de aglutinação para brucelas. Se o teste de aglutinação do soro for negativo em pacientes com forte evidência clínica de infecção por *Brucella*, deverão ser efetuados testes para a presença de anticorpos “bloqueadores”, que podem ser detectados pelo acréscimo de antiglobulina humana à mistura de antígeno-soro. As aglutininas da brucelose exibem reatividade cruzada com as aglutininas da tularemia, e os testes para ambas as doenças devem ser efetuados em soros positivos. Em geral, os títulos para uma doença são muito mais elevados do que para outra.

2. Anticorpos bloqueadores — são anticorpos IgA que interferem na aglutinação pelos anticorpos IgG e IgM, resultando em teste sorológico negativo com baixas diluições do soro (pró-zona), porém positivo com diluições mais altas. Esses anticorpos aparecem durante o estágio subagudo da infecção, tendem a persistir por muitos anos, independentemente da atividade da infecção, e são detectados pelo método da antiglobulina de Coombs.

3. Testes imunoenzimáticos (Elisa) — os anticorpos IgA, IgG e IgM podem ser detectados utilizando testes de Elisa (*enzyme-linked immunosorbent assay*), que usam proteínas citoplasmáticas como antígenos. Esses testes tendem a ser mais sensíveis e específicos que o de aglutinação, especialmente na doença crônica.

Imunidade

Observa-se resposta humoral à infecção e é provável que apareça alguma resistência a crises subsequentes. As frações imunogênicas das paredes celulares de *Brucella* apresentam alto conteúdo de fosfolípidos, predomínio da lisina em oito aminoácidos e ausência de heptose (distinguindo, assim, as frações da endotoxina).

Tratamento

As brucelas podem ser suscetíveis às tetraciclina, rifampicina, sulfametoxazol-trimetoprima, aminoglicosídeos e algumas quinolonas. Pode ocorrer alívio sintomático poucos dias após o início do tratamento com esses fármacos. Todavia, em virtude de sua localização intracelular, os microrganismos não são facilmente erradicados por completo do hospedeiro. Para obter melhores resultados, o tratamento precisa ser prolongado. Recomenda-se o tratamento combinado com uma tetraciclina (como a doxiciclina) e estreptomicina por 2 a 3 semanas ou rifampicina por 6 semanas.

Epidemiologia, prevenção e controle

As brucelas são patógenos de animais transmitidos aos seres humanos por contato acidental com fezes, urina, leite e tecidos de animais infectados. As fontes comuns de infecção de seres humanos consistem em leite não pasteurizado, laticínios e queijos, bem como contato profissional (p. ex., fazendeiros, veterinários, pessoas que trabalham em abatedouros) com animais infectados.

O queijo de leite de cabra não pasteurizado é um veículo de transmissão particularmente comum para a transmissão da brucelose. Em certas ocasiões, a via respiratória pode ser importante como meio de transmissão. Devido ao contato ocupacional, a infecção por *Brucella* é muito mais frequente em homens. A maioria das infecções permanece assintomática (latente).

As taxas de infecção variam acentuadamente com diferentes animais e países. Fora dos EUA, a infecção é mais prevalente. Pode-se tentar a erradicação da brucelose no gado bovino por meio de exame e sacrifício dos animais, imunização ativa dos novilhos com vacina da cepa 19 viva avirulenta ou testes combinados, segregação e imunização. O gado deve ser examinado por meio de testes de aglutinação.

A imunização ativa dos seres humanos contra a infecção por *Brucella* é experimental. O controle baseia-se na limitação da propagação e na possível erradicação da infecção nos animais, na pasteurização do leite e dos laticínios, assim como na redução dos riscos ocupacionais, sempre que possível.

Verificação de conceitos

- As espécies de *Brucella* são patógenos intracelulares obrigatórios encontrados em animais. A brucelose, uma zoonose também conhecida por febre de malta ou febre ondulante, é causada primariamente pelo contato com animais e produtos de origem animal, especialmente leite e queijos não pasteurizados.
- O período de incubação varia de 1 a 4 semanas. A infecção se inicia de forma abrupta com febre, calafrios, sudorese e astenia, progredindo para esplenomegalia, linfadenopatia e osteomielite. As infecções crônicas podem durar por anos.
- O diagnóstico é difícil e muitos casos dependem da sorologia, uma vez que o microrganismo é fastidioso, o que dificulta seu cultivo mesmo em meios seletivos.
- O tratamento consiste em uso prolongado de antimicrobianos que são efetivos contra patógenos intracelulares, como a rifampicina, sulfametoxazol-trimetoprima, fluoroquinolonas, aminoglicosídeos e tetraciclina.

FRANCISELLA TULARENSIS E TULAREMIA

As espécies de *Francisella* são amplamente encontradas em reservatórios animais e ambientes aquáticos. A taxonomia deste gênero tem sofrido inúmeras mudanças nos últimos anos. Existem três subespécies reconhecidas de *Francisella tularensis*: *tularensis* (tipo A), *holarctica* (tipo B) e *mediasiatica*. A subespécie *tularensis* (tipo A) é a mais virulenta desse grupo e a mais patogênica para seres humanos. Está associada a coelhos selvagens, carrapatos e moscas tabanídeas. As cepas da subespécie *holarctica* causam infecções moderadas e estão associadas a lebres, carrapatos, mosquitos e moscas tabanídeas. *F. tularensis* é transmitida a seres humanos por picadas de artrópodos e moscas, contato direto com tecido de animal infectado, inalação de aerossóis ou ingestão de água ou alimentos contaminados. A apresentação clínica depende da via de infecção; seis síndromes principais estão descritas (ver Patogênese e Manifestações clínicas). Também existe outra espécie, incluindo *Francisella philomiragia*, *Francisella novicida* e *Francisella noatunensis*. As infecções causadas por *F. philomiragia* e *F. novicida* são raras e geralmente são encontradas em situações de afogamento. *F. noatunensis* não está associada a infecções humanas. Esses microrganismos não serão abordados nesse capítulo.

Morfologia e identificação

A. Microrganismos típicos

A *F. tularensis* é um pequeno cocobacilo gram-negativo. Raramente é observada em esfregaços de tecido (Fig. 18.2).

B. Amostras

Amostras de sangue devem ser obtidas para testes sorológicos. O microrganismo pode ser obtido a partir de culturas de aspirados dos linfonodos, medula óssea, sangue periférico, tecidos profundos e biópsias de úlceras.

C. Cultura

O crescimento requer meio enriquecido que contenha cisteína. No passado, o ágar-sangue glicose-cisteína era preferido, mas a *F. tularensis* cresce bem em meios disponíveis comercialmente que contenham hemina, como o ágar-chocolate, o ágar de Thayer-Martin e o ágar tamponado de carvão e extrato de levedura (BCYE) usado para o crescimento de espécies de *Legionella*. Os meios devem ser incubados em CO₂, a 35 a 37°C durante 2 a 5 dias. **Cuidado:** para evitar infecção adquirida em laboratório, devem ser utilizadas cabines de biossegurança de nível III ao se trabalhar com culturas vivas sob suspeita de conterem *F. tularensis*. As amostras clínicas devem ser trabalhadas em cabines de biossegurança de nível II.

D. Sorologia

Todos os microrganismos isolados são sorologicamente idênticos e apresentam um antígeno polissacarídico e um ou mais antígenos proteicos que exibem reação cruzada com as bruceelas. Todavia, existem dois biogrupos principais de cepas, denominados tipos A e B de Jellison. O tipo A ocorre somente na América do Norte e, é letal em coelhos, provoca doença grave em seres humanos, fermenta o glicerol e contém citrulina ureidase. O tipo B, que não apresenta estas características bioquímicas, não é letal em coelhos, provoca doença mais leve em

seres humanos e, com frequência, é isolado de roedores ou da água na Europa, Ásia e América do Norte. Os outros biogrupos exibem baixa patogenicidade.

A resposta humoral habitual consiste na produção de aglutininas 7 a 10 dias após o início da doença.

Patogênese e manifestações clínicas

F. tularensis é altamente infecciosa: a penetração pela pele ou pelas mucosas, ou a inalação de 50 microrganismos pode resultar em infecção. Com maior frequência, os microrganismos penetram através de escoriações na pele. Em 2 a 6 dias, observa-se o desenvolvimento de uma pápula inflamatória ulcerada. Os linfonodos regionais aumentam de tamanho, podendo tornar-se necróticos, às vezes drenando durante semanas (tularemia ulceroglandular). A inalação de aerossol infeccioso resulta em inflamação peribrônquica e pneumonite localizada (tularemia pneumônica). Pode ocorrer tularemia oculoglandular quando um dedo infectado ou perdigoto entra em contato com a conjuntiva. As lesões granulomatosas amareladas que aparecem nas pálpebras podem ser acompanhadas de adenopatia pré-auricular. As outras formas da doença são a tularemia glandular (linfadenopatia, mas sem úlceras), tularemia orofaríngea e tularemia tifoide (septicemia). Em todos os casos, os pacientes apresentam febre, mal-estar, cefaleia e dor na região acometida, bem como nos linfonodos regionais.

Devido à natureza altamente infecciosa da *F. tularensis*, este microrganismo é um potencial agente de bioterrorismo, sendo classificado atualmente em uma lista seleta como agente da categoria A. Os laboratórios que tiverem um material sob suspeita de conter *F. tularensis* devem notificar os órgãos de saúde pública e enviar o isolado a um centro de referência, capaz de realizar a identificação definitiva do patógeno.

Exames diagnósticos laboratoriais

Embora a *F. tularensis* possa ser recuperada a partir das amostras clínicas listadas anteriormente, os testes diagnósticos resumem-se a estudos sorológicos. Amostras de soro pareadas, obtidas a intervalos de 2 semanas, podem revelar elevação dos títulos de aglutinação. A obtenção de um único título sérico de 1:160 será altamente sugestiva se a história clínica e os achados físicos forem compatíveis com o diagnóstico. Como os anticorpos reativos no teste de aglutinação para tularemia também reagem no teste de brucelose, ambos devem ser feitos para soros positivos; o título para a doença que acomete o paciente geralmente é 4 vezes superior ao da outra doença.

Tratamento

O tratamento com estreptomicina ou gentamicina durante 10 dias resulta em rápida melhora. A tetraciclina pode ser igualmente eficaz, mas ocorrem recidivas com maior frequência. Cloranfenicol e ciprofloxacino são outros fármacos que podem ser usados. A *F. tularensis* é resistente a todos os antibióticos β-lactâmicos pela expressão de β-lactamases.

Prevenção e controle

Os seres humanos adquirem tularemia em decorrência da manipulação de coelhos ou ratos-almiscarados infectados, ou

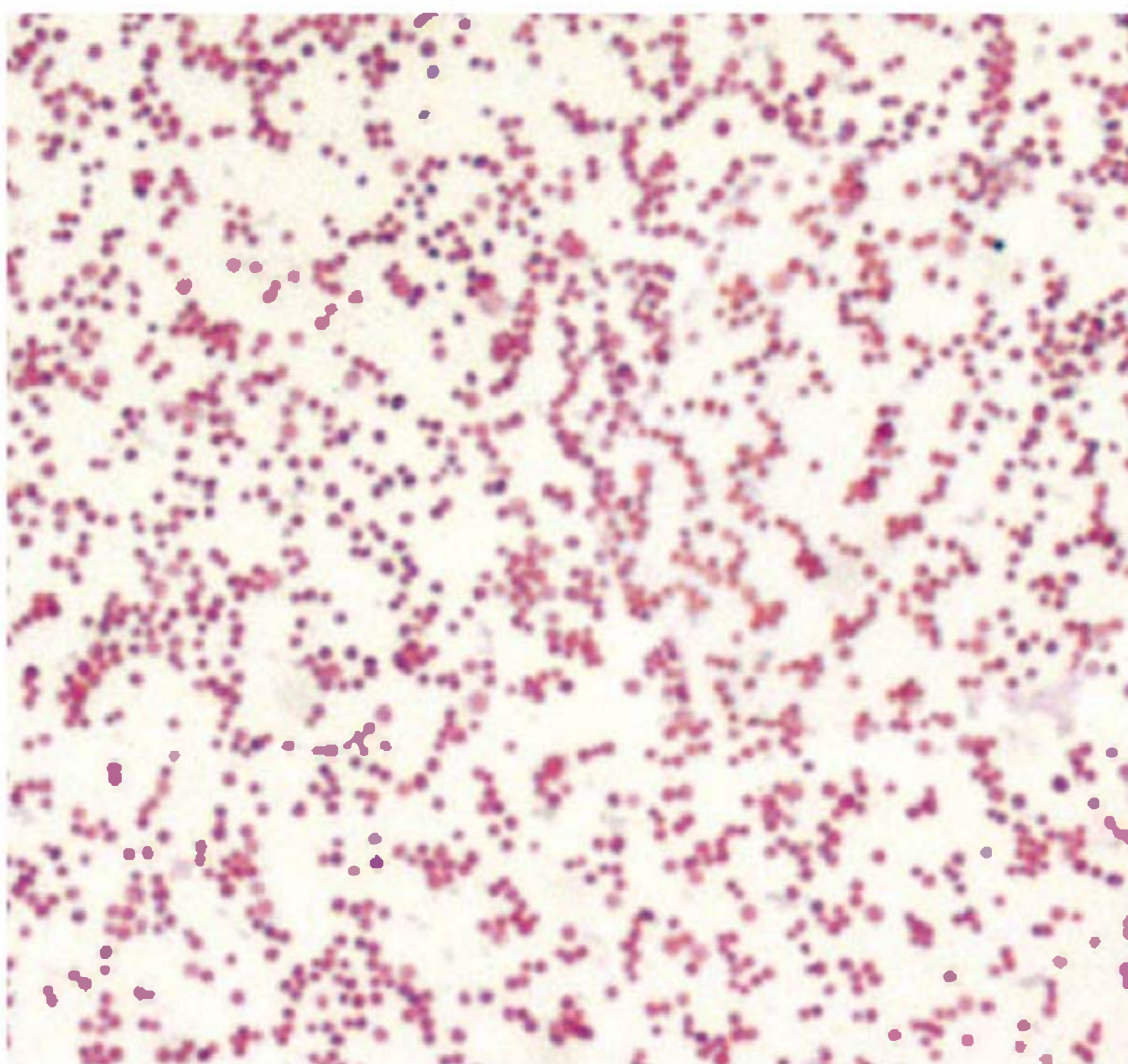


FIGURA 18.2 Coloração pelo método de Gram de *Francisella tularensis*. Estas bactérias são cocobacilos gram-negativos finos, com aproximadamente $0,2 \times 0,7 \mu\text{m}$. Aumento original de 1.000 vezes. (Cortesia de CDC Public Health Image Library.)

por picadas de carrapatos ou mosca de cervos infectados. Com menor frequência, a fonte de contaminação consiste em água ou alimentos contaminados, ou contato com cão ou gato que tenha caçado um animal selvagem infectado. O aspecto mais importante da prevenção é saber evitar essas situações. É impossível controlar a infecção em animais selvagens.

A vacina utilizando o microrganismo atenuado (*F. tularensis*) não está mais disponível para indivíduos de alto risco. Novas vacinas ainda estão em andamento.

Verificação de conceitos

- *Francisella tularensis* é um cocobacilo gram-negativo que se cora fracamente pelo método de Gram e que causa a tularemia, uma zoonose, transmitida por carrapatos através do contato direto com animais, ou raramente, por ingestão.
- Há três subespécies de *F. tularensis*. A subespécie *tularensis* (tipo A) é a mais virulenta e patogênica para o ser humano.
- Há várias manifestações clínicas da tularemia, dependendo do tipo de exposição. As formas glandulares são bem localizadas e associadas a menor mortalidade, do que as formas sépticas e inalantes.
- O diagnóstico da tularemia pode ser realizado pelo isolamento do microrganismo e por testes sorológicos.
- Os antimicrobianos utilizados como escolha terapêutica incluem: estreptomina, gentamicina, tetraciclinas, cloranfenicol e fluoroquinolonas. Em virtude de sua virulência, *F. tularensis* é considerada um agente potencial para bioterrorismo.

QUESTÕES DE REVISÃO

1. Uma mulher de 68 anos de idade procurou uma clínica por apresentar febre e aumento da dor e do inchaço no joelho esquerdo durante as últimas 3 semanas. Quatro anos atrás, colocou uma prótese no mesmo joelho. Ao ser observado, o joelho apresentava-se inchado e com a presença de líquido. Foi obtido um aspirado do fluido. Havia 15.000 células polimorfonucleares por mililitro no líquido. Não foram vistos microrganismos na coloração pelo método de Gram. Foi feita uma cultura de rotina. No quarto dia de incubação, foram observadas colônias descoradas com < 1 mm de diâmetro em placas de ágar-sangue e ágar-chocolate. O microrganismo isolado consistia em cocobacilos fracamente gram-negativos, catalase e oxidase-positivos. Foi inoculado um tubo de ureia que deu resultado positivo para a atividade de urease após incubação de 12 horas. O microrganismo com o qual a paciente provavelmente estava infectada era:
 - (A) *Haemophilus influenzae*
 - (B) *Haemophilus ducreyi*
 - (C) *Francisella tularensis*
 - (D) Espécies *Brucella* spp
 - (E) *Staphylococcus aureus*
2. Após a cultura (Questão 1) ficar positiva, foram obtidos outros dados da história clínica. Aproximadamente 4 semanas antes de iniciarem as dores no joelho, a paciente havia visitado parentes em Israel e viajado para outros países da região do Mediterrâneo. Durante a viagem, teve predileção por um alimento que foi o provável veículo de sua infecção, qual seja:
 - (A) Bananas
 - (B) Queijo de cabra não pasteurizado
 - (C) Hambúrguer raro
 - (D) Suco de laranja fresco
 - (E) Chá verde
3. Um guarda de um parque de diversões em Vermont, de 55 anos de idade, encontrou um rato-almiscarado morto em um banco próximo a um riacho. Pegou o animal, pensando que poderia ter sido abatido ilegalmente, e enterrou-o. Quatro dias depois, desenvolveu uma ulceração dolorida de 1,5 cm no dedo indicador, uma ulceração de 1 cm na testa e dores na axila direita. Ao exame físico, revelou-se uma linfadenopatia na axila direita. O mais provável é que este paciente tenha sido infectado por:
 - (A) Espécies *Brucella*
 - (B) *Rickettsia rickettsii*
 - (C) *Salmonella typhi*
 - (D) *Haemophilus ducreyi*
 - (E) *Francisella tularensis*
4. Um garoto de 1 ano e meio estava brincando com uma criança maior que tivera meningite por *Haemophilus influenzae*. Os pais do garoto consultaram o pediatra, que os tranquilizou, afirmando que o menino estaria bem, pois havia sido completamente imunizado pela vacina conjugada proteína-polirribosil ribitol fosfato (PRP). Qual é a razão para que se imunizem crianças entre 2 meses e 2 anos de idade com vacinas conjugadas proteína-polissacarídeo?
 - (A) A proteína conjugada é o toxoide diftérico, e o objetivo é que a criança desenvolva imunidade simultânea à difteria
 - (B) Crianças de 2 meses a 2 anos de idade não respondem imunologicamente a vacinas polissacarídicas que não estejam conjugadas a proteínas
 - (C) A vacina conjugada é destinada a crianças maiores e adultos
 - (D) Anticorpos maternos (transplacentários) contra o *Haemophilus influenzae* são passados para a circulação de crianças de 2 meses de vida
 - (E) Nenhuma destas opções
5. Um menino peruano de 11 anos de idade foi encaminhado ao Instituto de Tumores Cerebrais. Três meses antes, desenvolveu cefaleia e fraqueza lenta progressiva no lado direito. Uma tomografia do cérebro mostrou uma lesão no hemisfério esquerdo. Pensou-se que o menino estaria com um tumor cerebral. Não foi feita punção lombar por receio de um aumento na pressão intracraniana e herniação cerebral através do tentório cerebelar. Durante a cirurgia, foi encontrada lesão no hemisfério esquerdo. Foram feitas secções de tecido da lesão enquanto o paciente estava na sala de cirurgia. A análise microscópica das secções mostrou uma reação granulomatosa inflamatória. Não foi visto tumor. O tecido foi submetido a cultura para *Mycobacterium tuberculosis* em meio Middlebrook 7H9. Seis dias após o cultivo, o sistema automatizado detectou que a cultura estava positiva. Foram feitas coloração álcool-ácida e coloração pelo método de Gram da amostra, e ambas deram resultado negativo. Realizaram-se subculturas. Dois dias depois, foram vistas colônias muito pequenas em placa de ágar-sangue. O microrganismo consistia em pequenos cocobacilos gram-negativos, catalase e oxidase-positivos. A amostra apresentou atividade urease-positiva após 2 horas de incubação de meio contendo ureia. A criança teve uma infecção causada por:
 - (A) Espécies *Brucella*
 - (B) *Mycobacterium tuberculosis*
 - (C) *Francisella tularensis*
 - (D) *Haemophilus influenzae*
 - (E) *Moraxella catarrhalis*

6. Uma criança de 3 anos de idade desenvolve meningite por *Haemophilus influenzae*. Inicia-se a terapia com cefotaxima. Por que é usada essa cefalosporina de terceira geração em vez de ampicilina?
- Cerca de 80% dos *H. influenzae* possuem proteínas ligadoras de penicilinas modificadas que conferem resistência à ampicilina
 - O fármaco de escolha, sulfametoxazol-trimetoprima, não pode ser usado, pois a criança é alérgica a sulfonamidas
 - É mais fácil administrar cefotaxima intravenosa do que ampicilina
 - Existe uma preocupação de que a criança desenvolva alergia à penicilina rapidamente
 - Cerca de 20% dos *H. influenzae* possuem um plasmídeo que codifica a betalactamase
7. Um homem de 55 anos de idade com cárie dental grave apresenta febre há 1 mês, mal-estar e dor nas costas; agora, apresenta-se com redução moderada da respiração. O exame clínico revela um homem febril, pálido e com dispneia. Outras manifestações clínicas incluem petéquias conjuntivais, murmúrio sistólico de grau III/VI e espessamento do baço. A hemocultura apresentou um bacilo gram-negativo pleomórfico, não hemolítico e que, quando testado para os fatores X e Y, deu resultado negativo. O mais provável agente causador deste quadro é:
- Haemophilus influenzae*
 - Haemophilus ducreyi*
 - Aggregatibacter aphrophilus*
 - Actinobacillus hominis*
 - Haemophilus parainfluenzae*
8. Todas as afirmativas a seguir, a respeito das vacinas *pertussis* acelulares, estão corretas, exceto:
- Todas as formulações dessas vacinas contêm pelo menos dois antígenos
 - A vacina acelular foi substituída pela vacina celular nas séries de vacinações infantis
 - Todas as crianças devem receber cinco doses da vacina antes de ingressarem na escola
 - A vacina está aprovada somente para crianças e adolescentes
 - A vacina é tão segura e imunogênica quanto as demais vacinas celulares
9. Qual das seguintes subespécies de *Francisella tularensis* é mais virulenta em humanos?
- Tularensis*
 - Holarctica*
 - Mediasiatica*
 - Novicida*
10. Todas as afirmativas a seguir sobre o agente etiológico do cancroide estão corretas, exceto:
- O microrganismo é um bastonete gram-negativo pequeno
 - O microrganismo requer o fator X, mas não o V
 - O microrganismo cresce bem em ágar-chocolate-padrão
 - Na coloração pelo método de Gram de lesões o microrganismo ocorre em fitas
 - O microrganismo é sensível à eritromicina
11. Uma criança com três meses de idade deu entrada na emergência pediátrica com angústia respiratória grave. A criança apresentou-se desidratada e com uma linfocitose periférica acentuada. A radiografia do tórax revelou infiltrados peri-hilares. A avó, que cuida da criança, teve episódios de tosse seca por 2 semanas. O agente mais provável é:
- Haemophilus influenzae* do tipo b
 - Bordetella pertussis*
 - Streptococcus pneumoniae*
 - Chlamydia pneumoniae*
 - Bordetella bronchiseptica*
12. Na Questão 11, o fator responsável pela presença de linfocitose é:
- Uma hemaglutinina
 - A cápsula polissacarídica
 - Uma toxina do tipo A/B
 - Uma toxina termolábil
 - Uma neuraminidase
13. Todos os seguintes microrganismos causam zoonoses, exceto:
- Francisella tularensis*
 - Brucella melitensis*
 - Bordetella pertussis*
 - Bacillus anthracis*
 - Leptospira interrogans*
14. Qual das seguintes moléculas não é um fator de virulência de *Bordetella pertussis*?
- Toxina termolábil
 - Hemaglutinina filamentosa
 - Citotoxina traqueal
 - Toxina *pertussis*
 - Toxina dermonecrótica
15. Qual patógeno discutido nesse capítulo está presente na lista abaixo?
- Haemophilus influenzae*
 - Aggregatibacter aphrophilus*
 - Bordetella pertussis*
 - Francisella tularensis*
 - Todas as alternativas

Respostas

- | | | | |
|------|------|-------|-------|
| 1. D | 5. A | 9. A | 13. C |
| 2. B | 6. E | 10. C | 14. A |
| 3. E | 7. C | 11. B | 15. D |
| 4. B | 8. D | 12. C | |

REFERÊNCIAS

- Broder KR, Cortese MM, Iskander JK et al.; Advisory Committee on Immunization Practices: Preventing tetanus, diphtheria, and pertussis among adolescents: Use of tetanus toxoid, reduced diphtheria toxoid and acellular pertussis vaccines Recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP). *MMWR Recomm Rep* 2006;55(RR-3), 1–34.
- Ledeboer NA, Doern GV: *Haemophilus*. In Versalovic J, Carroll KC, Funke G et al. (editors). *Manual of Clinical Microbiology*, 10th ed. ASM Press, 2011.
- Miscellaneous fastidious gram-negative bacilli. In Winn W Jr, Allen S, Janda W et al. (editors). *Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology*, 6th ed. Lippincott Williams & Wilkins, 2006.
- Murphy TF: *Haemophilus* species (including *H. influenzae* and chancroid). In Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (editors). *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*, 7th ed. Elsevier, 2010.

- Nigrovic LE, Wingerter SL. Tularemia. *Infect Dis Clin North Am* 2008; 22:489.
- Pappas G, Akritidis N, Bosilkovski M, Tsianos E: Brucellosis. *N Engl J Med* 2005;352:2325–2336.
- Penn RL: *Francisella tularensis* (tularemia). In Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (editors). *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*, 7th ed. Elsevier, 2010.
- Petersen JM, Schriefer ME, Araj GF: *Francisella* and *Brucella*. In Versalovic J, Carroll KC, Funke G et al. (editors). *Manual of Clinical Microbiology*, 10th ed. ASM Press, 2011.
- Von Konig CHW, Riffelmann M, Coenye T: *Bordetella* and related genera. In Versalovic J, Carroll KC, Funke G et al. (editors). *Manual of Clinical Microbiology*, 10th ed. ASM Press, 2011.
- Waters V, Halperin S: *Bordetella pertussis*. In Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (editors). *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*, 7th ed. Elsevier, 2010.
- Young EJ: *Brucella* species. In Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (editors). *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*, 7th ed. Elsevier, 2010.

Yersinia e *Pasteurella*

Os microrganismos discutidos neste capítulo consistem em bastonetes gram-negativos, pleomórficos e curtos que podem exibir coloração bipolar. São catalase-positivos, oxidase-negativos e microaerofílicos ou anaeróbios facultativos. A maioria tem animais como hospedeiros naturais, mas pode provocar doença grave em seres humanos.

O gênero *Yersinia* abrange a *Yersinia pestis*, o agente etiológico da peste; *Yersinia pseudotuberculosis* e *Yersinia enterocolitica*, que constituem importantes causas de doenças diarreicas em seres humanos; e diversas outras espécies consideradas não patogênicas para seres humanos. Várias espécies de *Pasteurella* são primariamente patógenos de animais, podendo também causar doença humana.

YERSINIA PESTIS E PESTE

A peste é uma infecção de roedores silvestres, transmitida de um roedor para outro e, em certas ocasiões, de roedores para os seres humanos por picadas de pulgas. Com frequência, ocorre infecção grave que, nos séculos passados, produziu pandemias de “peste negra”, com milhões de mortes. A habilidade deste microrganismo de ser transmitido por aerossol, a gravidade e a alta mortalidade associadas à peste pneumônica tornam a *Yersinia pestis* uma potencial arma biológica.

Morfologia e identificação

Y. pestis é um bastonete gram-negativo que exibe acentuada coloração bipolar com corantes especiais, tais como Wright, Giemsa, Wayson e azul de metileno (Fig. 19.1). Não é móvel. Cresce como anaeróbio facultativo em muitos meios bacteriológicos. O crescimento é mais rápido em meios de cultura que contenham sangue ou líquidos teciduais, sendo mais rápido a 30°C. Em culturas de ágar-sangue a 37°C, as colônias podem ser muito pequenas em 24 horas. Um inóculo virulento, obtido de tecido infectado, produz colônias acinzentadas e viscosas; entretanto, após passagem no laboratório, as colônias tornam-se irregulares e rugosas. O microrganismo exibe pouca atividade bioquímica, que é ligeiramente variável.

Estrutura antigênica

Todas as espécies de *Yersinia* possuem lipopolissacarídeos com atividade endotóxica quando liberados. As três espécies patogênicas produzem antígenos e toxinas que atuam como fatores

de virulência; possuem um sistema de secreção tipo III que consiste em um complexo transmembrana que possibilita à bactéria injetar proteínas diretamente no citoplasma da célula hospedeira. As yersínias virulentas produzem antígenos V e W, codificados por genes em um plasmídeo de aproximadamente 70 kb, essencial para a virulência. Os antígenos V e W produzem o cálcio necessário ao crescimento a 37°C. Comparada com outras yersínias patogênicas, a *Y. pestis* possui plasmídeos adicionais. A pPCP1 é um plasmídeo de 9,5 kb que contém genes que produzem uma protease ativadora do plasminogênio com atividade coagulase dependente da temperatura (20 a 28°C, temperatura da pulga) e atividade fibrinolítica (35 a 37°C, temperatura do hospedeiro). Este fator está envolvido na disseminação do organismo da pulga ao local da infecção. O plasmídeo pFra/pMT (80 a 101 kb) codifica uma proteína capsular (fração F1) que é produzida principalmente a 37°C e confere propriedades antifagocíticas. Além disso, esse plasmídeo contém genes que codificam a fosfolipase D, que é necessária para a sobrevivência do organismo no trato intestinal da pulga.

As três yersínias patogênicas possuem uma ilha de patogenicidade (PAI) que codifica um sideróforo (ver Cap. 9), a yersiniabactina.

Entre as várias exotoxinas produzidas, uma é letal para os camundongos em concentrações de 1 µg. Essa proteína homogênea (massa molecular de 74.000) provoca bloqueio beta-adrenérgico, mostrando-se cardiotoxica em animais. Seu papel na infecção humana não é conhecido.

Patogênese e patologia

Quando uma pulga se alimenta de um roedor infectado por *Y. pestis*, os microrganismos ingeridos multiplicam-se no intestino da pulga e, favorecidos pela coagulase, bloqueiam o seu proventrículo, de modo que nenhum alimento pode passar. Subsequentemente, a pulga “bloqueada” e faminta pica ferozmente, e o sangue aspirado, contaminado por *Y. pestis* proveniente da pulga, é regurgitado na ferida da picada. Os microrganismos inoculados podem ser fagocitados por células polimorfonucleares e macrófagos. A *Y. pestis* é destruída pelas células polimorfonucleares, mas multiplica-se nos macrófagos. Como as bactérias se multiplicam a 37°C, produzem uma proteína antifagocítica e, posteriormente, tornam-se capazes de resistir à fagocitose. Os patógenos alcançam rapidamente os vasos linfáticos, e verifica-se o desenvolvimento de intensa inflamação hemorrágica nos linfonodos aumentados, que podem sofrer necrose e tornar-se flutuantes. Embora a invasão possa

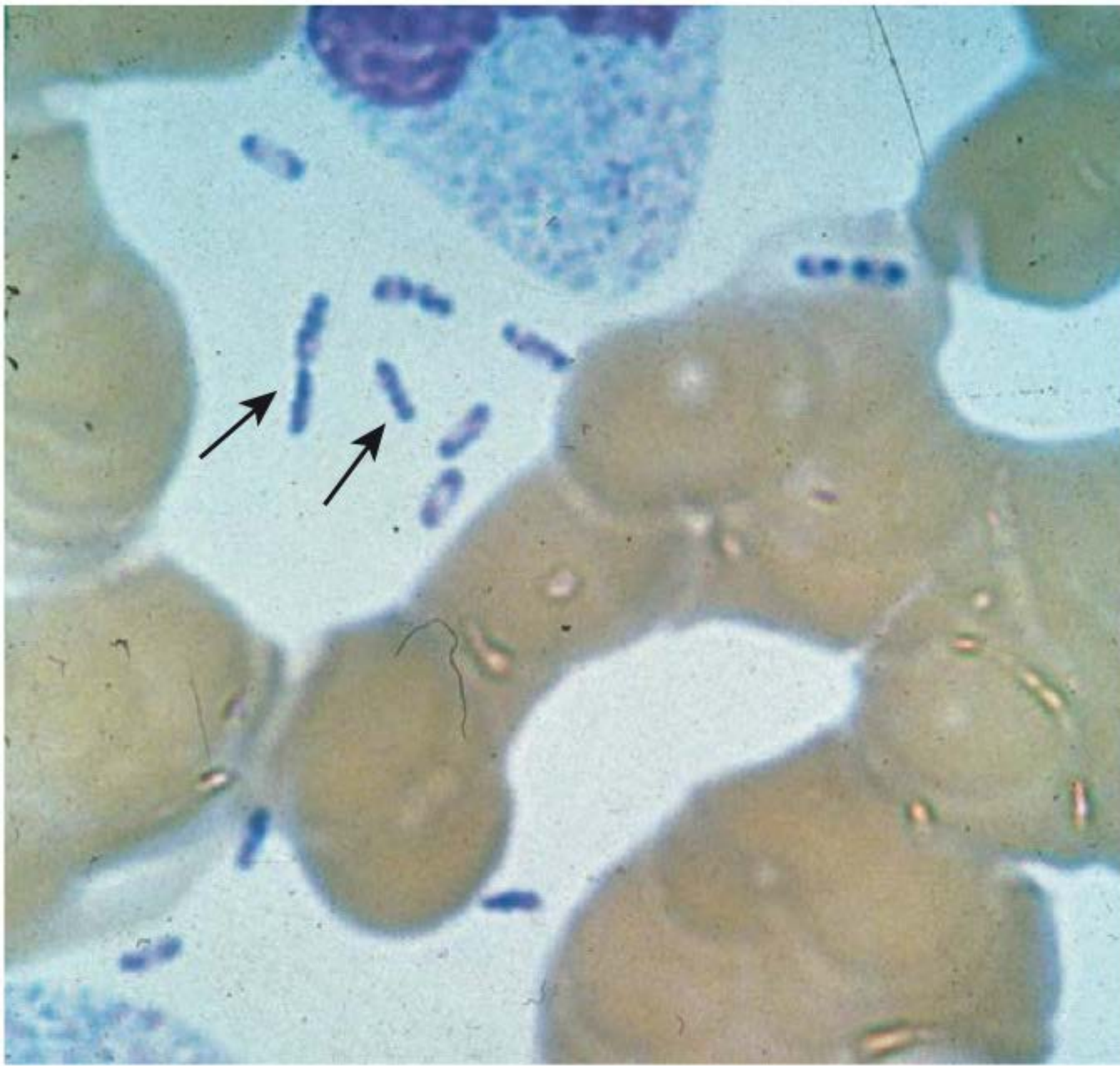


FIGURA 19.1 *Yersinia pestis* (setas) no sangue, coloração pelo método de Wright-Giemsa. Alguns microrganismos de *Yersinia pestis* têm coloração bipolar, que lhes dá um aspecto de grampo. Aumento original de 1.000 vezes. (Cortesia de K. Gage, Plague Section, Centers for Disease Control and Prevention, Ft. Collins, CO.)

ser interrompida nesse estágio, a *Y. pestis* frequentemente alcança a corrente sanguínea e dissemina-se em ampla escala. Podem surgir lesões hemorrágicas e necróticas em todos os órgãos; meningite, pneumonia e pleuropericardite sorrossanguinolenta constituem características proeminentes.

A peste pneumônica primária resulta da inalação de perdigotos infecciosos (geralmente de um paciente com tosse) e é caracterizada por consolidação hemorrágica, seps e morte.

Manifestações clínicas

As manifestações clínicas da peste dependem da via de exposição. Depois de um período de incubação de 2 a 7 dias, na forma bubônica, o paciente apresenta febre alta e linfadenopatia dolorosa, geralmente com acentuado aumento e hipersensibilidade dos linfonodos (“bubões”) no pescoço, na virilha ou nas axilas. Podem ocorrer vômitos e diarreia, na forma séptica inicial da doença. Posteriormente, a coagulação intravascular disseminada (CID) resulta em hipotensão, alteração do estado mental, bem como insuficiência renal e cardíaca. Na fase terminal, podem aparecer sinais de pneumonia e meningite. A *Y. pestis* multiplica-se intravascularmente, podendo ser identificada em esfregaços de sangue. A peste pneumônica primária resulta da inalação direta do microrganismo para o pulmão. Indivíduos frequentemente têm um curso fulminante com dor torácica, tosse, hemoptise e angústia respiratória grave.

Exames diagnósticos laboratoriais

Deve-se suspeitar da presença de peste em pacientes febris que foram expostos a roedores em áreas sabidamente endêmicas. O

rápido reconhecimento e a confirmação laboratorial da doença são essenciais para se instituir um tratamento que possa salvar a vida do paciente.

A. Amostras

Obtém-se uma amostra de sangue para cultura e aspirados dos linfonodos aumentados para esfregaços e culturas. O soro da fase aguda e o da fase convalescente podem ser examinados para determinação dos níveis de anticorpos. Na pneumonia, faz-se uma cultura da amostra de escarro; na possibilidade de meningite, obtém-se uma amostra de líquido cefalorraquidiano para esfregaço e cultura.

B. Esfregaços

A *Y. pestis* é um pequeno bacilo gram-negativo que aparece como células únicas, como pares ou cadeias curtas em materiais clínicos. As colorações de Wright, Giemsa e Wayson podem ser de maior utilidade quando o material a ser corado provém de um bubão suspeito ou de uma hemocultura positiva devido ao fato de o patógeno exibir notável aspecto bipolar (apresentando forma de pinos de segurança) com o uso desses corantes, o que não é tão evidente em uma coloração direta pelo método de Gram. Métodos de coloração direta mais específicos (possivelmente disponíveis em laboratórios de referência) incluem o uso de anticorpos fluorescentes direcionados contra o antígeno capsular F1.

C. Cultura

Todos os materiais obtidos são cultivados em ágar-sangue, ágar-chocolate e placas de ágar de MacConkey, bem como em caldo de infusão cérebro-coração (BHI). O crescimento em meios de cultura sólidos pode ser lento, necessitando de mais de 48 horas, porém as hemoculturas são frequentemente positivas em 24 horas. É possível identificar as culturas por meio de reações bioquímicas. A *Y. pestis* produz colônias não fermentadoras de lactose em ágar de MacConkey e cresce melhor a 25°C do que a 37°C. O microrganismo é catalase-positivo, indol, oxidase e urease-negativos, não móvel. As duas últimas reações são úteis para se diferenciar *Y. pestis* de outras yersínias patogênicas. Todo microrganismo com essas características deve ser encaminhado para um laboratório de referência para a realização de testes confirmatórios. A identificação definitiva das culturas é mais bem efetuada por imunofluorescência ou por lise por um bacteriófago específico (confirmação obtida de laboratórios do departamento de saúde estatal e consultas aos Centers for Disease Control and Prevention (CDC), Plague Branch, Fort Collins, Colorado, EUA.

Todas as culturas são altamente infecciosas e devem ser manipuladas com extrema cautela, em cabines de segurança biológica.

D. Sorologia

Em pacientes já vacinados, a obtenção de um título de anticorpos no soro da fase convalescente de 1:16 ou mais é considerada evidência presuntiva de infecção por *Y. pestis*. A elevação dos títulos em duas amostras sequenciais confirma o diagnóstico sorológico.

Tratamento

A não ser que seja imediatamente tratada, a peste pode estar associada a uma taxa de mortalidade de quase 50%, e a peste pneumônica, de quase 100%. A estreptomicina constitui o fármaco de escolha. A amicacina, o aminoglicosídeo mais disponível, mostrou-se efetiva. A doxicilina (tetraciclina) e as fluoroquinolonas são fármacos alternativos e, às vezes, são administradas em combinação com a estreptomicina ou com gentamicina. Raramente tem sido observada resistência da *Y. pestis* a fármacos.

Epidemiologia e controle

A peste é uma infecção de roedores silvestres (camundongos do campo, gerbilos, toupeiras, gambás e outros animais) que ocorre em muitas partes do mundo. As principais áreas enzooticas são a Índia, o Sudeste Asiático (particularmente o Vietnã), a África e Américas do Norte e do Sul. Os Estados do Oeste dos EUA e o México sempre contêm reservatórios da infecção. Ocorrem surtos epizooticos intermitentemente, com elevada taxa de mortalidade; nessas ocasiões, a infecção pode propagar-se para roedores domésticos (p. ex., ratos) e outros animais (p. ex., gatos), de modo que os seres humanos podem ser infectados por picadas de pulgas ou por contato. O vetor mais comum da peste é a pulga do rato (*Xenopsylla cheopis*), embora outras pulgas também possam transmitir a infecção.

O controle da peste exige investigação dos animais infectados, vetores e contatos humanos (nos EUA, essa responsabilidade cabe aos órgãos municipais e do Estado, com apoio do Plague Branch dos Centers for Disease Control and Prevention — [CDC]) e sacrifício dos animais infectados pela peste. Se for diagnosticado algum caso em ser humano, será preciso notificar imediatamente as autoridades sanitárias. Todos os pacientes sob suspeita de peste devem ser isolados, particularmente nos casos em que não foi excluída a possibilidade de comprometimento pulmonar. Todas as amostras devem ser tratadas com extrema cautela. Os contatos de pacientes sob suspeita de peste pneumônica devem receber doxiciclina como quimioprofilaxia.

Nem sempre as vacinas inativadas estão disponíveis. Devido à preocupação com o bioterrorismo, inúmeras vacinas estão atualmente em desenvolvimento.

YERSINIA ENTEROCOLITICA E YERSINIA PSEUDOTUBERCULOSIS

Trata-se de bastonetes gram-negativos que não fermentam a lactose, sendo urease-positivos e oxidase-negativos. Crescem melhor a 25°C e são móveis a essa temperatura, porém imóveis a 37°C. Costumam ser encontrados no trato intestinal de uma variedade de animais, nos quais podem causar doença. São transmissíveis aos seres humanos, nos quais podem provocar uma variedade de síndromes clínicas.

Y. enterocolitica apresenta mais de 70 sorotipos e a maioria dos microrganismos isolados de doença humana pertence aos sorotipos O:3, O:8 e O:9. Existem notáveis diferenças geográficas na distribuição dos sorotipos da *Y. enterocolitica*. *Y. pseudotuberculosis* ocorre em forma de pelo menos seis sorotipos,

mas o sorotipo O:1 é responsável pela maioria das infecções em seres humanos. *Y. enterocolitica* pode produzir uma enterotoxina termoestável, mas o papel dessa toxina na diarreia associada à infecção não está bem definido.

Y. enterocolitica foi isolada de roedores, animais domésticos (p. ex., carneiros, gado bovino, suínos, cães e gatos) e água contaminada por esses animais. É provável que ocorra transmissão para os seres humanos pela contaminação de alimentos, bebidas ou fômites. *Y. pseudotuberculosis* ocorre em animais domésticos e de fazenda, bem como em aves, que excretam os microrganismos nas fezes. A infecção humana provavelmente resulta da ingestão de materiais contaminados com fezes de animais. A transmissão de uma pessoa para outra é provavelmente rara no caso desses microrganismos.

Patogênese e manifestações clínicas

É necessária a penetração de um inóculo de 10^8 a 10^9 de yersínias no trato alimentar para causar infecção. Durante o período de incubação de 4 a 7 dias, os microrganismos multiplicam-se na mucosa intestinal, em particular no íleo. Essa multiplicação resulta em inflamação e ulceração, aparecendo leucócitos nas fezes. O processo pode estender-se aos linfonodos mesentéricos e raramente resulta em bacteriemia.

Os sintomas iniciais consistem em febre, dor abdominal e diarreia. A diarreia varia de aquosa a sanguinolenta e pode ser causada por uma enterotoxina ou por invasão da mucosa. Às vezes, a dor abdominal é intensa e localiza-se no quadrante inferior direito, sugerindo apendicite (mais comum com *Y. pseudotuberculosis*). Uma a 2 semanas após o início, alguns pacientes com antígeno de histocompatibilidade HLA-B 27 desenvolvem artralgia, artrite e eritema nodoso, o que sugere uma reação imunológica à infecção. Em casos muito raros, a infecção por *Yersinia* provoca pneumonia, meningite ou sepse; na maioria dos casos, é autolimitada. A *Y. enterocolitica* tem sido associada a infecções pós-transfusionais. Isso é consequência da habilidade desse microrganismo, de se multiplicar em temperaturas de refrigeração sem ser transmitido por um indivíduo assintomático.

Exames diagnósticos laboratoriais

A. Amostras

As amostras podem ser de fezes, sangue ou material obtido à exploração cirúrgica. Esfregaços corados não contribuem para o diagnóstico.

B. Cultura

O número de microrganismos nas fezes pode ser pequeno e pode ser aumentado por “enriquecimento a frio”: uma pequena quantidade de fezes ou um *swab* retal são colocados em solução salina tamponada, de pH 7,6, e mantidos a 4°C durante 2 a 4 semanas. Muitos microrganismos fecais não sobrevivem, mas ocorre multiplicação da *Y. enterocolitica*. Os repiques efetuados a intervalos em ágar de MacConkey podem favorecer o aparecimento de colônias desses microrganismos. Como alternativa, a maioria dos laboratórios clínicos usa os meios seletivos para *Yersinia*, como o ágar cefsulodina-irgasan-novobiocina (CIN)

incubado à temperatura ambiente por vários dias. *Y. enterocolitica* forma colônias rosa-pálidas com um centro vermelho-escuro (colônia “olho de boi”).

C. Sorologia

Em amostras de soro pareadas, coletadas a intervalos de duas ou mais semanas, pode-se observar uma elevação nos títulos de anticorpos aglutinantes, mas as reações cruzadas entre a *Yersinia* e outros microrganismos (vibriões, salmonelas e brucelas) podem confundir os resultados.

Tratamento

As infecções por *Yersinia* com diarreia são, em sua maioria, autolimitadas, e os possíveis benefícios da terapia antimicrobiana permanecem desconhecidos. Em geral, *Y. enterocolitica* é suscetível a aminoglicosídeos, cloranfenicol, tetraciclina, sulfametoxazol-trimetoprima, piperacilina, cefalosporinas de terceira geração e fluoroquinolonas. Em geral, a espécie mostra-se resistente à ampicilina e às cefalosporinas de primeira geração. A sepse ou meningite por *Yersinia* estão associadas a elevada taxa de mortalidade, embora as mortes sejam observadas principalmente em pacientes imunocomprometidos. A sepse causada por *Yersinia* pode ser tratada com sucesso mediante o uso de cefalosporinas de terceira geração (possivelmente em combinação com um aminoglicosídeo) ou fluoroquinolona (possivelmente em combinação com outro antimicrobiano). Nos casos em que as manifestações clínicas indicam fortemente a possibilidade de apendicite ou adenite mesentérica, a exploração cirúrgica tem sido a regra, a não ser que vários casos simultâneos indiquem a probabilidade de infecção por *Yersinia*.

Prevenção e controle

O contato com animais domésticos e de fazenda, bem como com suas fezes ou materiais contaminados por elas, provavelmente é responsável pela maioria das infecções humanas. Em certas ocasiões, a carne e os laticínios foram apontados como fontes de infecção, e a ocorrência de surtos em grupos foi atribuída a bebidas ou alimentos contaminados. As precauções sanitárias convencionais provavelmente são úteis. Não existem medidas preventivas específicas.

Verificação de conceitos

- As espécies de *Yersinia* são patógenos que causam zoonoses, que começam desde infecções gastrintestinais brandas a doenças graves com alto índice de mortalidade como a peste.
- *Y. pestis* é transmitida para seres humanos através da picada da pulga infectada, embora a inalação possa ser outra importante via de infecção. *Y. pestis* expressa diferentes fatores de virulência codificados por plasmídeos, que permitem sua sobrevivência no intestino da pulga e que contribuí para as manifestações clínicas graves observadas no hospedeiro humano.
- Um bubão (um linfonodo supurado aumentado) formado próximo da ferida, acompanhada de febre é a forma mais comum da peste. A partir da lesão localizada, a infecção pode disseminar-se, provocando a forma da septicêmica da doença.

- O tratamento consiste em “tratamento de suporte” e antibióticoterapia com estreptomicina, gentamicina, doxiciclina ou fluoroquinolona.
- *Y. enterocolitica* e *Y. pseudotuberculosis* causam gastroenterites ou linfadenite mesentérica, após ingestão de alimento ou água contaminados.
- Espécies de *Yersinia* podem ser recuperadas das fezes de pacientes infectados, utilizando meios seletivos como o ágar cefsulodina-irgasan-novobiocina (CIN) incubado à temperatura ambiente.
- O tratamento das gastroenterites causadas por *Yersinia* consiste no uso de sulfametoxazol-trimetoprima, doxiciclina ou fluoroquinolona.

PASTEURELLA

As espécies de *Pasteurella* são primariamente patógenos de animais, mas podem causar uma variedade de doenças humanas. As pasteurelas são cocobacilos gram-negativos imóveis que exibem aspecto bipolar nos esfregaços corados. Trata-se de microrganismos aeróbios ou anaeróbios facultativos que crescem rapidamente em meios bacteriológicos comuns a 37°C. Todas as espécies são oxidase-positivas e catalase-positivas, mas diferem quanto às outras reações bioquímicas.

Pasteurella multocida ocorre no mundo inteiro nas vias respiratórias e no trato gastrintestinal de muitos animais silvestres e domésticos. Talvez seja o microrganismo mais comum em feridas de seres humanos causadas por mordidas de cães e gatos. Trata-se de uma das causas comuns de septicemia hemorrágica em uma variedade de animais, como coelhos, ratos, cavalos, carneiros, aves domésticas, gatos e suínos. Além disso, pode provocar infecções humanas em muitos sistemas e, às vezes, fazer parte da microbiota humana normal.

Pasteurella bettyae foi isolada de infecções do trato genital humano e de recém-nascidos. Seu *habitat* é desconhecido.

Pasteurella pneumotropica é um habitante normal das vias respiratórias, bem como do intestino de camundongos e gatos, e pode causar pneumonia ou sepse quando há desequilíbrio entre hospedeiro e parasito. Foram relatadas algumas infecções humanas após mordidas de animais.

Manifestações clínicas

A apresentação mais comum consiste em história de mordida de animal, seguida, em poucas horas, pelo aparecimento agudo de vermelhidão, edema e dor. A linfadenopatia regional é variável, e a febre costuma ser baixa. Às vezes as infecções por *Pasteurella* manifestam-se em forma de bacteriemia ou infecção respiratória crônica, sem conexão evidente com animais.

P. multocida é sensível à maior parte dos antimicrobianos. A penicilina G é considerada o fármaco de escolha para as infecções por *P. multocida* resultantes de mordidas de animais. A tetraciclina e as fluoroquinolonas são os fármacos alternativos.

QUESTÕES DE REVISÃO

1. Um homem de 18 anos de idade residente no Arizona, EUA, chegou a uma unidade de emergência queixando-se de febre, dor na virilha esquerda e diarreia nos últimos 2 dias. Ao ser examinado,

- mostrava-se afebril; o pulso era de 126 batimentos/min, a média respiratória de 20/min, e a pressão sanguínea, de 130/80 mmHg. Foram observados inchaço e tumefação na virilha esquerda. Diagnosticou-se uma distensão no músculo da virilha, atribuída a uma queda ocorrida 2 dias antes. O paciente foi tratado com anti-inflamatório não esteroide e liberado. No dia seguinte, relatou estar se sentindo fraco, com dificuldade de respirar, e que sofrera uma queda durante o banho. Foi transportado para um hospital de emergência, onde morreu logo após dar entrada. Foram feitas hemoculturas, que deram resultado positivo para *Yersinia pestis*. A investigação epidemiológica indicou que o paciente provavelmente se infectara como resultado de picada de pulga infectada com *Y. pestis* enquanto caminhava em um campo de uma colônia de cães. (Ver Cap. 48.) Qual das seguintes afirmativas sobre a patogênese da praga é correta?
- Y. pestis* produz uma coagulase quando incubada a 28°C
 - Não existe risco de pneumonia causada pela transmissão de *Y. pestis* de pessoa a pessoa
 - Os microrganismos da *Y. pestis* multiplicam-se em células polimorfonucleares
 - Após a picada por uma pulga infectada, a infecção por *Y. pestis* raramente dissemina-se para fora do local da picada e dos linfonodos regionais
 - Y. pestis* é transmitida para animais (e seres humanos) pelas fezes da pulga quando esta se alimenta
- O fármaco de escolha para o tratamento do paciente da Questão 1 pode ser:
 - Ampicilina
 - Cefotaxima
 - Levofloxacino
 - Eritromicina
 - Estreptomina
 - Yersinia pestis* entrou na América do Norte por San Francisco, em 1890, levada por ratos em navios oriundos de Hong Kong, local em que ocorreu uma epidemia de peste. O reservatório corrente de *Y. pestis* nos EUA é:
 - Gatos urbanos sem dono
 - Ratos urbanos
 - Vacas domesticadas
 - Coiotes
 - Roedores rurais silvestres
 - Qual das seguintes alternativas geralmente não é considerada um agente potencial de bioterrorismo e guerra biológica?
 - Yersinia pestis*
 - Toxina botulínica
 - Streptococcus pyogenes*
 - Espécies de *Brucella*
 - Bacillus anthracis*
 - Um garoto de 8 anos de idade foi mordido por um gato selvagem. Dois dias depois, a ferida estava vermelha e inchada, drenando um líquido purulento. Foi cultivada *Pasteurella multocida* a partir da ferida. O fármaco de escolha para tratar esta infecção é:
 - Amicacina
 - Eritromicina
 - Gentamicina
 - Penicilina G
 - Clindamicina
 - As pessoas que tiveram contato estreito com pacientes sob suspeita de apresentar pneumonia da peste devem receber qual dos seguintes agentes como quimioprofilaxia?
 - Gentamicina
 - Cefazolina
 - Rifampicina
 - Penicilina
 - Doxiciclina
 - Em um paciente com a forma bubônica da peste, todas as amostras a seguir são aceitáveis para o diagnóstico, *exceto*:
 - Cultura de fezes em ágar entérico de Hektoen
 - Hemocultura com o uso dos meios laboratoriais de rotina
 - Cultura de um aspirado de linfonodo do sangue em ágar de MacConkey
 - Sorologia de fase aguda e convalescente
 - Coloração de imuno-histoquímica de tecidos de linfonodo
 - Todas as afirmativas a seguir sobre o plasmídeo pFra/pMT de *Yersinia pestis* são verdadeiras, *exceto*:
 - Codifica para proteína capsular (fração FI) que confere propriedades antifagocíticas
 - Contém genes que produzem protease ativadora do plasminogênio, que apresenta uma atividade coagulase dependente da temperatura
 - Contém genes que codificam a fosfolipase D que é necessária para a sobrevivência do microrganismo no intestino da pulga
 - É único em *Y. pestis*
 - Codifica fatores que são importantes para a sobrevivência do microrganismo na pulga e no homem
 - Todas as afirmativas a seguir sobre a epidemiologia de infecções causadas por *Yersinia enterocolitica* estão corretas, *exceto*:
 - A maioria das infecções humanas é causada pelo sorotipo O:1.
 - Os seres humanos adquirem a infecção pela ingestão de alimentos ou bebidas contaminados por animais ou produtos animais
 - A disseminação de uma pessoa para outra é bastante comum
 - É necessário um grande inóculo para causar infecção
 - A infecção é mais prevalente em pessoas com o antígeno de histocompatibilidade HLA-B27
 - Qual das seguintes espécies de *Pasteurella* tem sido associada a infecções do trato genital feminino e de recém-nascidos?
 - Pasteurella multocida*
 - Pasteurella pneumotropica*
 - Pasteurella ureae*
 - Pasteurella bettyae*
 - No isolamento de *Yersinia enterocolitica* das fezes de um paciente com gastroenterites é utilizado o seguinte meio de cultura:
 - Ágar Cefsulodina-irgasan-novobiocina
 - Ágar xilose-lisina-descardoxilato
 - Ágar entérico Hektoen
 - Ágar de Regan-Lowe
 - Ágar de MacConkey
 - Qual dos seguintes microrganismos pode causar reação transfusional, mesmo se o doador é assintomático?
 - Pasteurella multocida*
 - Escherichia coli*
 - Pasteurella bettyae*
 - Yersinia enterocolitica*
 - Nenhuma das alternativas acima
 - Um estudante de 25 anos de idade dá entrada na sala operatória com febre, dor abdominal e leucocitose sugestiva de apendicite. Durante a operação, o apêndice apresentou-se normal, porém com inúmeros nódulos linfáticos. O possível diagnóstico é:

- (A) Infecção por Epstein-Barr provocando mononucleose atípica
 (B) Linfadenite mesentérica causada por *Y. pseudotuberculosis*
 (C) Peste gastrointestinal
 (D) Shigelose atípica
 (E) Linfadenite causada por *Pasteurella pneumotropica*
14. A fonte típica da infecção no caso apresentado na Questão 13 é?
- (A) Contato com a saliva de gato
 (B) Ingestão acidental de fezes de cão da pradaria
 (C) Ingestão de alimento ou água contaminados
 (D) Contato direto com indivíduo contaminado
 (E) Picada de artrópode infectado
15. Um microrganismo suspeito de ser *Yersinia pestis* é isolado de um paciente com sepse. O isolado é catalase-positiva, oxidase e urease-negativa e imóvel. Nesse ponto, o que deveria ser feito?
- (A) Nada, o laboratório confirmou o diagnóstico
 (B) Inocular o isolado em um kit de identificação ou em um sistema automatizado para confirmação
 (C) Chamar a polícia, pois trata-se de uma possível ação terrorista
 (D) Enviar o isolado para o laboratório de referência para confirmação
 (E) Enviar o isolado para sequenciamento

Respostas

- | | | | |
|------|------|-------|-------|
| 1. A | 5. D | 9. C | 13. B |
| 2. E | 6. E | 10. D | 14. C |
| 3. E | 7. A | 11. A | 15. D |
| 4. C | 8. B | 12. D | |

REFERÊNCIAS

- Dennis DT, Mead PS: *Yersinia* species, including plague. In Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (editors). *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*, 7th ed. Elsevier, 2010.
- Prentice MB, Rahalson L: Plague. *Lancet* 2007;369:1196–1207.
- Schriefer ME, Petersen JM: *Yersinia*. In Versalovic J, Carroll KC, Funke G et al. (editors). *Manual of Clinical Microbiology*, 10th ed. ASM Press, 2011.
- Zbinden R, von Graevenitz A: *Actinobacillus, Capnocytophaga, Eikenella, Kingella, Pasteurella*, and other fastidious or rarely encountered gram-negative rods. In Versalovic J, Carroll KC, Funke G. et al. (editors). *Manual of Clinical Microbiology*, 10th ed. ASM Press, 2011.
- Zurlo JJ: *Pasteurella* species. In Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (editors). *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*, 7th ed. Elsevier, 2010.

Neissérias

A família Neisseriaceae abrange os gêneros *Neisseria*, *Kingella*, *Eikenella*, *Simonsiella* e *Alysiella* (ver Cap. 16). As neissérias são cocos gram-negativos que habitualmente ocorrem em pares (diplococos). A *Neisseria gonorrhoeae* (gonococos) e a *Neisseria meningitidis* (meningococos) são patogênicas para os seres humanos e, em geral encontradas em associação com células polimorfonucleares ou no interior dessas células. Algumas neissérias são habitantes normais das vias respiratórias humanas, raramente ou nunca provocam doença, e são encontradas fora das células. O Quadro 20.1 mostra uma lista dos membros do grupo.

Os gonococos e os meningococos estão estreitamente relacionados, com 70% de homologia do DNA, e são diferenciados com base em alguns testes laboratoriais e certas características específicas: os meningococos possuem cápsulas de polissacarídeo, o que não ocorre com os gonococos, e os meningococos raramente têm plasmídeos, enquanto a maioria dos gonococos os possui. Entretanto, o aspecto mais importante é que as duas espécies são diferenciadas pelos quadros clínicos habituais das doenças que provocam: tipicamente, os meningococos são encontrados nas vias respiratórias superiores e causam meningite, enquanto os gonococos provocam infecções genitais. Todavia, observa-se uma superposição nos espectros clínicos das doenças causadas por gonococos e meningococos.

Morfologia e identificação

A. Microrganismos típicos

As espécies típicas de *Neisseria* são diplococos gram-negativos imóveis, com cerca de 0,8 µm de diâmetro (Figs. 20.1 e 20.2). Os cocos isolados são reniformes. Quando os microrganismos ocorrem aos pares, os lados adjacentes são achatados ou côncavos.

B. Cultura

Após 48 horas em meios enriquecidos (p. ex., meio de Thayer-Martin, Martin-Lewis, GC-Lect e New York City), os gonococos e os meningococos formam colônias mucoides convexas, elevadas e brilhantes, com 1 a 5 mm de diâmetro. As colônias são transparentes ou opacas, não pigmentadas e não hemolíticas. *Neisseria flavescens*, *Neisseria cinerea*, *Neisseria subflava* e *Neisseria lactamica* podem exibir pigmentação amarela. *Neisseria sicca* produz colônias opacas, quebradiças e enrugadas. *Moraxella catarrhalis* forma colônias opacas não pigmentadas ou cinza-rosadas.

C. Características de crescimento

As neissérias crescem melhor em condições aeróbias, porém algumas crescem em ambiente anaeróbio. Têm exigências complexas para seu crescimento. A maioria desses microrganismos oxida carboidratos, produzindo ácido, mas não gás, e seus padrões de fermentação de carboidratos proporcionam um meio para que se possa distingui-los (Quadro 20.1). As neissérias produzem oxidase e reações positivas para oxidase. O teste da oxidase é essencial para sua identificação. Quando as bactérias são colocadas em papel de filtro embebido com cloridrato de tetrametilparafenilendiamina (oxidase), as neissérias rapidamente adquirem uma cor púrpura escura.

Os meningococos e os gonococos crescem melhor em meios de cultura que contenham substâncias orgânicas complexas, como sangue aquecido, hemina e proteínas animais, em uma atmosfera que contenha 5% de CO₂ (p. ex., recipiente com vela). O crescimento é inibido por alguns componentes tóxicos do meio (p. ex., ácidos graxos ou sais). Os microrganismos são rapidamente destruídos por ressecamento, luz solar, calor úmido e por muitos desinfetantes. Produzem enzimas autolíticas que resultam em rápido intumescimento, bem como lise *in vitro* a 25°C e pH alcalino.

NEISSERIA GONORRHOEAE

Os gonococos só oxidam a glicose e diferem das outras neissérias antigenicamente; em geral, produzem colônias menores do que as outras neissérias. Os gonococos que necessitam de arginina, hipoxantina e uracila (auxotipo Arg⁻, Hyx⁻ e Ura⁻) tendem a crescer mais lentamente na cultura primária. Os gonococos isolados de amostras clínicas ou mantidos por repicagem seletiva formam pequenas colônias típicas de bactérias dotadas de *pili*. No repique não seletivo, aparecem também colônias maiores contendo gonococos sem *pili*. Ocorrem ainda variantes opacas e transparentes de ambos os tipos de colônias, pequenas e grandes; as colônias opacas estão associadas à presença de uma proteína superficial exposta, Opa.

Estrutura antigênica

N. gonorrhoeae é antigenicamente heterogênea e tem a capacidade de modificar suas estruturas de superfície *in vitro* — e presumivelmente *in vivo* — para evitar as defesas do hospedeiro. As estruturas de superfície são especificadas a seguir.

QUADRO 20.1 Reações bioquímicas de neissérias e *Moraxella catarrhalis*

	Crescimento em meio TMM, ML ou NYC ^a	Ácido formado a partir de				
		Glicose	Maltose	Lactose	Sacarose ou frutose	DNAse
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	+	+	-	-	-	-
<i>Neisseria meningitidis</i>	+	+	+	-	-	-
<i>Neisseria lactamica</i>	+	+	+	-	-	-
<i>Neisseria sicca</i>	-	+	+	-	+	-
<i>Neisseria subflava</i>	-	+	+	-	±	-
<i>Neisseria mucosa</i>	-	+	+	-	+	-
<i>Neisseria flavescens</i>	-	-	-	-	-	-
<i>Neisseria cinerea</i>	±	-	-	-	-	-
<i>Neisseria polysaccharea</i>	±	+	+	-	-	-
<i>Neisseria elongata</i>	-	-/w	-	-	-	-
<i>Moraxella catarrhalis</i>	-	-	-	-	-	+

^a TMM, meio de Thayer-Martin modificado; ML, meio de Martin-Lewis; NYC, meio de New York City.

A. Pili (fímbrias)

Os *pili* são apêndices piliformes que se estendem por vários micrômetros a partir da superfície do gonococo. Aumentam a fixação do microrganismo às células do hospedeiro e a resistência à fagocitose. São constituídos de proteínas em forma de estaca (massa molecular [MM] de 17.000 a 21.000), denominadas pilinas. A extremidade aminoterminal da molécula

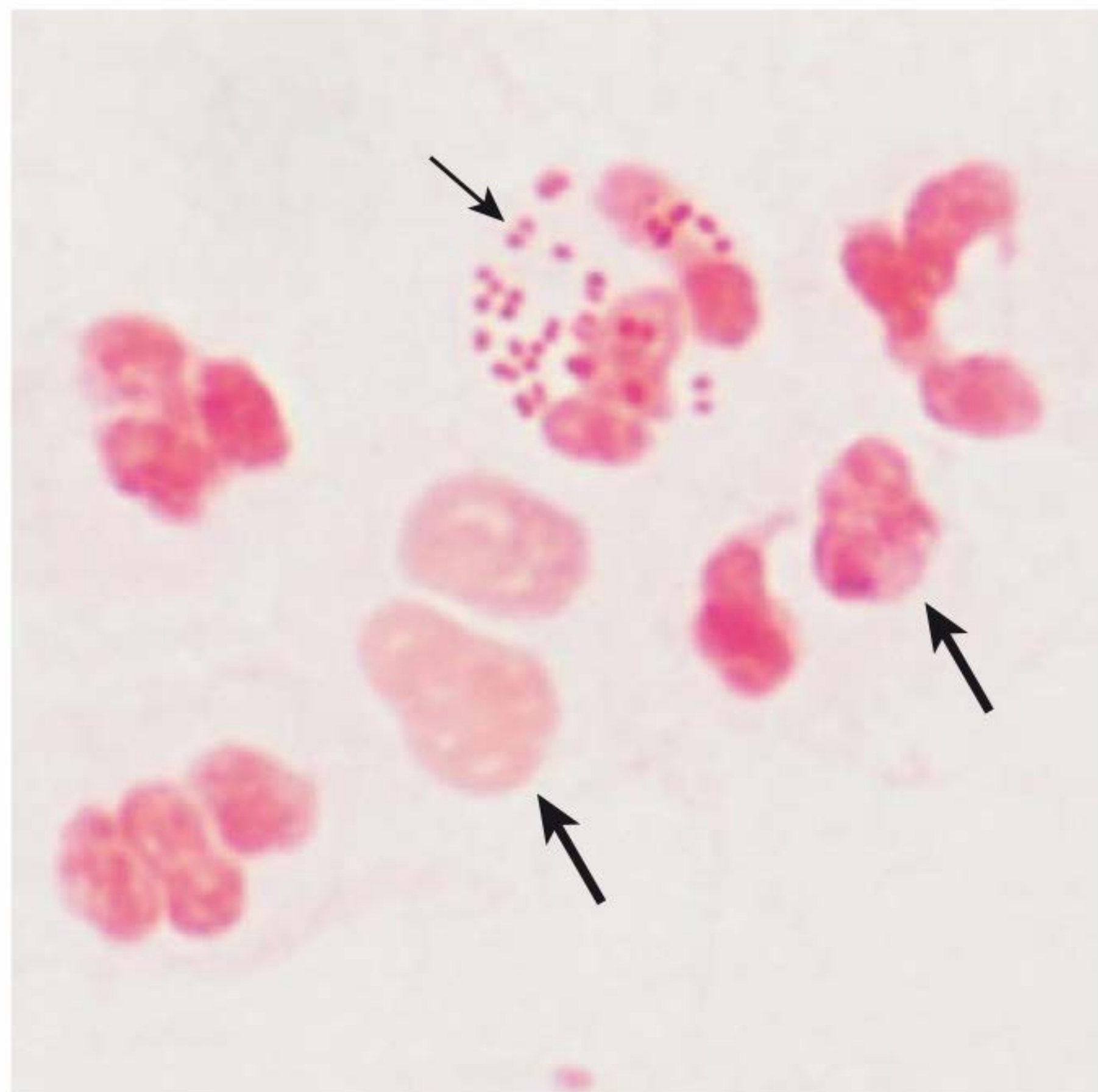


FIGURA 20.1 Coloração de exsudato uretral de paciente com gonorreia pelo método de Gram. Observa-se núcleos de várias células polimorfonucleares (*setas grandes*). O diplococo gram-negativo intracelular (*Neisseria gonorrhoeae*) em uma célula polimorfonuclear está indicado pela seta pequena.

de pilina, que contém elevada porcentagem de aminoácidos hidrofóbicos, é conservada. A sequência de aminoácidos próximos à porção média da molécula também é conservada, servindo para fixação da bactéria às células do hospedeiro e sendo menos proeminente na resposta imunológica. A sequência de aminoácidos próximos à extremidade carboxiterminal é altamente variável, sendo mais proeminente na resposta imunológica. As pilinas de quase todas as cepas da *N. gonorrhoeae* são antigenicamente diferentes, e uma única cepa pode produzir muitas formas antigenicamente distintas de pilinas.

B. Por

A proteína Por estende-se através da membrana celular dos gonococos. Ocorre em trímeros, formando poros na superfície, através dos quais alguns nutrientes penetram na célula. As proteínas Por podem levar à morte intracelular dos gonococos

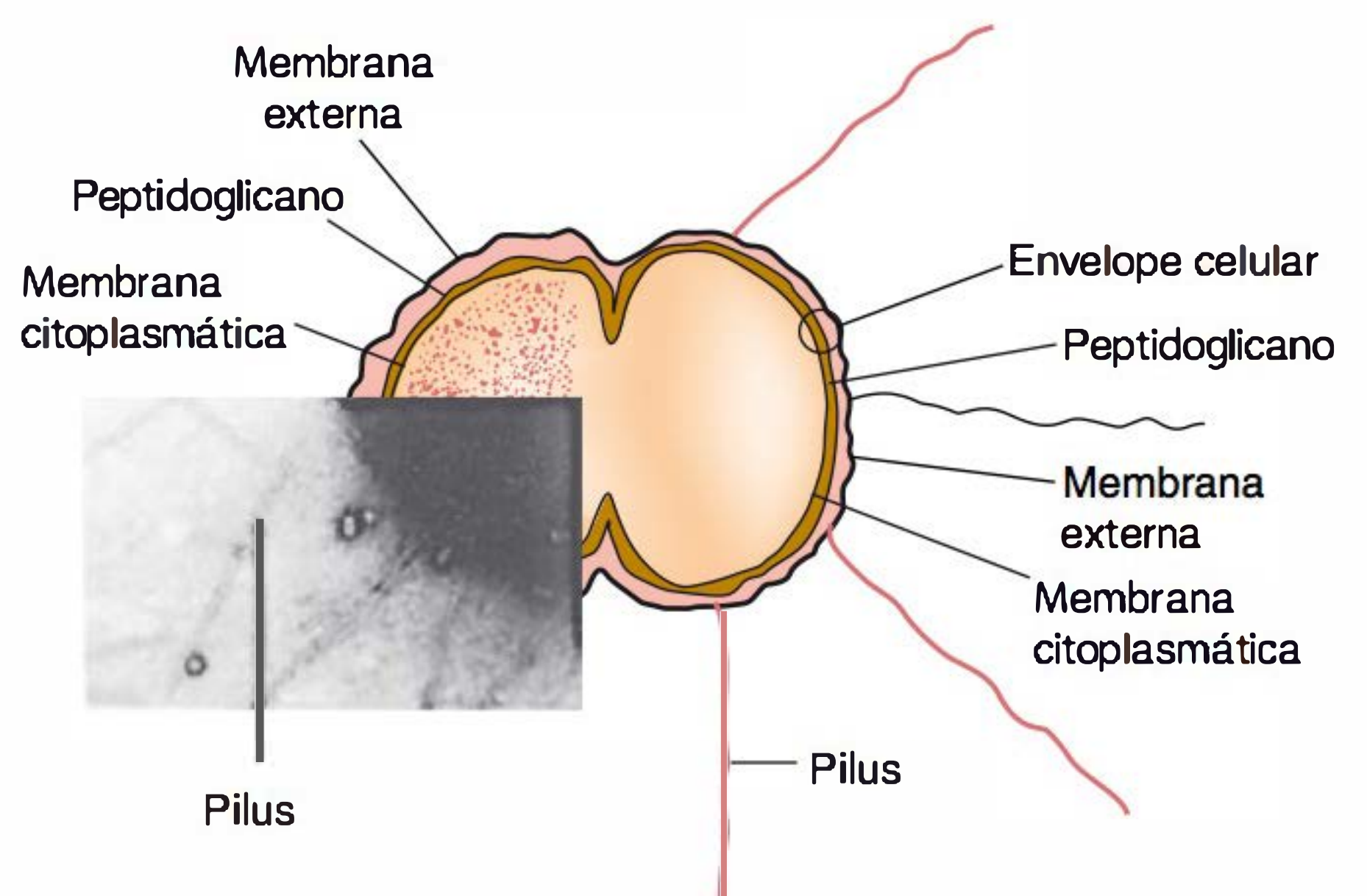


FIGURA 20.2 Colagem e desenho da *N. gonorrhoeae* que mostra os *pili* e as três camadas do envelope celular.

no interior dos neutrófilos pela prevenção da fusão fagossomolisossomo. Além do mais, a resistência variável dos gonococos ao poder bactericida do soro humano normal depende de como a proteína Por liga-se seletivamente aos componentes do complemento C3b e C4b. A MM da proteína Por varia de 32 a 36 kDa. Cada cepa de gonococo expressa apenas um dos dois tipos de Por, mas a Por de diferentes cepas é antigenicamente distinta. A tipagem sorológica da Por mediante reações de aglutinação com anticorpos monoclonais distinguiu 18 sorovariantes da PorA e 28 sorovariantes da PorB. (A sorotipagem só é efetuada em laboratórios de referência.)

C. Proteínas Opa

Estas proteínas atuam na adesão dos gonococos dentro das colônias e na fixação dos microrganismos às células do hospedeiro, particularmente células que expressam receptores celulares, tais como compostos relacionados com a heparina e CD66 ou antígenos carcinoembrionários relacionados com moléculas de adesão celular. Uma porção da molécula de Opa localiza-se na membrana externa do gonococo, enquanto o restante fica exposto sobre a superfície. A MM da Opa varia de 20 a 28 kDa. Uma cepa de gonococo pode expressar nenhum, um, dois ou, em certas ocasiões, três tipos de Opa, embora cada cepa tenha 11 ou 12 genes para diferentes Opas.

D. Rmp (proteína III)

Esta proteína (MM de 30 a 31 kDa) é antigenicamente conservada em todos os gonococos. Trata-se de uma proteína passível de modificação por redução (Rmp é a abreviatura do inglês *reduction-modifiable protein*), que modifica seu peso molecular aparente quando se encontra no estado reduzido. Associa-se à Por na formação de poros na superfície celular.

E. Lipo-oligossacarídeo (LOS)

Diferentemente dos bastonetes gram-negativos entéricos (ver Caps. 2 e 15), o lipopolissacarídeo (LPS) gonocócico não apresenta cadeias laterais de antígeno O longas, sendo denominado lipo-oligossacarídeo (LOS). Apresenta peso molecular de 3 a 7 kDa. Os gonococos podem expressar mais de uma cadeia de LOS antigenicamente diferente ao mesmo tempo. A toxicidade observada nas infecções gonocócicas deve-se, em grande parte, aos efeitos endotóxicos do LOS. Especificamente, em modelo de implante em tuba uterina, o LOS causa perda ciliar e morte das células de mucosa.

Em uma forma de mimetismo molecular, os gonococos produzem moléculas de LOS que se assemelham, do ponto de vista estrutural, aos glicoesfingolipídeos das membranas celulares humanas. Tal estrutura está apresentada na Figura 20.3. O LOS dos gonococos e o glicoesfingolipídeo humano da mesma classe estrutural reagem ao mesmo anticorpo monoclonal, indicando mimetismo molecular. A presença, sobre a superfície dos gonococos, das mesmas estruturas superficiais observadas nas células humanas ajuda esses microrganismos a escaparem do reconhecimento imunológico.

A galactose terminal dos glicoesfingolipídeos humanos é frequentemente conjugada com o ácido siálico. O ácido siálico é um ácido de 9 carbonos, 5-*N*-acetilado cetulosônico, também

chamado ácido *N*-acetilneuramínico (NANA). Os gonococos não produzem ácido siálico, mas sintetizam uma sialiltransferase que funciona para adquirir o NANA do nucleotídeo-açúcar humano, citidina ácido 5'-monofosfo-*N*-acetilneuramínico (CMP-NANA) e colocá-lo na galactose terminal de um LOS acceptor gonocócico. Essa sialilação afeta a patogênese da infecção gonocócica, tornando os gonococos resistentes à destruição pelo sistema de anticorpos-complemento humano, e interfere na ligação dos gonococos a receptores sobre as células fagocíticas.

N. meningitidis e *Haemophilus influenzae* produzem muitas das mesmas estruturas do LOS da *N. gonorrhoeae*. A biologia do LOS para as três espécies e para algumas das espécies não patogênicas de *Neisseria* é semelhante. Quatro dos vários sorogrupos da *N. meningitidis* formam diferentes cápsulas de ácido siálico (ver adiante), indicando que também possuem vias de biossíntese diferentes daquelas observadas nos gonococos. Esses 4 sorogrupos sialilam o LOS, utilizando o ácido siálico de seus reservatórios endógenos.

F. Outras proteínas

Várias proteínas antigenicamente constantes dos gonococos desempenham papéis pouco definidos na patogênese. A Lip (H8) é uma proteína de superfície exposta, termomodificável como a Opa. A Fbp (proteína de ligação do ferro), cuja MM se assemelha a da Por, é expressa quando o suprimento disponível de ferro torna-se limitado (p. ex., na infecção humana). Os gonococos elaboram uma IgA1 protease que cliva e inativa a IgA1, importante imunoglobulina da mucosa dos seres humanos. Os meningococos, *H. influenzae* e *Streptococcus pneumoniae* elaboram uma IgA1 protease semelhante.

Genética e heterogeneidade antigênica

Os gonococos desenvolveram mecanismos que frequentemente permitem a mudança de uma forma antigênica (pilina, Opa ou LPS) para outra forma antigênica da mesma molécula. Essa mudança ocorre em um de cada $10^{2.5}$ a 10^3 gonococos, o que representa uma taxa extremamente rápida de mudança para bactérias. Por serem antígenos de superfície expostos nos gonococos, a pilina, a Opa e o LPS são importantes na resposta imunológica à infecção. A rápida mudança das moléculas de uma forma antigênica para outra ajuda os gonococos a escaparem do sistema imunológico do hospedeiro.

O mecanismo de mudança para a pilina, o mais extensamente estudado, difere do envolvido para a Opa.

Os gonococos possuem inúmeros genes que codificam a pilina, mas apenas um gene é inserido no local de expressão. Os gonococos podem remover todo o gene da pilina, ou parte dele, e substituí-lo por outro gene de pilina ou parte dele. Esse mecanismo lhes permite expressar muitas moléculas de pilina antigenicamente diferentes no decorrer do tempo.

O mecanismo de mudança da Opa envolve, pelo menos em parte, a adição ou remoção do DNA de uma ou mais das repetições de codificação pentaméricas que precedem a sequência que codifica o gene estrutural da Opa. O mecanismo de mudança para o LPS permanece desconhecido.

Os antígenos e a heterogeneidade dos tipos são apresentados no Quadro 20.2.

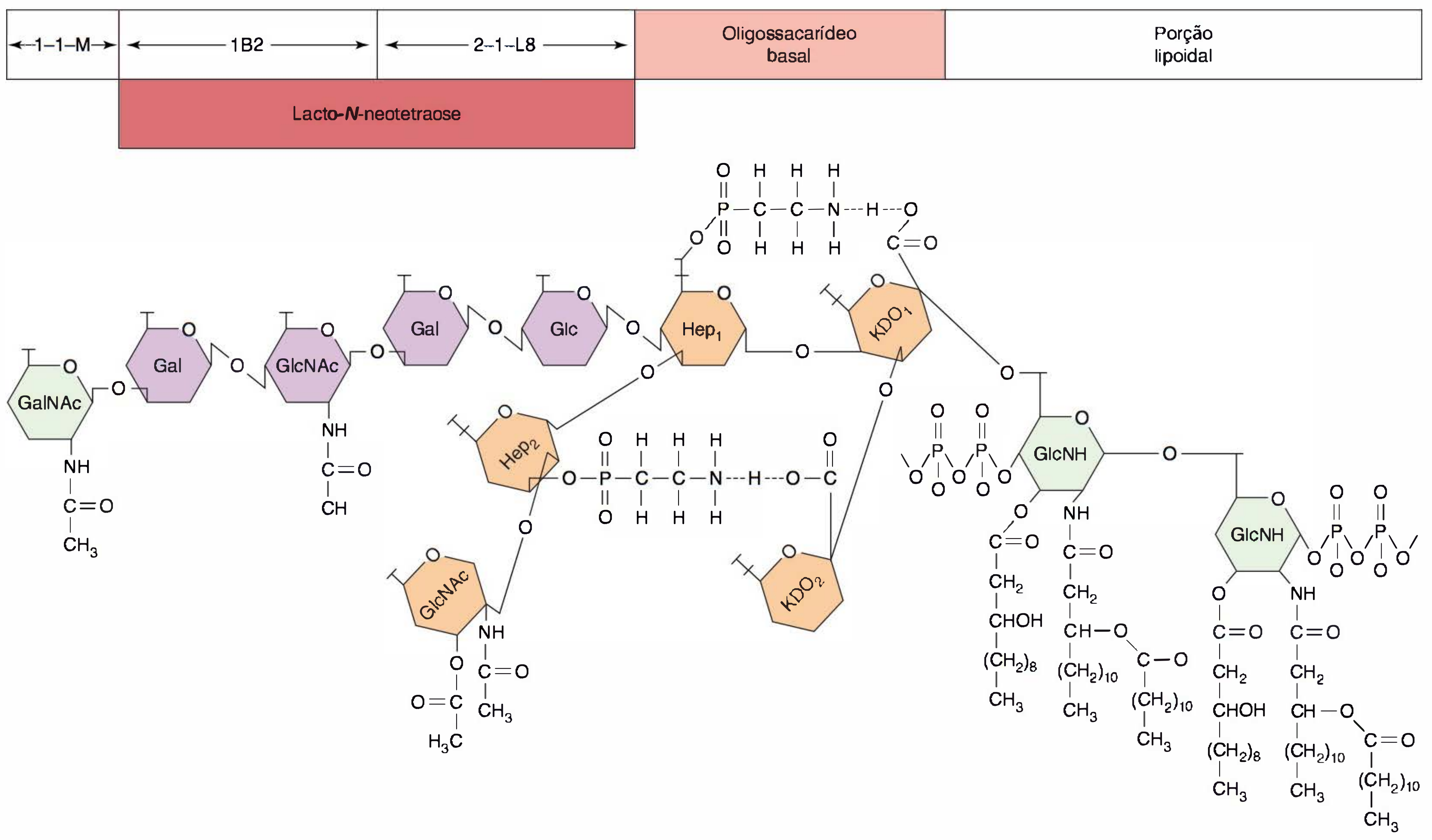


FIGURA 20.3 Estrutura do lipo-oligossacarídeo do gonococo que possui lacto-*N*-neotetraose e uma galactosamina terminal em estrutura semelhante à série de gangliosídeos glicoesfingolipídeos humanos. O oligossacarídeo basal está em vermelho-claro e a lacto-*N*-neotetraose, em vermelho-escuro. (Cortesia de JM Griffiss.)

QUADRO 20.2 Heterogeneidade antigênica de *Neisseria gonorrhoeae*

Antígeno	Número de tipos
Pilina	Centenas
Por (proteína) (sistema dos EUA)	PorA com 18 subtipos PorB com 28 subtipos
Opa (proteína II)	Muitas (talvez centenas)
Rmp (proteína III)	Uma
Lipo-oligosacárido	Oito ou mais
Fbp (proteína de ligação ao ferro)	Uma
Lip (H8)	Uma
IgA1 protease	Duas

Os gonococos contêm vários plasmídeos; 95% das cepas exibem um pequeno plasmídeo “críptico” (MM, 2,6 mDa) de função desconhecida. Dois outros plasmídeos (MM 3,4 mDa e 4,7 mDa) contêm genes que codificam a produção de betalactamase tipo TEM-1 (penicilinase), a qual resulta em resistência do microrganismo à penicilina. Esses plasmídeos são transmissíveis por conjugação entre os gonococos; assemelham-se a um plasmídeo encontrado em espécies de *Haemophilus* produtoras de penicilinase, e podem ter sido adquiridos a partir do *Haemophilus* ou de outros microrganismos gram-negativos. Cinco a 20% dos gonococos contêm um plasmídeo (MM de $24,5 \times 10^6$ kDa) com genes que codificam a conjugação; a incidência é maior nas áreas geográficas em que os gonococos produtores de penicilinase são mais comuns. O desenvolvimento de resistência de alto nível à tetraciclina (concentração inibitória mínima [MIC/CIM] ≥ 16 mg/mL) nos gonococos deve-se à inserção, no plasmídeo conjugativo, de um gene de estreptococo *tetM* que codifica a resistência à tetraciclina.

Patogênese, patologia e manifestações clínicas

Os gonococos exibem vários tipos morfológicos de colônias (ver anteriormente), mas apenas as bactérias dotadas de *pili* parecem virulentas. A expressão da proteína Opa varia de acordo com o tipo de infecção. Os gonococos que formam colônias opacas são isolados de homens com uretrite sintomática e de culturas de amostra do colo uterino de mulheres na metade do ciclo menstrual. Os gonococos que formam colônias transparentes são frequentemente isolados de homens com infecção uretral assintomática, mulheres durante a menstruação e de formas invasivas de gonorreia, como salpingite e infecção disseminada. A variação antigênica de proteínas de superfície durante a infecção permite ao organismo burlar a resposta imunológica do hospedeiro.

Os gonococos atacam as mucosas do trato geniturinário, dos olhos, do reto e da garganta, causando supuração aguda que pode levar a invasão tecidual. Este processo é seguido de inflamação crônica e fibrose. Em homens, geralmente ocorre uretrite, com pus espesso e amarelado, além de micção dolorosa. O processo pode estender-se ao epidídimo. Com o desaparecimento da supuração na infecção sem tratamento, ocorre fibrose, resultando,

às vezes, em estenoses uretrais. A infecção uretral em homens pode ser assintomática. Em mulheres, a infecção primária é observada no endocérvice e estende-se à uretra e à vagina, resultando em corrimento mucopurulento. Em seguida, pode progredir para as tubas uterinas, causando salpingite, fibrose e obliteração das tubas. Ocorre infertilidade em 20% das mulheres com salpingite gonocócica. A cervicite ou proctite gonocócica crônica é frequentemente assintomática.

A bacteriemia gonocócica resulta em lesões cutâneas (particularmente pápulas hemorrágicas e pústulas) nas mãos, antebraços, pés e pernas, bem como em tenossinovite e artrite supurativa, geralmente nos joelhos, tornozelos e punhos. Os gonococos podem ser cultivados a partir de amostras de sangue ou líquido articular de apenas 30% dos pacientes com artrite gonocócica. A endocardite gonocócica é uma infecção incomum, porém grave. Às vezes, os gonococos causam meningite e infecções oculares em adultos. Esses casos apresentam manifestações semelhantes às causadas por meningococos. A deficiência de complemento frequentemente é observada em pacientes com bacteriemia gonocócica. Pacientes com bacteriemia, especialmente se for recorrente, devem ser testados quanto a atividade hemolítica total do complemento.

A oftalmia neonatal gonocócica, uma infecção dos olhos do lactente, é contraída durante a passagem pelo canal do parto infectado. A conjuntivite inicial progride rapidamente e, se não for tratada, resulta em cegueira. Para evitar a oftalmia neonatal gonocócica, a instilação de tetraciclina, eritromicina ou nitrato de prata no saco conjuntival do lactente é obrigatória nos EUA. Os gonococos que causam infecção localizada são frequentemente sorossensíveis (mortos por anticorpos e complemento).

Exames diagnósticos laboratoriais

A. Amostras

Devem ser obtidas amostras de pus e secreções da uretra, do colo, do reto, da conjuntiva, da garganta ou do líquido sinovial para cultura e esfregaço. A hemocultura é necessária na doença sistêmica; entretanto, o uso de um sistema de cultura especial é útil, visto que os gonococos (e os meningococos) podem ser suscetíveis ao sulfonato de polianetol presente nos meios de hemocultura-padrões.

B. Esfregaços

Os esfregaços de exsudato uretral ou endocervical, corados pelo método de Gram, revelam inúmeros diplococos no interior dos leucócitos. Esse achado possibilita o estabelecimento do diagnóstico presuntivo. Os esfregaços corados do exsudato uretral de homens apresentam sensibilidade de cerca de 90% e especificidade de 99%. Os esfregaços corados de exsudatos endocervicais exibem sensibilidade de cerca de 50% e especificidade de aproximadamente 95% quando examinados por um microscopista experiente. Outros testes diagnósticos de exsudato uretral de homens não são necessários quando a coloração é positiva, mas testes de amplificação de ácidos nucleicos (NAATs) ou culturas devem ser feitos com amostras obtidas de mulheres. Os esfregaços corados de exsudatos conjuntivais também podem ser diagnósticos, porém os de amostras da garganta ou do reto geralmente não são úteis.

C. Cultura

Imediatamente após a coleta, o pus ou muco deve ser semeado em meio seletivo enriquecido (p. ex., meio de Thayer-Martin modificado [MTM]), com incubação em atmosfera que contenha 5% de CO₂ (recipiente com vela) a 37°C. Para evitar o crescimento excessivo de contaminantes, o meio seletivo deve conter antimicrobianos (p. ex., vancomicina, 3 µg/mL; colistina, 7,5 µg/mL; anfotericina B, 1 µg/mL; e trimetoprima, 3 µg/mL). Se não for possível a incubação imediata, a amostra deve ser colocada em um sistema de transporte de cultura contendo CO₂; 48 horas após a cultura, os microrganismos podem ser rapidamente identificados pelo seu aspecto no esfregaço corado pelo método de Gram, pela positividade da oxidase e por coaglutinação, imunofluorescência ou outros testes laboratoriais. As espécies de bactérias no repique podem ser determinadas por meio de reações de oxidação de carboidratos específicos (ver Quadro 20.1). A espectrometria de massa pela técnica de ionização por dessorção a laser, assistida por matriz seguida de análise por tempo de voo em sequência (MALDI-TOF MS), apresenta um potencial de identificação (no mesmo dia) dos isolados em culturas. Os gonococos isolados de locais anatômicos diferentes do trato genital ou de crianças devem ser identificados quanto à espécie pela realização de dois testes confirmatórios diferentes, devido às implicações legais e sociais das culturas positivas.

D. Testes de amplificação dos ácidos nucleicos

Diversos testes de amplificação dos ácidos nucleicos estão disponíveis (protocolos do Food and Drug Administration [FDA] norte-americano) para a detecção direta de *N. gonorrhoeae* em amostras do trato geniturinário e esses são os testes preferidos para estas fontes. Em geral, esses testes têm excelentes sensibilidade e especificidade em populações sintomáticas de alta prevalência. Entre as vantagens estão melhor detecção, resultados mais rápidos e a possibilidade de usar a urina como fonte de amostra. As desvantagens incluem a fraca especificidade de alguns ensaios devido à reatividade cruzada com espécies de *Neisseria* não gonocócicas. Tais testes não são recomendados para uso em diagnóstico de infecções gonocócicas extragenitais ou infecções em crianças. Os testes de amplificação de ácidos nucleicos não são recomendados como testes de cura, uma vez que os ácidos nucleicos podem persistir nas amostras de pacientes por até 3 semanas após tratamento bem-sucedido.

E. Sorologia

O soro e o fluido genital contêm anticorpos IgG e IgA contra os *pili* gonocócicos, as proteínas da membrana externa e o LPS. Parte da IgM do soro humano é bactericida para os gonococos *in vitro*.

Em indivíduos infectados, pode-se detectar a presença de anticorpos dirigidos contra os *pili* gonocócicos e as proteínas da membrana externa por meio de *immunoblotting*, radioimunoensaio e Elisa (ensaio de imunoabsorção ligado a enzima). Todavia, esses testes não são úteis como auxiliares diagnósticos, por vários motivos: incluindo heterogeneidade antigênica dos gonococos, demora na produção de anticorpos na presença de infecção aguda e nível basal elevado de anticorpos na população sexualmente ativa.

Imunidade

É comum a ocorrência de infecções gonocócicas repetidas. A imunidade protetora contra a reinfeção não parece fazer parte do processo patológico devido à variedade antigênica dos gonococos. Embora se possa demonstrar a presença de anticorpos, inclusive a IgA e IgG nas superfícies das mucosas, eles são altamente específicos contra cepas ou exibem pouca capacidade protetora.

Tratamento

Desde o desenvolvimento e uso disseminado da penicilina, a resistência dos gonococos a esse antibiótico vem aumentando de modo gradual, devido à seleção de mutantes cromossômicos, de modo que, atualmente, muitas cepas exigem altas concentrações de penicilina G para sua inibição (CIM ≥ 2 µg/mL). Também se constatou um aumento na prevalência de *N. gonorrhoeae* produtora de penicilinase (PPNG) (ver anteriormente). Resistência mediada por cromossomos à tetraciclina (CIM ≥ 2 µg/mL) é comum. Ocorre também resistência de alto nível à tetraciclina (CIM ≥ 32 µg/mL). Foi observada, ainda, resistência à espectinomicina, bem como às fluoroquinolonas. A administração de dose única de fluoroquinolonas foi recomendada para o tratamento de infecções gonocócicas de 1993 até 2006. Desde 2006, as taxas de resistência a quinolonas entre os gonococos isolados ultrapassaram 5% em homens que têm relações sexuais com outros homens e também em homens heterossexuais. Devido aos problemas relacionados com a resistência da *N. gonorrhoeae* aos antimicrobianos, os Centers for Disease Control and Prevention (CDC) recomendam que pacientes com infecções genitais ou retais sem complicações sejam tratados com dose única de ceftriaxona (250 mg) intramuscular, ou 400 mg de cefixima oral em dose única. Recomenda-se uma terapia adicional com 1g de azitromicina por via oral em dose única, ou 100 mg de doxiciclina 2 vezes ao dia por 7 dias para a possível presença de infecção concomitante por *Chlamydia*. A azitromicina mostrou-se segura e eficaz em mulheres grávidas, mas a doxiciclina é contraindicada nesses casos. Recomendam-se modificações desses tratamentos para outros tipos de infecção por *N. gonorrhoeae*. Ver a página no site do CDC para diretrizes de tratamento atualizadas (<http://www.cdc.gov/mmwr/pdf/rr/rr5912.pdf>).

Uma vez que outras doenças sexualmente transmissíveis podem ser adquiridas ao mesmo tempo que a gonorreia, devem-se também tomar medidas para diagnosticá-las e tratá-las (ver discussão sobre *Chlamydia*, sífilis, etc.).

Epidemiologia, prevenção e controle

A gonorreia tem distribuição mundial. Nos EUA, a incidência aumentou uniformemente desde 1955 até o fim da década de 1970, quando ficou entre 400 e 500 casos por 100.000 indivíduos da população. Entre 1975 e 1997, houve um declínio de 74% na taxa de infecções gonocócicas relatadas. Depois disso, as taxas ficaram nesses níveis por até 10 anos, caindo entre 2006 a 2009 e subindo 2,8% novamente entre 2009 e 2010.. A gonorreia é transmitida exclusivamente por contato sexual, frequentemente por mulheres e homens com infecções assintomáticas. A infeciosidade do microrganismo é tal que a probabilidade de contrair a infecção a partir de uma única exposição a um parceiro sexual infectado é de 20 a 30% para homens e ainda maior para

mulheres. A taxa de infecção pode ser reduzida pelas seguintes medidas: evitar relações sexuais com vários parceiros; rápida erradicação dos gonococos dos indivíduos infectados mediante diagnóstico e tratamento precoces; e detecção dos casos e contatos por meio de educação e rastreamento das populações de alto risco. A profilaxia mecânica (uso de preservativos) proporciona proteção parcial. A quimioprofilaxia tem valor limitado em virtude do aumento da resistência dos gonococos aos antibióticos.

A oftalmia neonatal gonocócica pode ser evitada pela aplicação local de pomada oftálmica de eritromicina a 0,5% ou de tetraciclina a 1% na conjuntiva dos lactentes. Embora a instilação de solução de nitrato de prata também seja eficaz e constitua o método clássico de prevenção de oftalmia neonatal, é difícil conservar o nitrato de prata, que também provoca irritação conjuntival; seu uso foi substituído em grande parte por pomada de eritromicina ou de tetraciclina.

NEISSERIA MENINGITIDIS

Estrutura antigênica

Foram identificados pelo menos 13 sorogrupos de meningococos com base na especificidade imunológica dos polissacarídeos capsulares. Os sorogrupos mais importantes, associados a doença em seres humanos, são os A, B, C, X, Y e W-135. O polissacarídeo do grupo A é um polímero do fosfato de *N*-acetilmanosamina, enquanto o do grupo C é um polímero do ácido *N*-acetil-*O*-acetilneuramínico. Os antígenos meningocócicos são encontrados no sangue e no líquido cerebrospinal dos pacientes com doença ativa. Os surtos e casos esporádicos no Hemisfério Ocidental, na última década do século XX, foram causados principalmente pelos grupos B, C, W-135 e Y. Os surtos no sul da Finlândia e em São Paulo, no Brasil, foram causados pelos grupos A e C; surtos na Nova Zelândia foram causados por cepa particular do grupo B; os da África foram devidos principalmente ao grupo A. O grupo C e, em particular, o grupo A estão associados a doença epidêmica.

As proteínas da membrana externa dos meningococos foram divididas em classes com base em sua MM. Todas as cepas apresentam proteínas das classes 1, 2 ou 3. Essas proteínas são análogas às proteínas Por dos gonococos e responsáveis pela especificidade dos sorotipos de meningococos, atuando na aderência do microrganismo nas células hospedeiras. Foram definidos até 20 sorotipos; os sorotipos 2 e 15 foram associados a doença epidêmica. A proteína Opa (classe 5) é comparável à Opa dos gonococos. Os meningococos possuem *pili*; todavia, ao contrário dos gonococos, não formam tipos distintos de colônias, o que indica a presença de bactérias com *pili*. O LPS dos meningococos é responsável por muitos dos efeitos tóxicos observados na doença meningocócica. Os mais altos níveis de endotoxina medidos durante a sepse foram encontrados em pacientes com meningococemia (50 a 100 vezes maior do que com outras infecções gram-negativas).

Patogênese, patologia e manifestações clínicas

Os seres humanos constituem os únicos hospedeiros naturais em que os meningococos são patogênicos. A porta de entrada

desses microrganismos é a nasofaringe, onde eles se fixam às células epiteliais com o auxílio dos *pili*. Podem fazer parte da microbiota transitória sem causar sintomas. A partir da nasofaringe, os microrganismos podem alcançar a corrente sanguínea, causando bacteriemia; os sintomas podem assemelhar-se aos de infecção das vias respiratórias superiores. A meningococemia fulminante é mais grave, com febre alta e exantema hemorrágico; o paciente também pode apresentar coagulação intravascular disseminada e colapso circulatório (síndrome de Waterhouse-Friderichsen).

A meningite constitui a complicação mais comum da meningococemia. Em geral, surge de modo repentino, com cefaleia intensa, vômitos e rigidez da nuca, evoluindo para coma em poucas horas.

Durante a meningococemia, ocorre trombose de vários vasos sanguíneos de pequeno calibre em muitos órgãos, com infiltração perivascular e hemorragias petequiais. Podem ocorrer miocardite intersticial, artrite e lesões cutâneas. Na meningite, as meninges apresentam inflamação aguda com trombose dos vasos sanguíneos e exsudação de leucócitos polimorfonucleares, de modo que a superfície do cérebro é recoberta por um espesso exsudato purulento.

Não se sabe qual processo transforma uma infecção assintomática da nasofaringe em meningococemia e meningite, mas essa transformação pode ser evitada por anticorpos séricos bactericidas específicos contra o sorotipo infectante. A bacteriemia por *Neisseria* é favorecida pela ausência de anticorpo bactericida (IgM e IgG), pela inibição da ação bactericida do soro por um anticorpo IgA bloqueador, ou pela deficiência de componentes do complemento (C5, C6, C7 ou C8). Os meningococos são facilmente fagocitados na presença de uma opsonina específica.

Exames diagnósticos laboratoriais

A. Amostras

Devem ser obtidas amostras de sangue para hemocultura, bem como de líquido cerebrospinal para esfregaço, cultura e determinações químicas. As culturas de material obtido com *swab* nasofaríngeo são apropriadas para detecção de portadores. O material obtido de petéquias por punção pode ser utilizado para esfregaço e cultura.

B. Esfregaços

Os esfregaços do sedimento do líquido cerebrospinal centrifugado ou do aspirado de petéquias, corados pelo método de Gram, frequentemente revelam a presença de neissérias típicas no interior dos leucócitos polimorfonucleares ou fora das células.

C. Cultura

Os meios de cultura sem sulfonato sódico de polianetol mostram-se úteis para hemocultura. As amostras de líquido cerebrospinal são semeadas em ágar-chocolate e incubadas a 37°C em atmosfera de 5% de CO₂. O líquido cerebrospinal recém-coletado poderá ser diretamente incubado a 37°C se o meio de cultura em ágar não estiver imediatamente disponível. O meio de Thayer-Martin modificado (MTM) com antibióticos

(vancomicina, colistina, anfotericina) favorece o crescimento das neissérias, inibe muitas outras bactérias e é utilizado para culturas de amostras da nasofaringe. As supostas colônias de neissérias em meios de cultura sólidos, particularmente em cultura mista, podem ser identificadas pela coloração pelo método de Gram e pelo teste da oxidase. Em geral, o líquido cerebrospinal e o sangue produzem culturas puras que podem posteriormente ser identificadas por meio das reações de fermentação dos carboidratos (Quadro 20.1) e aglutinação com soro específico do tipo ou polivalente.

D. Sorologia

Os anticorpos contra polissacarídeos meningocócicos podem ser determinados por testes de aglutinação em látex ou hemaaglutinação, ou pela sua atividade bactericida. Esses testes devem ser feitos apenas em laboratórios de referência.

Imunidade

A imunidade à infecção meningocócica está associada à presença de anticorpos bactericidas específicos dependentes de complemento no soro. Esses anticorpos são produzidos após infecções subclínicas por diferentes cepas ou após injeção de antígenos, e são específicos do grupo, do tipo ou de ambos. Os antígenos imunizantes para os grupos A, C, Y e W-135 são os polissacarídeos capsulares. Para o grupo B, ainda não foi definido um antígeno específico apropriado para uso como vacina; todavia, foram utilizadas vacinas de grupo B com misturas de antígenos em muitas partes do mundo. Atualmente, existem três tipos de vacina* contra os sorogrupos A, C, Y e W-135 disponíveis nos EUA. Uma vacina polissacarídica tetravalente, na qual cada dose consiste em quatro polissacarídeos capsulares purificados, é fracamente imunogênica em crianças com menos de 18 meses de vida, não confere imunidade prolongada nem causa redução sustentável na colonização da nasofaringe. Uma vacina tetravalente conjugada aprovada em 2005 (Menactra, Sanofi Pasteur) está licenciada para uso em pessoas de 9 meses a 55 anos. Essa vacina contém polissacarídeo capsular conjugado ao toxoide diftérico. Menveo é outra vacina conjugada tetravalente, no qual os oligossacarídeos A, C, Y e W135 estão conjugados com a toxina diftérica não tóxica CRM197 e que é aprovada para o uso em indivíduos entre 2 e 55 anos. A vantagem dessas vacinas é que uma resposta dependente de T é induzida, o que assegura uma resposta primária entre crianças e reduz substancialmente a colonização da orofaringe. A rotina de vacinação em pré-adolescentes (11 a 12 anos) antes de chegarem ao ensino médio com o emprego da vacina conjugada é atualmente recomendada. A vacinação também é recomendada para pessoas de 11 a 55 anos que estejam entre os seguintes grupos de risco: pessoas com asplenia funcional ou cirúrgica;

* N. de R.T. Um dos maiores problemas para o desenvolvimento de uma vacina eficiente contra o sorogrupo B é a expressão pelo meningococo de uma cápsula composta de ácido N-acetilneuramínico, igualmente presente na superfície das células humanas, resultando em ineficiência no reconhecimento antigênico. Contudo, foi aprovada em 2013 a primeira vacina de DNA recombinante contra esse sorogrupo (Bexsero). Ela apresenta a seguinte composição: vesícula de membrana externa da *N. meningitidis* sorogrupo B e as proteínas recombinantes NadA (adesina A de *Neisseria*), NHBA (antígeno de *Neisseria* de ligação à heparina) e fHpb (proteína ligante do fator H).

pessoas com deficiência de complemento; pessoas que viajam para áreas altamente endêmicas (p. ex., África Subsaariana); “populações fechadas”, tais como estudantes e militares que vivem em dormitórios; populações que experimentaram um surto comunitário; e trabalhadores de laboratórios clínicos (microbiologistas).

Tratamento

A penicilina G constitui o fármaco de escolha para o tratamento de indivíduos com doença meningocócica. Em indivíduos alérgicos às penicilinas, utilizam-se cloranfenicol ou uma cefalosporina de terceira geração, como cefotaxima ou ceftriaxona.

Epidemiologia, prevenção e controle

A meningite meningocócica ocorre em surtos epidêmicos (p. ex., em acampamentos militares, peregrinos religiosos, bem como na África Subsaariana) e em um número menor de casos esporádicos interepidêmicos. Cerca de 5 a 30% da população normal podem abrigar meningococos (frequentemente, microrganismos isolados não tipáveis) na nasofaringe durante os períodos interepidêmicos. Durante as epidemias, a taxa de portadores atinge 70 a 80%. O aumento no número de casos é precedido de um aumento no número de portadores respiratórios. O tratamento com penicilina oral não erradica o estado de portador. A rifampicina, 600 mg VO, 2 vezes/dia, durante 2 dias (ou ciprofloxacino em adultos, 500 mg em dose única), frequentemente pode erradicar o estado de portador e serve como quimioprofilaxia para contatos domésticos e outros contatos próximos. Desde o aparecimento de muitos meningococos resistentes às sulfonamidas, a quimioprofilaxia com sulfonamidas não é mais confiável.

Os casos clínicos de meningite representam apenas uma fonte de infecção desprezível, de modo que o isolamento do paciente só tem utilidade limitada. Mais importante é a redução dos contatos pessoais em uma população com alta taxa de portadores. Essa redução é obtida evitando-se as aglomerações ou com a administração de vacinas, como foi discutido anteriormente. Conforme mencionado, essas vacinas são utilizadas em populações selecionadas (p. ex., militares, epidemias entre civis).

OUTRAS NEISSÉRIAS

Neisseria lactamica raramente provoca doença, porém é importante em virtude de seu crescimento nos meios seletivos (p. ex., meio de Thayer-Martin modificado [MTM]) utilizados para culturas de gonococos e meningococos de amostras clínicas. Pode ser cultivada de amostras da nasofaringe de 3 a 40% dos indivíduos, e é mais frequentemente encontrada em crianças. Ao contrário das outras neissérias, a *N. lactamica* fermenta a lactose.

N. sicca, *N. subflava*, *N. cinerea*, *N. mucosa* e *N. flavescens* também são membros da microbiota normal das vias respiratórias, em particular da nasofaringe, e muito raramente causam doença. Algumas vezes, a *N. cinerea* assemelha-se à *N. gonorrhoeae* devido à sua morfologia e sua reação positiva para a hidroxipropil aminopeptidase.

Moraxella catarrhalis era antigamente denominada *Branhamella catarrhalis* e, antes disso, *Neisseria catarrhalis*.

Trata-se de um membro da microbiota normal em 40 a 50% das crianças saudáveis em idade escolar. A *M. catarrhalis* provoca bronquite, pneumonia, sinusite, otite média e conjuntivite, e também é considerada causa de infecção em pacientes imunocomprometidos. A maioria das cepas de *M. catarrhalis* de infecções clinicamente significativas produz betalactamase. A *M. catarrhalis* pode ser diferenciada das outras neissérias pela ausência de fermentação dos carboidratos e pela produção de DNase. Além disso, produz butiratoesterase, que forma a base dos testes fluorométricos rápidos para a sua identificação.

RESUMO DO CAPÍTULO

- O gênero *Neisseria* compreende dois principais patógenos, *N. gonorrhoeae* e *N. meningitidis*. Ambos apresentam fatores de virulência elaborados, importantes em sua patogênese. As outras espécies fazem parte da microbiota normal humana do trato respiratório e podem raramente estar associadas a infecções.
 - Membros desse gênero são diplococos gram-negativos que variam em suas necessidades nutricionais. *N. gonorrhoeae* é um microrganismo extremamente fastidioso, sendo usados meios seletivos contendo antibióticos e aminoácidos para o seu isolamento a partir do espécime clínico. Outras espécies são menos fastidiosas, crescendo em meios de rotina.
 - *N. gonorrhoeae* causa gonorreia, uma doença sexualmente transmissível, caracterizada por cervicite purulenta em mulheres e uretrite purulenta em homens. Neonatos de mulheres infectadas durante o parto podem desenvolver conjuntivite purulenta.
 - O diagnóstico é realizado por NATTs e o tratamento consiste em ceftriaxona intramuscular ou cefixima oral, mais azitromicina ou doxiciclina para o tratamento concomitante de *Chlamydia*.
 - *N. meningitidis* causa meningite endêmica e epidêmica. Seu maior fator de virulência é a cápsula polissacarídica. Há aproximadamente 13 sorotipos, nos quais os mais comuns são A, B, C, Y e W135.
 - Meningite meningocócica é uma infecção grave que apresenta alta taxa de morbidade e mortalidade e está frequentemente associada a sepse, devido à presença de LOS. Penicilina é o fármaco de escolha terapêutica.
 - O diagnóstico é realizado por cultura do líquido cefalorraquidiano em ágar-chocolate e incubado a 37°C em CO₂.
 - A prevenção consiste em imunização com uma das duas vacinas conjugadas (rotineiramente recomendada para crianças de 11 a 12 anos), ou com a vacina polissacarídica.
- (C) *Haemophilus influenzae* sorotipo b
 - (D) *Neisseria meningitidis* sorogrupo A
 - (E) Vírus do Oeste do Nilo
2. Um homem de 19 anos de idade apresentou-se ao clínico com descarga uretral durante as últimas 24 horas. A partir da amostra, foi cultivada *Neisseria gonorrhoeae*, que se mostrou β-lactamase-positiva e resistente a altos níveis de tetraciclina (≥ 32 µg/mL). Qual das seguintes afirmativas sobre estes fatores de resistência aos antimicrobianos é correta?
 - (A) A produção de β-lactamase e o alto nível de resistência à tetraciclina são mediados por genes plasmidiais
 - (B) A produção de β-lactamase é mediada por um gene presente no cromossomo bacteriano, e o alto nível de resistência à tetraciclina é mediado por um gene plasmidial
 - (C) A produção de β-lactamase é mediada por um gene plasmidial, e a resistência de alto nível à tetraciclina é mediada por um gene presente no cromossomo bacteriano
 - (D) A produção de β-lactamase e a resistência de alto nível à tetraciclina são mediadas por genes presentes no cromossomo bacteriano
 3. Um menino de 6 anos de idade desenvolve febre e dor de cabeça. É levado a um setor de emergência em que se nota enrijecimento da nuca, sugerindo irritação das meninges. Uma punção lombar é realizada, e na cultura do líquido cefalorraquidiano cresceu *Neisseria meningitidis* sorogrupo B. Qual das seguintes alternativas deve ser levada em consideração pelos membros da família do menino?
 - (A) Não são necessárias profilaxia ou outras precauções
 - (B) Devem receber uma vacina de pilina da *N. meningitidis*
 - (C) Devem receber uma vacina de polissacarídeo capsular da *N. meningitidis* sorogrupo B
 - (D) Devem fazer profilaxia com rifampicina
 - (E) Devem fazer profilaxia com sulfonamida
 4. Uma mulher de 18 anos de idade relatou ter tido relações sexuais sem proteção com um novo parceiro duas semanas antes de desenvolver febre e dor no quadrante abdominal esquerdo, com mal-estar associado ao período menstrual. Ao exame pélvico feito na emergência, observou-se inchaço bilateral quando o útero foi apalpado. Uma massa de 2 a 3 cm de diâmetro foi observada no lado esquerdo, sugestiva de abscesso tubo-ovariano. *Neisseria gonorrhoeae* foi observada em cultura de material da endocérvice da paciente. O diagnóstico foi doença inflamatória pélvica gonocócica. A seqüela comum desta infecção é:
 - (A) Câncer da cérvice
 - (B) Estreitamento uretral
 - (C) Tumores fibroides uterinos
 - (D) Infertilidade
 - (E) Fístula retovaginal
 5. Um oficial de polícia de 38 anos de idade deu entrada no setor de emergência de um hospital queixando-se de “estar novamente com uma infecção gonocócica disseminada”. Ele estava certo. As culturas da uretra e do joelho apresentaram *Neisseria gonorrhoeae*. O paciente tivera cinco episódios prévios de infecção gonocócica disseminada, e deve ser investigado para:
 - (A) Deficiência seletiva de IgA
 - (B) Defeito quimiotático das células polimorfonucleares
 - (C) Deficiência de um componente tardio do complemento C5, C6, C7 ou C8
 - (D) Ausência de atividade de adenosina desaminase dos linfócitos
 - (E) Deficiência de mieloperoxidase

QUESTÕES DE REVISÃO

1. Os habitantes de um grupo de pequenos vilarejos na zona rural da África Subsaariana sofreram uma epidemia de meningite. Cerca de 10% das pessoas morreram, a maioria com menos de 15 anos de idade. O microrganismo que mais provavelmente causou esta epidemia é:
 - (A) *Streptococcus agalactiae* (grupo B)
 - (B) *Escherichia coli* K1 (tipo capsular 1)

6. Qual dos seguintes indivíduos deve receber rotineiramente vacinação com a vacina meningocócica conjugada?
- (A) Pré-adolescentes saudáveis que estão ingressando no ensino médio
 (B) Crianças saudáveis que estão entrando no jardim de infância
 (C) Um homem de 60 anos com diabetes dependente de insulina
 (D) Um técnico saudável de 40 anos que trabalha em um laboratório de pesquisa contra câncer
 (E) Uma mulher de 65 anos com doença arterial coronariana
7. Uma mulher de 25 anos sexualmente ativa apresenta descarga vaginal purulenta e disúria 7 dias após ter tido relação sexual sem proteção com um novo parceiro. Das escolhas a seguir, qual é o método diagnóstico mais sensível para se determinar o provável agente etiológico?
- (A) Coloração pelo método de Gram
 (B) Um ensaio imunoenzimático
 (C) Cultura para bactérias em meio seletivo
 (D) Um teste de amplificação de ácido nucleico
 (E) Sorologia
8. Qual é o tratamento atualmente recomendado para uretrite gonocócica em homem que tem relações sexuais com outros homens nos EUA?
- (A) Dose única de fluoroquinolona por via oral
 (B) Doxiciclina por via oral durante sete dias
 (C) Ceftriaxona intramuscular em dose única
 (D) Espectinomicina intramuscular em dose única
 (E) Amoxicilina por via oral durante sete dias
9. Qual dos seguintes componentes celulares produzidos por *Neisseria gonorrhoeae* é responsável pela ligação às células hospedeiras?
- (A) Lipo-oligossacarídeo
 (B) *Pili* (fímbrias)
 (C) Protease IgA1
 (D) Proteína porina de membrana externa
 (E) Proteína de ligação ao ferro
10. Um homem de 60 anos de idade com grave doença pulmonar crônica apresenta febre, tosse produtiva com escarro purulento e agravamento por hipoxemia. Uma amostra de escarro é coletada e enviada imediatamente ao laboratório. O exame microscópico da coloração pelo método de Gram revela inúmeros leucócitos polimorfonucleares e predomínio de diplococos gram-negativos intracelulares e extracelulares. O microrganismo cresceu bem em ágar-sangue a 5% e ágar-chocolate, e é positivo para a reação de butirato esterase. Qual microrganismo é o mais provável causador da doença desse paciente?
- (A) *Neisseria gonorrhoeae*
 (B) *Neisseria lactamica*
 (C) *Moraxella catarrhalis*
 (D) *Haemophilus influenzae*
 (E) *Neisseria meningitidis*
11. A maior vantagem das vacinas conjugadas em comparação com as vacinas polissacarídicas é:
- (A) Estimulação da produção de IgA secretora
 (B) Menores efeitos colaterais
 (C) Resposta linfócito T DC4⁺ induzida pela vacina
 (D) Inclusão do sorogrupo B
12. Uma mulher de 25 anos de idade apresenta artrite séptica do joelho. No líquido do aspirado cresceu um diplococos gram negativo em ágar chocolate após incubação por 48 horas. O isolado era oxidase-positivo e oxidou a glicose, mas não a maltose, lactose e a sacarose. Você suspeita de infecção por:
- (A) *Neisseria meningitidis*
 (B) *Neisseria lactamica*
 (C) *Neisseria catarrhalis*
 (D) *Neisseria gonorrhoeae*
 (E) Nenhuma das opções anteriores
13. Todos os seguintes fatores de virulência estão associados a *N. gonorrhoeae*, exceto:
- (A) *Pili*
 (B) Por
 (C) Lipo-oligossacarídeo
 (D) Opa
 (E) Cápsula polissacarídica
14. A prevalência de infecções gonocócicas aumentou entre 2009 e 2010
- (A) Verdadeiro
 (B) Falso
15. O teste útil para diferenciar *Moraxella catarrhalis* de neissérias saprófitas no trato respiratório é:
- (A) Esterase butirato
 (B) Coloração de Gram
 (C) Ágar-sangue 5% de sangue de carneiro
 (D) PYR
 (E) Oxidase

Respostas

- | | | | |
|------|------|-------|-------|
| 1. D | 5. C | 9. B | 13. E |
| 2. A | 6. A | 10. C | 14. A |
| 3. D | 7. D | 11. C | 15. A |
| 4. D | 8. C | 12. D | |

REFERÊNCIAS

- Apicella MA: *Neisseria meningitidis*. In Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (editors). *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*, 7th ed. Churchill Livingstone Elsevier, 2010.
- Centers for Disease Control and Prevention: *Sexually Transmitted Disease Surveillance 2010*. Retrieved from <http://www.cdc.gov/std/stats10/surv2010.pdf>.
- Elias J, Frosch M, Vogel U: *Neisseria*. In Versalovic J, Carroll KC, Funke G et al. (editors). *Manual of Clinical Microbiology*, 10th ed. ASM Press, 2011.
- Marrazzo JM: *Neisseria gonorrhoeae*. In Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (editors). *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*, 7th ed. Churchill Livingstone Elsevier, 2010.
- Workowski KA, Berman S. Sexually transmitted treatment guidelines. *MMWR Recommend Rep* 2010;59(RR12):1-110.

Infecções causadas por bactérias anaeróbias

As infecções clinicamente importantes causadas por bactérias anaeróbias são comuns, sendo com frequência polimicrobianas, isto é, as bactérias anaeróbias são encontradas em infecções mistas causadas por outros anaeróbios, anaeróbios facultativos e aeróbios (ver as definições no glossário). As bactérias anaeróbias são encontradas em todo o corpo humano — na pele, nas superfícies das mucosas e, em altas concentrações, na boca e no trato gastrointestinal — como parte da microbiota normal (ver Cap. 10). Ocorre infecção quando anaeróbios e outras bactérias da microbiota normal contaminam locais do corpo normalmente estéreis.

Várias doenças importantes são causadas por espécies anaeróbias de *Clostridium* provenientes do meio ambiente ou da microbiota normal: botulismo, tétano, gangrena gasosa, intoxicação alimentar e colite pseudomembranosa. Tais doenças são discutidas nos Capítulos 9 e 11, bem como, de modo resumido, neste capítulo.

GLOSSÁRIO

Anaeróbios facultativos: bactérias que conseguem crescer de modo oxidativo, utilizando o oxigênio comoceptor terminal de elétrons, ou anaerobiamente, utilizando reações de fermentação para a obtenção de energia. Essas bactérias são patógenos comuns. As espécies *Streptococcus* e as Enterobacteriaceae (p. ex., *Escherichia coli*) estão entre os inúmeros anaeróbios facultativos que causam doença. Com frequência, as bactérias que são anaeróbias facultativas denominam-se “aeróbias”.

Bactérias aeróbias: bactérias que necessitam de oxigênio comoceptor terminal de elétrons e que não crescem em condições anaeróbias (*i. e.*, na ausência de O_2). Algumas espécies de *Micrococcus* e *Nocardia asteroides* são aeróbios obrigatórios (*i. e.*, precisam de oxigênio para sua sobrevivência).

Bactérias anaeróbias: bactérias que não utilizam oxigênio para o seu crescimento e seu metabolismo, obtendo energia a partir de reações de fermentação. Uma definição funcional dos anaeróbios é que esses microrganismos necessitam de uma tensão de oxigênio reduzida para seu crescimento e não conseguem crescer na superfície de meios de cultura sólidos com 10% de CO_2 na atmosfera ambiental. As espécies *Bacteroides* e *Clostridium* são exemplos de anaeróbios.

Bactérias capnofílicas: bactérias que necessitam de dióxido de carbono para seu crescimento.

FISIOLOGIA E CONDIÇÕES DE CRESCIMENTO DOS ANAERÓBIOS

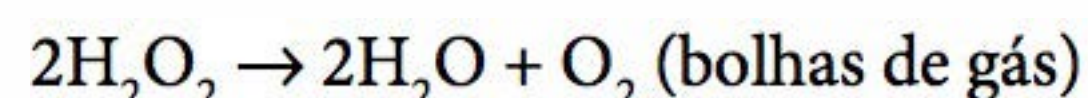
As bactérias anaeróbias não crescem na presença de oxigênio, sendo destruídas pelo oxigênio ou pelos radicais tóxicos de oxigênio (ver adiante). O pH e o potencial de oxirredução (E_h) também são importantes no estabelecimento das condições que favorecem o crescimento dos anaeróbios, que crescem na presença de um E_h baixo ou negativo.

Com frequência, os aeróbios e anaeróbios facultativos possuem os sistemas metabólicos relacionados adiante, enquanto as bactérias anaeróbias frequentemente não dispõem desses sistemas.

1. Sistemas de citocromos para o metabolismo do O_2 .
2. Superóxido-dismutase (SOD), que catalisa a seguinte reação:



3. Catalase, que catalisa a seguinte reação:



As bactérias anaeróbias carecem de sistemas de citocromos para o metabolismo do oxigênio. Os anaeróbios menos exigentes podem apresentar baixos níveis de SOD e ter ou não catalase. As bactérias do grupo do *Bacteroides fragilis* apresentam, em sua maioria, pequenas quantidades de catalase e de SOD. Parecem existir vários mecanismos para a toxicidade do oxigênio. Presumivelmente, quando os anaeróbios possuem SOD ou catalase (ou ambas), são capazes de anular os efeitos tóxicos dos radicais de oxigênio e do peróxido de hidrogênio, tolerando, assim, o oxigênio. Em geral, os **anaeróbios obrigatórios** carecem de SOD e catalase, mostrando-se suscetíveis aos efeitos letais do oxigênio; esses anaeróbios obrigatórios estritos são raramente isolados de infecções humanas, e a maioria das infecções por anaeróbios em seres humanos é causada por “anaeróbios moderadamente obrigatórios”.

A capacidade dos anaeróbios de tolerar o oxigênio ou crescer na sua presença varia de uma espécie para outra. De modo semelhante, existe variação entre cepas de determinada espécie (p. ex., uma cepa da *Prevotella melaninogenica* pode crescer em uma concentração de O_2 de 0,1%, mas não de 1%, enquanto outra pode fazê-lo em uma concentração de 2%, mas não de 4%). Além disso, na ausência de oxigênio, algumas bactérias anaeróbias irão crescer na presença de um E_h mais positivo.

Os **anaeróbios facultativos** crescem tão bem ou até melhor em condições anaeróbias do que em condições aeróbias. As bactérias que são anaeróbios facultativos costumam ser denominadas “aeróbios”. Quando um anaeróbio facultativo, como a *Escherichia coli*, encontra-se no local de uma infecção (p. ex., abscesso abdominal), pode consumir rapidamente todo o oxigênio disponível e passar para o metabolismo anaeróbio, produzindo um ambiente anaeróbio e de baixo E_h , permitindo, assim, que as bactérias anaeróbias presentes cresçam e provoquem doença.

BACTÉRIAS ANAERÓBIAS ENCONTRADAS EM INFECÇÕES HUMANAS

A partir da década de 1990, a classificação taxonômica das bactérias anaeróbias mudou significativamente devido à aplicação das técnicas de sequenciamento molecular e hibridização DNA-DNA. A nomenclatura empregada neste capítulo refere-se aos gêneros de anaeróbios frequentemente encontrados em infecções humanas e a certas espécies reconhecidas como importantes patógenos dos seres humanos. O Quadro 21.1 mostra uma lista dos anaeróbios comumente encontrados em infecções humanas.

Anaeróbios gram-negativos

Bacilos gram-negativos

1. *Bacteroides* — as espécies *Bacteroides* são anaeróbios muito importantes que causam infecção em seres humanos. Trata-se

QUADRO 21.1 Bactérias anaeróbias de importância clínica

Gênero	Local anatômico
Bacilos (bastonetes)	
gram-negativos	
<i>Grupo Bacteroides fragilis</i>	Colo Boca
<i>Prevotella melaninogenica</i>	Boca, colo, trato geniturinário
<i>Fusobacterium</i>	Boca
gram-positivos	
<i>Actinomyces</i>	Vagina
<i>Lactobacillus</i>	Pele
<i>Propionibacterium</i>	Boca, colo
<i>Eubacterium, Bifidobacterium e Arachnia</i>	Colo ^a
<i>Clostridium</i>	
Cocos (esferas)	
gram-positivos	
<i>Peptoniphilus</i>	Colo, boca, pele e trato geniturinário
<i>Peptostreptococcus</i>	Colo, boca, pele e trato geniturinário
<i>Peptococcus</i>	
<i>Fingoldia</i>	
gram-negativos	
<i>Veillonella</i>	Boca, colo

^aTambém encontrado no solo.

de um grande grupo de bacilos gram-negativos, finos, resistentes à bile, não formadores de esporos, os quais podem aparecer em forma de cocobacilos. Muitas espécies previamente incluídas no gênero *Bacteroides* foram reclassificadas nos gêneros *Prevotella* ou *Porphyromonas*. Essas espécies mantidas no gênero *Bacteroides* são membros do grupo *B. fragilis* (cerca de 20 espécies).

As espécies de *Bacteroides* são habitantes normais do intestino e de outros locais. As fezes normais contêm 10^{11} *B. fragilis* por grama (em comparação com 10^8 /g de anaeróbios facultativos). Outros microrganismos comumente isolados do grupo *B. fragilis* incluem *Bacteroides ovatus*, *Bacteroides distasonis*, *Bacteroides vulgatus* e *Bacteroides thetaiotaomicron*. As espécies *Bacteroides* estão implicadas com maior frequência em infecções intra-abdominais, em geral em circunstâncias de ruptura da parede intestinal, como ocorre em perfurações relacionadas com cirurgia ou traumatismo, apendicite aguda e diverticulite. Estas infecções são em geral polimicrobianas; por cocos anaeróbios. Espécies de *Clostridium* e *Eubacterium* também podem ser encontradas. *B. fragilis* e *B. thetaiotaomicron* estão implicadas em infecções intrapélvicas sérias, tais como a doença inflamatória pélvica e abscesso ovariano. O grupo *B. fragilis* está entre as espécies mais comuns isoladas em algumas bacteriemias anaeróbias, e esses microrganismos estão associados à alta mortalidade. Como foi discutido anteriormente neste capítulo, *B. fragilis* é capaz de elaborar inúmeros fatores de virulência que contribuem para a sua patogenicidade e sua mortalidade no hospedeiro.

2. *Prevotella* — as espécies de *Prevotella* são bacilos gram-negativos que podem aparecer em forma de bastonetes finos ou cocobacilos. Os microrganismos mais comumente isolados são *Prevotella melaninogenica*, *Prevotella bivia* e *Prevotella disiens*. A *P. melaninogenica* e espécies semelhantes são encontradas em infecções associadas às vias respiratórias superiores. A *P. bivia* e a *P. disiens* ocorrem no trato genital feminino. As espécies de *Prevotella* são encontradas em abscessos cerebrais e pulmonares, no empiema, na doença inflamatória pélvica e em abscessos tubo-ovarianos.

Nessas infecções, a *Prevotella* está com frequência associada a outros microrganismos anaeróbios que fazem parte da microbiota normal — particularmente peptostreptococos, bastonetes gram-positivos anaeróbios e espécies *Fusobacterium* —, bem como anaeróbios facultativos gram-positivos e gram-negativos que fazem parte da microbiota normal.

3. *Porphyromonas** — as espécies de *Porphyromonas* também são bacilos gram-negativos que fazem parte da microbiota oral normal, além de serem encontrados também em outros

* N. de R.T. A análise da microbiota revela que os indivíduos com periodontite são colonizados por *P. gingivalis*, *P. intermedia* e *A. actinomycetemcomitans*. Essa colonização parece relacionada com a transição de uma gengivite marginal crônica para uma periodontite, com destruição do ligamento periodontal e com a perda do suporte ósseo alveolar, denotando uma infecção específica. A periodontite é a principal causa de perda dentária, sendo em muitos casos uma seqüela comum das gengivites não tratadas e uma extensão do processo inflamatório, em direção ao ligamento periodontal, ao cemento radicular e ao osso alveolar, que circunda o dente. Além disso, a maioria das infecções endodônticas também é polimicrobiana, com predomínio de anaeróbios representados pelos gêneros: *Prevotella* (como *P. melaninogenica*), *Porphyromonas* (como *P. gingivalis*), *Fusobacterium* (como *F. nucleatum*), *Eubacterium* (como *E. nodatum*), *Aggregatibacter* (como *A. actinomycetemcomitans*) e *Treponema* (*T. denticola*).

locais anatômicos. Podem ser cultivadas a partir de amostras de infecções gengivais e dentárias periapicais, bem como, mais comum, de infecções de mama, axilares, perianais e do trato genital masculino.

4. Fusobactérias — existem aproximadamente 13 espécies de *Fusobacterium*, mas a maioria das infecções humanas é causada por *Fusobacterium necrophorum* e *Fusobacterium nucleatum*. Ambas as espécies diferem quanto à morfologia e ao habitat, bem como quanto à variedade de infecções associadas. *F. necrophorum* é um bastonete longo, muito pleomórfico, com extremidades arredondadas e tendência a apresentar formas bizarras. Este microrganismo não é um componente da cavidade oral sadia. *F. necrophorum* é bastante virulento, causando infecções graves na cabeça e no pescoço que podem progredir para uma infecção complicada, chamada doença de Lemierre. Essa doença é caracterizada por tromboflebite séptica aguda da veia jugular, que progride para sepse com abscessos metastáticos nos pulmões, mediastino, espaço pleural e fígado. A doença de Lemierre é mais comum entre adolescentes e adultos jovens e ocorre com frequência em associação com mononucleose infecciosa. *F. necrophorum* também é observada em infecções intra-abdominais polimicrobianas. *F. nucleatum*, um bastonete fino com extremidades pontiagudas (morfologia em forma de agulha), é um componente significativo da microbiota gengival, bem como dos tratos genital, gastrointestinal e respiratório superior. Este microrganismo também é com frequência encontrado em uma variedade de infecções clínicas, tais como infecções pleuropulmonares, obstétricas, corioamnionites e, ocasionalmente, em abscessos cerebrais complicados por doença periodontal. Raramente, causam bacteriemia em pacientes neutropênicos.

BACTÉRIAS QUE CAUSAM VAGINOSE

A vaginose bacteriana é uma condição vaginal comum em mulheres em idade reprodutiva. Ela está associada à ruptura prematura das membranas coriônicas e ao trabalho de parto prematuro. As vaginoses bacterianas têm uma complexa microbiologia. Dos organismos, a *Gardnerella vaginalis* e espécies de *Mobiluncus* são as mais especificamente relacionadas com a patogênese da doença.

GARDNERELLA VAGINALIS

G. vaginalis é um microrganismo sorologicamente distinto, presente tanto na microbiota vaginal normal quanto associado a casos de vaginose. Em esfregaços, essa vaginite ou vaginose bacteriana inespecífica apresenta “células indicadoras” (*clue-cells*) representadas por células do epitélio vaginal, cobertas com inúmeros bacilos gram-variável, além da ausência de outras causas comuns de vaginite, como tricomonas ou leveduras. O corrimento vaginal presente, muitas vezes, têm um odor característico de “peixe”, contendo muitas bactérias anaeróbias, a *G. vaginalis* e com o pH vaginal > 4,5 (pH normal é < 4,5). As vaginoses causadas por esse microrganismo podem ser controladas pelo uso de metronidazol oral, sugerindo sua associação com anaeróbios.

ESPÉCIES DE MOBILUNCUS

Este gênero compreende espécies de bastonetes móveis e curvos gram-negativos anaeróbios, ou gram-lábeis isolados de vaginose associada ao *G. vaginalis*. É possível que as espécies de *Mobiluncus* possam ser parte da microbiota anaeróbia vaginal normal, ou provavelmente parte da microbiota anaeróbia em vaginose bacteriana. Esses organismos são mais comumente detectados em esfregaços de secreções vaginais, mas eles crescem com dificuldade em culturas bacteriológicas em condição de anaerobiose.

A. Cocos gram-negativos

As espécies de *Veillonella* formam um grupo de pequenos cocos gram-negativos anaeróbios que fazem parte da microbiota normal da boca, da nasofaringe e, provavelmente, do intestino. Anteriormente conhecidas por vários nomes, hoje são denominadas coletivamente *Veillonella*. Apesar de serem algumas vezes isoladas de infecções anaeróbias polimicrobianas, de forma rara constituem a única causa de uma infecção.

Anaeróbios gram-positivos

A. Bacilos gram-positivos

1. Actinomyces — o grupo *Actinomyces* abrange diversas espécies que causam actinomicose, entre as quais *Actinomyces israelii* e *Actinomyces gerencseriae* são as mais comumente encontradas. Diversas espécies novas, recentemente descritas, que não estão associadas a actinomicose, foram associadas a infecções de virilha, área urogenital, mamas, axilas e infecções pós-operatórias de mandíbula, olhos, cabeça e pescoço. Algumas espécies têm sido implicadas em casos de endocardites, particularmente entre usuários de drogas. Estas espécies recém-descritas são aerotolerantes e formam colônias pequenas incomuns, que podem ser com frequência confundidas com contaminantes. À coloração pelo método de Gram, variam consideravelmente de comprimento: podem ser curtos e em forma de clava, ou consistir em longos filamentos finos em contos. Podem ou não ser ramificados. Devido a seu crescimento com frequência lento, pode ser necessária incubação prolongada da cultura para que se obtenha a confirmação laboratorial do diagnóstico clínico de actinomicose. Algumas cepas produzem colônias em ágar que se assemelham a dentes molares. Algumas espécies *Actinomyces* são tolerantes ao oxigênio (aerotolerantes), crescendo na presença de ar. Tais cepas podem ser confundidas com espécies de *Corynebacterium* (difteroides; ver o Cap. 12). A actinomicose é uma infecção granulomatosa crônica e supurativa que provoca lesões piogênicas com interconexão com o trato sinusal que contém grânulos compostos por microcolônias da bactéria embebida em elementos teciduais (Fig. 21.1). A infecção se inicia por traumatismo, que introduz essas bactérias endógenas na mucosa. Os microrganismos crescem em um nicho anaeróbio, induzem uma resposta inflamatória mista e disseminam-se com formação de sinus, que contêm grânulos e podem drenar para a superfície. A infecção causa inchaço e pode se espalhar para os órgãos vizinhos, inclusive os ossos.

Com base no local envolvido, as três formas comuns de actinomicose são cervicofacial, torácica e abdominal. A doença

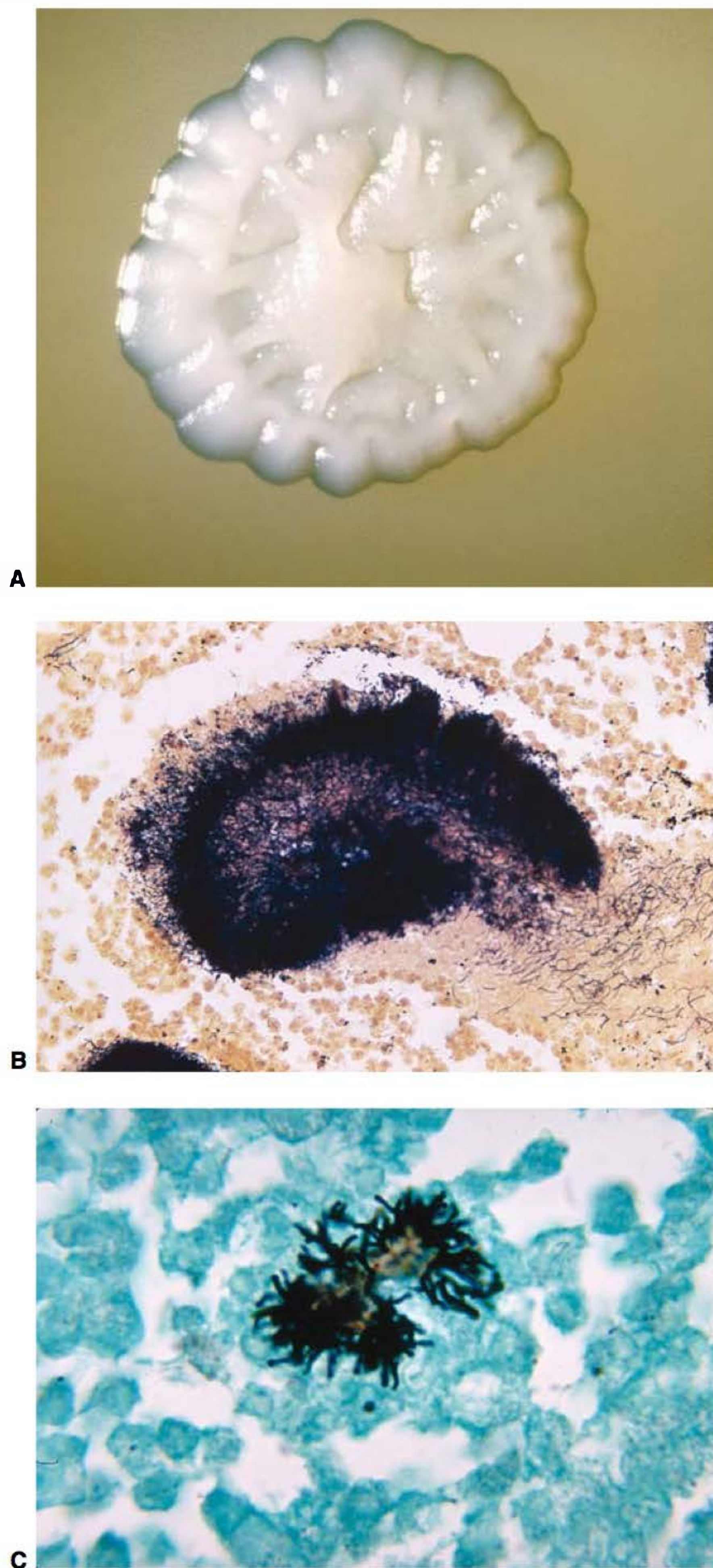


FIGURA 21.1 Espécies *Actinomyces* (A) Colônia de espécies *Actinomyces* 72 horas após crescimento em ágar-cérebro-coração (BHI), que produz colônias de cerca de 2 mm de diâmetro; estas são com frequência chamadas colônias "dente molar". (Cortesia CDC Public Health Image Library, L Georg.) (B) Grânulo de espécie de *Actinomyces* em tecido com a coloração de Brown e Breen. Ampliação do original em 400 vezes. Filamentos de ramificações bacilares são visíveis na periferia do grânulo. Estes grânulos são conhecidos como "grânulos de enxofre" devido à sua coloração amarelada. (Cortesia CDC Public Health Image Library.) (C) *Actinomyces naeslundii* em um abscesso de cérebro corado com coloração de metilamina de prata. As ramificações bacilares estão visíveis. Aumento do original em 1.000 vezes. (Cortesia CDC Public Health Image Library, L Georg.)

cervicofacial apresenta-se como um processo eritematoso com inchaço em uma área do maxilar (conhecido como mandíbula encaroçada [*lumpy jaw*]). Com a progressão desse processo, a massa torna-se flutuante, produzindo fistulas com drenagem. A doença irá estender-se pelo tecido contíguo, ossos e linfonodos da cabeça e do pescoço. Os sintomas da actinomicose torácica assemelham-se a uma infecção pulmonar subaguda, incluindo febre baixa, tosse e escarro purulento. Eventualmente, o tecido pulmonar é destruído, o trato sinusal pode irromper através da parede do peito e invadir as costelas. Com frequência, a actinomicose abdominal é seguida por uma ruptura de apêndice ou uma úlcera. Na cavidade peritonial, a patologia é a mesma, mas nenhum dos diversos órgãos pode estar envolvido. A actinomicose genital é uma ocorrência rara na mulher que resulta de colonização de um dispositivo intrauterino com invasão subsequente.

O diagnóstico pode ser feito por meio do exame do pus drenado dos sinus, escarro ou amostras de tecidos para a presença de grânulos de enxofre. Os grânulos são lobulados, pesados e compostos por tecido e filamentos bacterianos, com formas de bastão (forma de taco [*club-shaped*]) na periferia. As amostras devem ser cultivadas em condições de anaerobiose em meios apropriados. O tratamento requer administração prolongada de penicilina (6 a 12 meses). Clindamicina ou eritromicina é eficaz em pacientes alérgicos à penicilina. Excisão cirúrgica e drenagem podem ser necessárias.

2. *Lactobacillus* — as espécies de *Lactobacillus* constituem importantes membros da microbiota normal da vagina. O ácido láctico, um produto de seu metabolismo, ajuda a manter baixo o pH do trato genital normal da mulher adulta. Raramente causam doença.

3. *Propionibacterium* — as espécies de *Propionibacterium* são membros da microbiota normal da pele, da cavidade oral, do intestino, da conjuntiva e do canal da orelha externa. Seus produtos metabólicos incluem o ácido propiônico, de onde provém seu nome. À coloração pelo método de Gram, mostram-se altamente pleomórficas e exibem extremidades encurvadas, em forma de clava ou pontiagudas, formas longas com coloração irregular e em contos, bem como, em certas ocasiões, formas cocoides e esféricas. *Propionibacterium acnes*, com frequência considerado um patógeno oportunista, causa a doença da acne vulgar e está associado a uma variedade de condições inflamatórias. Este patógeno causa acne pela produção de lipases que alteram os ácidos graxos livres a partir dos lipídeos da pele. Esses ácidos graxos podem produzir inflamação dos tecidos que contribuem para a formação de acne. Além disso, *P. acnes* é uma causa frequente de infecções de feridas pós-cirúrgicas, particularmente naquelas que envolvem a inserção de dispositivos, como as infecções de próteses, em especial as de ombro, infecções em cateteres do sistema nervoso central, osteomielites, endocardites e endoftalmites. Isso se deve, em parte, à microbiota normal da pele. *P. acnes* contamina, algumas vezes, as hemoculturas ou culturas de líquido cefalorraquiano obtidas por punção da pele. Por conseguinte, é importante (porém, com frequência, difícil) diferenciar uma cultura contaminada de uma cultura positiva indicando infecção.

4. *Eubacterium*, *Eggerthella*, *Bifidobacterium* e *Arachnia* — são quatro gêneros que consistem em bastonetes gram-

positivos anaeróbios e pleomórficos. Existem várias espécies. Esses microrganismos são encontrados em infecções mistas associadas à microbiota orofaríngea ou à intestinal.

5. *Clostridium* — os clostrídeos são bacilos gram-positivos formadores de esporos (ver Cap. 11). Existem mais de 200 espécies. As principais doenças associadas a essas bactérias são provocadas por exotoxinas (ver Cap. 9).

Os esporos de *Clostridium tetani*, responsável pelo tétano, encontram-se presentes em todo o meio ambiente, germinando em tecido desvitalizado com E_h de +10 mV (o E_h do tecido normal é de +120 mV). Enquanto estão crescendo, os microrganismos elaboram a toxina tetanospasmina, uma potente neurotoxina. A infecção localizada é, com frequência, clinicamente insignificante. A toxina dissemina-se ao longo dos nervos até o sistema nervoso central, onde se liga aos gangliosídeos e suprime a liberação dos neurotransmissores inibitórios, produzindo espasmo muscular prolongado. Uma vez que o comprometimento respiratório ocorre em consequência de obstrução das vias respiratórias superiores ou de envolvimento do diafragma, a disfunção autônoma surge como causa principal da morte. Obviamente, traumatismos graves podem predispor ao desenvolvimento do tétano, porém mais de 50% dos casos são observados após pequenas lesões. O tétano é uma doença totalmente evitável: a imunidade ativa é induzida com o toxoide tetânico (toxina tetânica formolizada), o qual faz parte das imunizações rotineiras infantis com DTaP (difteria, tétano, coqueluche acelular). Os adultos devem receber doses de reforço a cada 10 anos.

C. botulinum provoca botulismo (ver Caps. 9 e 11), e encontra-se distribuído em todo o meio ambiente. Os esporos conseguem penetrar em alimentos conservados ou enlatados com baixos níveis de oxigênio, E_h baixo e nutrientes suficientes para assegurar seu crescimento. Os microrganismos germinam e elaboram as toxinas, enquanto ocorrem crescimento e lise. As neurotoxinas botulínicas são as mais potentes toxinas conhecidas, mas podem ser neutralizadas por anticorpos específicos. As toxinas são termolábeis, de modo que o alimento adequadamente aquecido não transmite botulismo. A toxina botulínica pré-formada é ingerida e absorvida, atuando sobre o sistema nervoso periférico ao inibir a liberação de acetilcolina nas sinapses colinérgicas, o que causa paralisia. Uma vez ligada à toxina, o processo é irreversível. Os sintomas estão associados à ação anticolinérgica e consistem em disfagia, boca seca, diplopia e fraqueza ou incapacidade de respirar. O botulismo deve ser tratado com antitoxina. O botulismo do lactente ocorre após a ingestão e germinação de esporos e produção de toxina *in vivo*; o mel constitui um veículo comum para a propagação dos esporos em lactentes.

C. perfringens provoca gangrena gasosa. Existem pelo menos 12 antígenos solúveis diferentes, muitos deles toxinas. Todos os tipos de *C. perfringens* produzem α -toxina, uma exotoxina hemolítica necrosante que é uma lecitinase. As outras toxinas exibem atividades variáveis, como necrose tecidual e hemólise. *C. perfringens* é encontrado em todo o meio ambiente. A **gangrena gasosa** ocorre quando uma ferida de tecidos moles é contaminada por *C. perfringens*, conforme se observa em traumatismos, aborto séptico e ferimentos de guerra. A bacteriemia associada ao *C. perfringens* pode ser rapidamente fatal. Além disso, podem ocorrer formas mais leves da doença.

Uma vez iniciada a infecção, os microrganismos elaboram toxinas necrosantes; o CO_2 e H_2 acumulam-se nos tecidos, sendo clinicamente detectáveis em forma de gás (p. ex., gangrena gasosa). Outros processos infecciosos produzem gás nos tecidos, devendo ser diferenciados da gangrena gasosa por clostrídeo. Estas infecções consistem em mionecrose estreptocócica anaeróbia, mionecrose, mionecrose sinérgica não clostridial anaeróbia, gangrena vascular infectada e mionecrose por *Aeromonas hydrophila*. Ocorrem edema e comprometimento da circulação, promovendo a disseminação da infecção anaeróbia. O tratamento abrange remoção cirúrgica da infecção e administração de penicilina G.

C. perfringens constitui uma causa comum de intoxicação alimentar (porém com menor frequência do que o *Staphylococcus aureus*). A doença é causada por enterotoxina produzida e liberada durante a esporulação. O período de incubação até a ocorrência de dor abdominal, náuseas e diarreia aguda é de 8 a 24 horas.

Clostridium difficile provoca colite pseudomembranosa. Essa espécie faz parte da microbiota gastrointestinal normal em 2 a 10% dos seres humanos. Os microrganismos são relativamente resistentes aos antibióticos de uso mais comum. Em associação com a administração de antibióticos ou depois de seu uso, a microbiota gastrointestinal normal é suprimida, de modo que *C. difficile* passa a proliferar, produzindo toxina citopática e enterotoxina. Os sintomas da doença variam de diarreia isolada a diarreia pronunciada e necrose da mucosa, com o acúmulo de células inflamatórias e fibrina, formando a pseudomembrana. O diagnóstico é estabelecido pela demonstração de citotoxina neutralizável nas fezes por seu efeito citopático em culturas celulares ou pela detecção da enterotoxina por imunoensaio. Muitos laboratórios que dispõem de estrutura para realização de diagnóstico molecular desenvolveram, ou estão usando, métodos de amplificação de ácidos nucleicos em tempo real, recomendados pela Food and Drug Administration (FDA) para detecção do gene da toxina A e B de *C. difficile*, no lugar dos ensaios fenotípicos trabalhosos e de baixa sensibilidade para a detecção de toxinas.

Em certas ocasiões, são encontradas outras espécies de *Clostridium* em infecções polimicrobianas, sobretudo as associadas à contaminação do tecido normal pelo conteúdo do colo.

B. Cocos gram-positivos

O grupo dos cocos gram-positivos anaeróbios sofreu uma significativa expansão taxonômica. Muitas espécies do gênero *Peptostreptococcus* foram reclassificadas como novos gêneros, tais como *Anaerococcus*, *Finegoldia* e *Peptoniphilus*. As espécies contidas neste gênero, bem como *Peptococcus niger*, são membros importantes da microbiota normal da pele, da cavidade oral, do trato respiratório superior, do trato gastrointestinal e do trato geniturinário feminino. Os membros desse grupo são patógenos oportunistas e encontrados mais frequentemente em infecções mistas, particularmente a partir de amostras que não tenham sido cuidadosamente pesquisadas. Entretanto, esses microrganismos têm sido associados a infecções sérias, tais como abscessos cerebrais, infecções pleuropulmonares, fascíte necrosante e outras infecções de tecidos profundos e tecidos moles, infecções intra-abdominais e infecções do trato genital feminino.

PATOGÊNESE DAS INFECÇÕES ANAERÓBIAS

As infecções causadas por anaeróbios em geral são decorrentes de associações de bactérias que atuam em patogenicidade sinérgica. Embora os estudos sobre a patogênese das infecções anaeróbias tenham com frequência considerado uma única espécie, é importante reconhecer que as infecções anaeróbias são, com maior frequência, causadas por várias espécies de anaeróbios que atuam em conjunto para causar infecção.

B. fragilis é um patógeno muito importante entre os anaeróbios que fazem parte da microbiota normal. A patogênese da infecção anaeróbia foi mais extensamente estudada com *B. fragilis*, por meio de um modelo murino de infecção intra-abdominal, que imita em muitos aspectos a doença humana. Verifica-se a ocorrência de uma sequência característica após a inoculação do conteúdo do colo (incluindo o *B. fragilis* e um anaeróbio facultativo, como *E. coli*) através de agulha, cápsula gelatinosa ou outro meio no abdome de ratos. Um alto percentual dos animais do estudo morre de sepse causada pelo anaeróbio facultativo. Todavia, se os animais forem inicialmente tratados com gentamicina, um antimicrobiano eficaz contra o anaeróbio facultativo, mas não contra *Bacteroides*, só ocorrerá a morte de um pequeno número de animais, e depois de alguns dias os animais sobreviventes desenvolverão abscessos intra-abdominais em decorrência da infecção por *Bacteroides*. O tratamento dos animais tanto com gentamicina quanto com clindamicina, um fármaco eficaz contra o *Bacteroides*, impede tanto a sepse inicial quanto o desenvolvimento posterior de abscessos abdominais.

Os polissacarídeos capsulares de *Bacteroides* constituem importantes fatores de virulência. Uma característica marcante das infecções por *B. fragilis* é a faculdade de induzir a formação de abscessos como único microrganismo infectante. Quando injetados no abdome de ratos, os polissacarídeos capsulares purificados de *B. fragilis* induzem a formação de abscessos, enquanto os de outras bactérias (p. ex., *Streptococcus pneumoniae* e *E. coli*) não o fazem. O mecanismo pelo qual a cápsula do *B. fragilis* induz a formação de abscessos não está bem elucidado.

As espécies de *Bacteroides* apresentam lipopolissacarídeos (endotoxinas; ver Cap. 9), mas carecem das estruturas lipopolissacarídicas com atividade endotóxica (inclusive o ácido β -hidroximirístico). Os lipopolissacarídeos do *B. fragilis* são muito menos tóxicos, do que os de outras bactérias gram-negativas. Por conseguinte, a infecção causada por *Bacteroides* não induz diretamente os sinais clínicos de sepse (p. ex., febre e choque) tão importantes nas infecções causadas por outras bactérias gram-negativas. Quando esses sinais clínicos aparecem na infecção por *Bacteroides*, resultam da resposta imunológica inflamatória à infecção.

B. fragilis elabora inúmeras enzimas importantes para a doença. Além de proteases e neuraminidasas, ocorre a produção de duas citolisinas que atuam em conjunto para causar hemólise dos eritrócitos. Uma enterotoxina capaz de causar diarreia e cujo gene está associado a uma ilha de patogenicidade é encontrada na maioria dos isolados que são obtidos de culturas de sangue.

O *B. fragilis* produz SDO, podendo sobreviver na presença de oxigênio durante vários dias. Quando existe um anaeróbio facultativo, como *E. coli*, no local da infecção, esse microrganismo pode consumir todo o oxigênio disponível e, assim,

produzir um ambiente favorável ao crescimento de *Bacteroides* e de outros anaeróbios (ver anteriormente).

Igualmente, *F. necrophorum* possui fatores de virulência importantes que o capacitam a causar a síndrome de Lemierre e outras doenças invasivas sérias. Outros fatores incluem uma hemaglutinina, uma hemolisina e um lipopolissacarídeo (endotoxina). Além disso, *F. necrophorum* é capaz de causar agregação de plaquetas. A exata inter-relação patogênica se existe entre esses fatores na patogênese das infecções humanas ainda está por ser elucidada.

Muitas bactérias anaeróbias produzem heparinase, colagenase e outras enzimas que lesionam ou destroem os tecidos. É provável que essas enzimas possam desempenhar algum papel na patogênese das infecções anaeróbias mistas, embora os experimentos laboratoriais não tenham sido capazes de definir qualquer papel específico.

IMUNIDADE NAS INFECÇÕES ANAERÓBIAS

Sabe-se relativamente pouco sobre a imunidade nas infecções anaeróbias. As informações mais completas foram obtidas de estudos de modelos animais de infecções causadas por *B. fragilis*.

Muitos anaeróbios (inclusive espécies de *Bacteroides*, *Propionibacterium* e *Fusobacterium*) produzem fatores quimiotáticos independentes do soro que atraem as células polimorfonucleares. A cápsula do *B. fragilis* é tanto antifagocítica quanto inibitória para a ação bactericida mediada pelo complemento. As espécies de *Bacteroides* são fagocitadas adequadamente por células polimorfonucleares quando os microrganismos são opsonizados por anticorpo e complemento. Tanto os animais quanto os seres humanos produzem anticorpos contra os antígenos do *Bacteroides*, inclusive material capsular. A transferência passiva de anticorpos de um animal imune para outro animal não imunizado confere proteção contra a bacteriemia por *Bacteroides*, mas não impede a formação de abscessos abdominais. No modelo murino de infecção, a formação de abscessos é impedida por uma resposta imunológica dependente da célula T. A transferência passiva de células esplênicas imunes ou de um fator de baixo peso molecular isento de células impede a formação de abscessos abdominais no modelo de rato.

A NATUREZA POLIMICROBIANA DAS INFECÇÕES ANAERÓBIAS

As infecções anaeróbias estão associadas, em sua maioria, à contaminação de tecidos pela microbiota normal da mucosa da boca, da faringe e dos tratos gastrintestinal ou genital. Tipicamente, são encontradas várias espécies (5 ou 6 espécies ou mais quando se utilizam condições padronizadas de cultura), inclusive anaeróbios e anaeróbios facultativos. As infecções orofaríngeas, pleuropulmonares, abdominais e pélvicas femininas associadas a contaminação pela microbiota normal da mucosa exibem uma distribuição relativamente igual de anaeróbios e anaeróbios facultativos como agentes etiológicos: cerca de 25% dos casos apresentam apenas anaeróbios; cerca de 25%, apenas anaeróbios facultativos; e cerca de 50% exibem anaeróbios e anaeróbios facultativos. Além disso, pode-se verificar a presença de bactérias aeróbias; entretanto, os aeróbios obrigatórios

são muito menos comuns do que os anaeróbios e anaeróbios facultativos. O Quadro 21.2 mostra uma lista das bactérias anaeróbias e infecções representativas associadas.

DIAGNÓSTICO DAS INFECÇÕES ANAERÓBIAS

Os sinais clínicos sugestivos de possível infecção por anaeróbios consistem em:

1. Secreção de odor fétido (devido à presença de produtos dos ácidos graxos de cadeia curta do metabolismo anaeróbio).
2. Infecção na proximidade de uma superfície mucosa (os anaeróbios fazem parte da microbiota normal).
3. Presença de gás nos tecidos (produção de CO₂ e H₂).
4. Culturas aeróbias negativas.

O diagnóstico de infecção anaeróbia pode ser estabelecido com base na cultura anaeróbia de amostras corretamente coletadas e transportadas (ver Cap. 47). Os anaeróbios crescem mais facilmente em meios de cultura complexos, como ágar-base tripticase soja, ágar-sangue de Schaedler, ágar para *Brucella*, ágar de infusão de cérebro-coração, e outros meios — todos altamente suplementados (p. ex., com hemina, vitamina K₁, sangue). Ao mesmo tempo, utiliza-se um meio seletivo e complexo contendo canamicina, a qual (como todos os aminoglicosídeos) não inibe o crescimento dos anaeróbios obrigatórios; por conseguinte, permite a proliferação desses

QUADRO 21.2 Bactérias anaeróbias e infecções associadas representativas

Abscessos de cérebro	Peptostreptococos, <i>Fusobacterium nucleatum</i> e outros
Infecções de orofaringe	Anaeróbios de orofaringe; <i>Actinomyces</i> , <i>Prevotella melaninogenica</i> , espécies <i>Fusobacterium</i>
Infecções de pleura e pulmões	Peptostreptococos, espécies <i>Fusobacterium</i> , <i>Prevotella melaninogenica</i> , <i>Bacteroides fragilis</i> em 20 a 25%, outros
Infecções intra-abdominais	Abscesso de fígado: anaeróbios mistos em 40 a 90%, microrganismos facultativos Abscessos abdominais: <i>Bacteroides fragilis</i> , outros da microbiota gastrointestinal
Infecções do trato genital feminino	Abscessos vulvares: Peptostreptococos e outros Abscessos pélvicos e tubo-ovarianos: <i>Prevotella bivia</i> e <i>Prevotella disiens</i> , peptostreptococos, outros
Pele, tecidos moles e infecções de medula	Microbiota anaeróbia mista; <i>Propionibacterium acnes</i>
Bacteriemia	<i>Bacteroides fragilis</i> ; peptostreptococos; <i>Propionibacterium</i> ; <i>Fusobacterium</i> ; <i>Clostridium</i> ; outros
Endocardite	<i>Bacteroides fragilis</i> ; <i>Actinomyces</i>

microrganismos sem a interferência de anaeróbios facultativos de crescimento rápido. As culturas são incubadas a 35 a 37°C em atmosfera anaeróbia contendo CO₂.

A morfologia das colônias, a pigmentação e a fluorescência são úteis na identificação dos anaeróbios. As atividades bioquímicas e a produção de ácidos graxos de cadeia curta, determinadas por cromatografia gasoso-líquida, podem ser utilizadas para confirmação laboratorial.

TRATAMENTO DAS INFECÇÕES ANAERÓBIAS

O tratamento das infecções anaeróbias mistas consiste em drenagem cirúrgica (na maioria das circunstâncias) juntamente com terapia antimicrobiana.

O grupo do *B. fragilis* de microrganismos encontrados em infecções abdominais e em outras infecções produz universalmente β-lactamase assim como muitas das cepas de *P. bivia* e *P. disiens* encontradas em infecções do trato genital de mulheres. Felizmente, essas betalactamases são inibidas por associações β-lactâmico + inibidor de betalactamase, tal como ampicilina/sulbactam. A terapia com antimicrobianos (exceto a penicilina G) é necessária para tratar as infecções causadas por esses microrganismos. Pelo menos 66% das cepas de *P. melaninogenica* de infecções pulmonares e orofaríngeas também produzem betalactamase.

Os fármacos mais ativos para o tratamento das infecções anaeróbias consistem em clindamicina e metronidazol, embora a resistência à clindamicina entre *B. fragilis* tenha aumentado na última década. A clindamicina é preferida para tratar infecções localizadas acima do diafragma. Um número relativamente pequeno de anaeróbios mostra-se resistente à clindamicina (exceto *B. fragilis*), com poucos ou nenhum exibindo resistência ao metronidazol. Outros fármacos são a cefoxitina, cefotetana, algumas das outras cefalosporinas mais recentes e piperacilina; todavia, esses fármacos não são tão ativos quanto a clindamicina e o metronidazol. Os antibióticos carbapenêmicos ertapenem, imipenem, meropenem e doripenem apresentam boa atividade contra muitos anaeróbios e a resistência ainda é incomum. A tigeciclina, um agente aprovado pelo FDA para o tratamento de pele e tecidos moles e infecções intra-abdominais, tem boa atividade *in vitro* contra várias espécies anaeróbias, inclusive o grupo de *B. fragilis*. A penicilina G continua sendo o fármaco de escolha para o tratamento das infecções anaeróbias que não envolvam espécies *Bacteroides* e *Prevotella* produtoras de betalactamase.

RESUMO DO CAPÍTULO

- As bactérias anaeróbias são microrganismos que não crescem na presença de oxigênio e requerem métodos de isolamento especiais a partir do espécime clínico.
- Os anaeróbios constituem um grupo importante na composição da microbiota normal, em que muitos integrantes produzem potentes exotoxinas e podem estar associados a infecções graves.
- Os anaeróbios estão com frequência associados a infecções bacterianas mistas, sobretudo quando a barreira da mucosa está comprometida, como em casos de traumas.

- *B. fragilis* é um dos principais gram-negativos anaeróbios isolado de material clínico. Esse microrganismo expressa uma cápsula, cuja expressão está associada à formação de abscessos.
- Outros patógenos de importância incluem: *C. perfringens* associado à gangrena gasosa e a intoxicação alimentar; *C. tetani*, o qual produz a toxina tetanospasmina associada ao tétano; e *C. botulinum* responsável pelo botulismo mediado por uma potente neurotoxina associada à paralisia flácida.
- O tratamento das infecções anaeróbias inclui drenagem dos abscessos e antibioticoterapia com penicilina (para os não produtores de β -lactamases), clindamicina, cefoxitina, metronidazol e carbenemas.

QUESTÕES DE REVISÃO

- Um homem de 55 anos de idade consultou seu médico, queixando-se de tosse grave com produção de escarro purulento. Sua respiração apresentava odor fétido muito desagradável. A radiografia de tórax mostrou grande quantidade de líquido no espaço pleural esquerdo, e cerca de 5 cm da cavidade pulmonar apresentavam um volume de ar. Foi feita punção com seringa através da parede pulmonar, e o líquido da cavidade pleural foi removido, apresentando-se espesso, amarelo-acinzentado e fétido. Qual dos seguintes grupos de microrganismos é o que apresenta maior probabilidade de ser cultivado a partir do líquido pleural desse paciente?
 - Bacteroides fragilis*, *Escherichia coli* e enterococos
 - Prevotella bivia*, peptostreptococos e *Staphylococcus epidermidis*
 - Prevotella melaninogenica*, espécies *Fusobacterium* e estreptococos *viridans*
 - Espécies *Propionibacterium*, peptostreptococos e *Staphylococcus aureus*
 - Streptococcus pneumoniae*
- Um jovem de 23 anos de idade desenvolveu um abscesso perirretal, que foi drenado cirurgicamente. A amostra foi cultivada e houve o crescimento de bactérias anaeróbias. Os indícios que sugerem infecção com bactérias anaeróbias incluem:
 - Cultura aeróbia negativa
 - Gás nos tecidos
 - Proximidade da superfície da mucosa
 - Secreção de odor fétido
 - Todas as opções anteriores
- Um homem de 63 anos de idade, diabético, injeta rotineiramente insulina na coxa esquerda. Recentemente, ele apresentou dor e inchaço no local. Ao ser examinada, a coxa estava inchada e avermelhada. Foi observada crepitação durante a palpitação, indicando presença de gás no tecido. Também se verificou gás nos planos fasciais à radiografia da perna. A gangrena gasosa causada por *Clostridium perfringens* é considerada um provável diagnóstico. Que outra infecção deve ser considerada neste caso?
 - Mionecrose anaeróbia estreptocócica
 - Mionecrose anaeróbia sinérgica não clostridial
 - Gangrena vascular infectada
 - Mionecrose por *Aeromonas hydrophila*
 - Todas as opções anteriores
- Um jovem de 18 anos de idade desenvolve febre com dor no quadrante inferior direito do abdome. Após avaliação inicial, é encaminhado para a sala de cirurgia. Durante a cirurgia, foi encontrado rompimento do apêndice com presença de um abscesso. *Bacteroides fragilis* foi cultivado a partir de uma amostra do abscesso. Qual dos seguintes fatores promove a formação de abscesso por *B. fragilis*?
 - Lipopolissacarídeo
 - Cápsula
 - Superóxido-dismutase
 - Pili*
 - Toxina leucocidina
- Infecções causadas por espécies de *Bacteroides* podem ser tratadas com todos os seguintes antibióticos, exceto:
 - Ampicilina/sulbactam
 - Clindamicina
 - Metronidazol
 - Penicilina
 - Cefoxitina
- Um estudante de 17 anos de idade desenvolveu mononucleose infecciosa. Cerca de duas semanas depois, apresentou febre alta, dor de garganta, incapacidade de deglutir e dor severa no peito e no pescoço. Durante a admissão hospitalar, ele apresentava sinais de sepse e dificuldade respiratória. Qual é o mais provável agente causador desta complicação?
 - Fusobacterium necrophorum*
 - Bacteroides ovatus*
 - Prevotella melaninogenica*
 - Clostridium tetani*
 - Actinomyces israelii*
- Qual das seguintes afirmativas sobre *Lactobacilli* está correta?
 - São cocos gram-positivos anaeróbios
 - São encontrados com maior frequência na cavidade oral
 - O principal produto do seu metabolismo é o ácido propiônico
 - Raramente causam doença em seres humanos
 - Formam endósporos
- Qual das seguintes afirmativas melhor descreve a patogênese de *Clostridium botulinum*?
 - Elabora uma toxina que inibe a liberação de acetilcolina nas sinapses colinérgicas
 - Elabora uma exotoxina que é uma lecitinase que causa necrose tecidual
 - Produz uma cápsula polissacarídica que inibe a fagocitose e contribui para invasão do sistema nervoso central
 - Elabora uma toxina que suprime a liberação de neurotransmissores inibitórios
 - Produz uma leucotoxina que leva à formação de abscessos
- O fármaco de escolha para o tratamento de infecções causadas por espécies de *Actinomyces* é:
 - Tigeciclina
 - Cefoxitina
 - Metronidazol
 - Imipenem
 - Penicilina
- As infecções comumente causadas por *Clostridium perfringens* incluem todas as seguintes alternativas, exceto:
 - Gangrena gasosa
 - Lumpy jaw*
 - Intoxicação alimentar
 - Bacteriemia

11. Todas as afirmações sobre os anaeróbios são verdadeiras, *exceto*:
- Todas as espécies expressam a enzima citocromo oxidase
 - Muitas espécies são parte da microbiota normal
 - Eles são com frequência encontrados juntos aos microrganismos aeróbios em infecções complicadas
 - Técnicas especiais são necessárias para assegurar seu isolamento do material clínico
12. A doença de Lemierre é uma séria infecção da cabeça e pescoço associada ao seguinte anaeróbio
- Prevotella melaninogenica*
 - Bacteroides thetaiotaomicron*
 - Porphyromonas gingivalis*
 - Peptococcus niger*
 - Fusobacterium necrophorum*
13. A identificação definitiva de um anaeróbio é melhor acompanhada por
- Análise da morfologia colonial do microrganismo crescido em meios e condições de anaerobiose
 - Presença de pigmentos
 - Suscetibilidade a antibióticos em teste de TSA
 - Análise da composição dos ácidos graxos da parede celular por cromatografia líquida
 - Nenhuma das respostas anteriores
14. Um paciente com dentição comprometida e com baixa saúde bucal apresentou intumescimento e vermelhidão da região mandibular. No exame, foi notado material purulento drenado por uma pequena lesão. O material apresentava-se amarelado e com alguns grânulos visíveis. A coloração de Gram revelou bastonetes pleomórficos gram-positivos com ramificações curtas, juntamente com células sugestivas de inflamação aguda e crônica. Qual seria o microrganismo suspeito?
- Bacteroides fragilis*
 - Lactobacillus acidophilus*
 - Clostridium perfringens*
 - Actinomyces israelii*
 - Eggerthella lenta*
15. O tratamento recomendado para paciente não alérgico no caso descrito na Questão 14 é:
- Ampicilina
 - Cefoxitina
 - Imipenem
 - Clindamicina
 - Vancomicina

Respostas

- | | | | |
|------|------|-------|-------|
| 1. C | 5. D | 9. E | 13. D |
| 2. E | 6. A | 10. B | 14. D |
| 3. E | 7. D | 11. A | 15. A |
| 4. B | 8. A | 12. E | |

REFERÊNCIAS

- Cohen-Poradosu R, Kasper DL: Anaerobic infections: General concepts. In Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (editors). *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*, 7th ed. Elsevier, 2010.
- Finegold SM, Song Y: Anaerobic cocci. In Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (editors). *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*, 7th ed. Elsevier, 2010.
- Garrett WS, Onderdonk AB: *Bacteroides*, *Prevotella*, *Porphyromonas*, and *Fusobacterium* species (and other medically important gram-negative bacilli). In Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (editors). *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*, 7th ed. Elsevier, 2010.
- Hall V: *Actinomyces*—Gathering evidence of human colonization and infection. *Anaerobe* 2008;14:1.
- Kononen E: Anaerobic gram-positive nonsporulating bacilli. In *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*, 7th ed. Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (editors). Elsevier, 2010.
- Kononen E, Wade WG, Citron DM: *Bacteroides*, *Porphyromonas*, *Prevotella*, *Fusobacterium*, and other anaerobic gram-negative rods. In Versalovic J, Carroll KC, Funke G. et al. (editors). *Manual of Clinical Microbiology*, 10th ed. ASM Press, 2011.
- Onderdonk AB, Garrett WS: Gas gangrene and other *Clostridium*-associated diseases. In Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (editors). *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*, 7th ed. Elsevier, 2010.
- Reddy P, Bleck TP: *Clostridium botulinum* (botulism). In Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (editors). *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*, 7th ed. Elsevier, 2010.
- Reddy P, Bleck TP: *Clostridium tetani* (tetanus). In Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (editors). *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*, 7th ed. Elsevier, 2010.
- Riordan T: Human infection with *Fusobacterium necrophorum* (Necrobacillosis) with a focus on Lemierre's syndrome. *Clin Microbiol Rev* 2007;20:622.
- Song Y, Finegold SM: *Peptostreptococcus*, *Finegoldia*, *Anaerococcus*, *Peptoniphilus*, *Veillonella*, and other anaerobic cocci. In Versalovic J, Carroll KC, Funke G. et al. (editors). *Manual of Clinical Microbiology*, 10th ed. ASM Press, 2011.
- Stevens DL, et al.: *Clostridium*. In Versalovic J, Carroll KC, Funke G, et al. (editors). *Manual of Clinical Microbiology*, 10th ed. ASM Press, 2011.
- Versalovic J, Carroll KC, Funke G. et al. (editors). *Manual of Clinical Microbiology*, 10th ed. ASM Press, 2011.
- Wexler HM. *Bacteroides*: The good, the bad and the nitty-gritty. *Clin Microbiol Rev* 2007;20:593.

Legionelas, bartonelas e patógenos bacterianos incomuns

LEGIONELLA PNEUMOPHILA E OUTRAS LEGIONELAS

Um surto de pneumonia amplamente divulgado, que acometeu pessoas que compareceram a uma convenção dos legionários americanos na Filadélfia (EUA), levou à realização de pesquisas que acabaram definindo a espécie *Legionella pneumophila* bem como as outras legionelas. Outros surtos de doença respiratória, provocados por microrganismos relacionados desde 1947, foram retrospectivamente diagnosticados. Existem dezenas de espécies *Legionella*, algumas com vários sorogrupos. A *L. pneumophila* é a principal causa de doença em seres humanos, e a *Legionella micdadei* e outras espécies às vezes provocam pneumonia. As outras legionelas raramente são isoladas de pacientes ou foram isoladas apenas a partir do meio ambiente.

Morfologia e identificação

L. pneumophila é o protótipo do grupo. O Quadro 22.1 mostra uma lista das legionelas de importância clínica primária.

A. Microrganismos típicos

As legionelas são bactérias gram-negativas aeróbias e exigentes, com 0,5 a 1 μm de largura e 2 a 50 μm de comprimento (Fig. 22.1). Com frequência, coram-se fracamente pelo método de Gram e não são visualizadas em colorações de amostras clínicas. Fazem-se necessários esfregaços corados pelo método de Gram quando se suspeita do crescimento de *Legionella* em meios de ágar. Deve-se utilizar fucsina básica (0,1%) como contracorante, visto que a safranina cora muito pouco essas bactérias.

B. Cultura

As legionelas podem crescer em meios de cultura complexos, como ágar de extrato de levedura-carvão tamponado (BCYE) com α -cetogluturato e ferro, em pH de 6,9 e à temperatura de 35°C e 90% de umidade. Podem-se adicionar antibióticos, a fim de tornar o meio seletivo para as espécies de *Legionella*. O carvão atua como um agente detoxificante. Para as hemoculturas, pode-se empregar um meio BCYE bifásico.

As legionelas crescem lentamente; em geral, aparecem colônias visíveis depois de três dias de incubação. As colônias que surgem depois de uma noite de incubação não são de *Legionella*. As colônias são redondas ou achatadas, com bordas

intactas. A coloração varia de incolor a rosa ou azul iridescente, sendo translúcidas ou salpicadas. É comum haver variação na morfologia das colônias, que podem perder rapidamente sua coloração e as marcas. Muitos outros gêneros de bactérias crescem no meio BCYE, devendo ser diferenciados de *Legionella* com base na coloração pelo método de Gram e outros testes.

Em geral, as legionelas em hemoculturas necessitam de duas semanas ou mais para crescer. Pode-se observar o aparecimento de colônias sobre a superfície de ágar do meio bifásico.

C. Características de crescimento

As legionelas são catalase-positivas. *L. pneumophila* é oxidase-positiva, enquanto as outras legionelas mostram-se variáveis na sua atividade de oxidase. *L. pneumophila* hidrolisa o hipurato, enquanto as outras legionelas não o fazem. A maioria das legionelas produz gelatinase e β -lactamase, enquanto *L. micdadei* não produz gelatinase e nem β -lactamase.

Antígenos e produtos celulares

Acredita-se que a especificidade antigênica de *L. pneumophila* seja decorrente de estruturas antigênicas complexas. Existem ao menos 16 sorogrupos de *L. pneumophila*; o sorogrupo 1 foi responsável pelo surto da doença dos legionários em 1976, e continua sendo o sorogrupo mais comum isolado em seres humanos. As espécies de *Legionella* não podem ser identificadas com base apenas no sorogrupo, uma vez que ocorre antigenicidade de reatividade cruzada entre diferentes espécies. Em certas ocasiões, outras bactérias gram-negativas exibem reatividade cruzada com antissoros para *L. pneumophila*.

As legionelas produzem ácidos graxos distintos de cadeia ramificada, de 14 a 17 carbonos. Pode-se utilizar a cromatografia líquido-gasosa para ajudar a caracterizar e determinar as espécies de legionelas.

As legionelas produzem proteases, fosfatase, lipase, DNase e RNase. Uma proteína secretora importante, a metaloprotease, tem atividades hemolítica e citotóxica. Todavia, não se demonstrou que essa proteína seja um fator de virulência necessário.

Patologia e patogênese

As legionelas são onipresentes em ambientes quentes e úmidos, sendo encontradas em lagos, termas e outras fontes de água. Podem multiplicar-se em amebas de vida livre e coexistir

QUADRO 22.1 Espécies de *Legionella* de importância clínica principal

Espécies	Pneumonia	Febre de Pontiac
<i>Legionella pneumophila</i>	+	Sorogrupos 1 e 6
<i>Legionella micdadei</i>	+	
<i>Legionella gormanii</i>	+	
<i>Legionella dumoffii</i>	+	
<i>Legionella bozemanii</i>	+	
<i>Legionella longbeachae</i>	+	
<i>Legionella wadsworthii</i>	+	
<i>Legionella jordanis</i>	+	
<i>Legionella feeleii</i>	+	+
<i>Legionella oakridgensis</i>	+	

com elas em biofilmes (ver seção Epidemiologia e controle, adiante). A infecção de indivíduos debilitados ou imunocomprometidos ocorre comumente após a inalação das bactérias de aerossóis gerados por sistemas de ar-condicionado, chuveiros e fontes semelhantes contaminados. Em geral, a *L. pneumophila* induz a infiltração pulmonar lobar, segmentar ou focal. Do ponto de vista histológico, o aspecto assemelha-se ao produzido por muitos outros patógenos bacterianos. Ocorre pneumonia purulenta aguda que afeta os alvéolos, com exsudato intra-alveolar denso de macrófagos, leucócitos polimorfonucleares, eritrócitos e material proteináceo. A maioria das legionelas nas lesões encontra-se no interior de células fagocíticas. Ocorre pouca infiltração intersticial, e verifica-se pouca ou nenhuma inflamação dos bronquíolos e das vias respiratórias superiores.

O conhecimento da patogênese da infecção por *L. pneumophila* provém do estudo de células isoladas de seres humanos e de animais suscetíveis, como cobaias.

L. pneumophila penetra e cresce rapidamente no interior dos macrófagos alveolares e monócitos humanos. As espécies de *Legionella* não necessitam da opsonização por C3b ou por anticorpos do isotipo IgG para introduzir macrófagos. Um importante fator de virulência para a invasão de macrófagos é a proteína Mip, no qual promove aderência e fagocitose. Dentro da célula hospedeira, essas bactérias localizam-se dentro de vacúolos fagossômicos, porém os mecanismos de defesa dos macrófagos são interrompidos nesse estágio. Com efeito, os vacúolos fagossômicos não se fundem com os grânulos lisossômicos. A atividade metabólica oxidativa do fagócito apresenta-se reduzida. Os fagossomos que contêm *L. pneumophila* não acidificam tanto quanto os que contêm outras partículas ingeridas. Ocorre o acúmulo de ribossomos, mitocôndrias e pequenas vesículas ao redor dos vacúolos que contêm *L. pneumophila*. As bactérias multiplicam-se no interior dos vacúolos até atingirem grande número; em seguida, as células são destruídas, as bactérias liberadas e ocorre infecção de outros macrófagos. A presença de ferro (transferrina-ferro) é essencial para o processo de crescimento intracelular das bactérias; entretanto, outros fatores importantes nos processos de crescimento, destruição celular e lesão tecidual não estão bem elucidados.

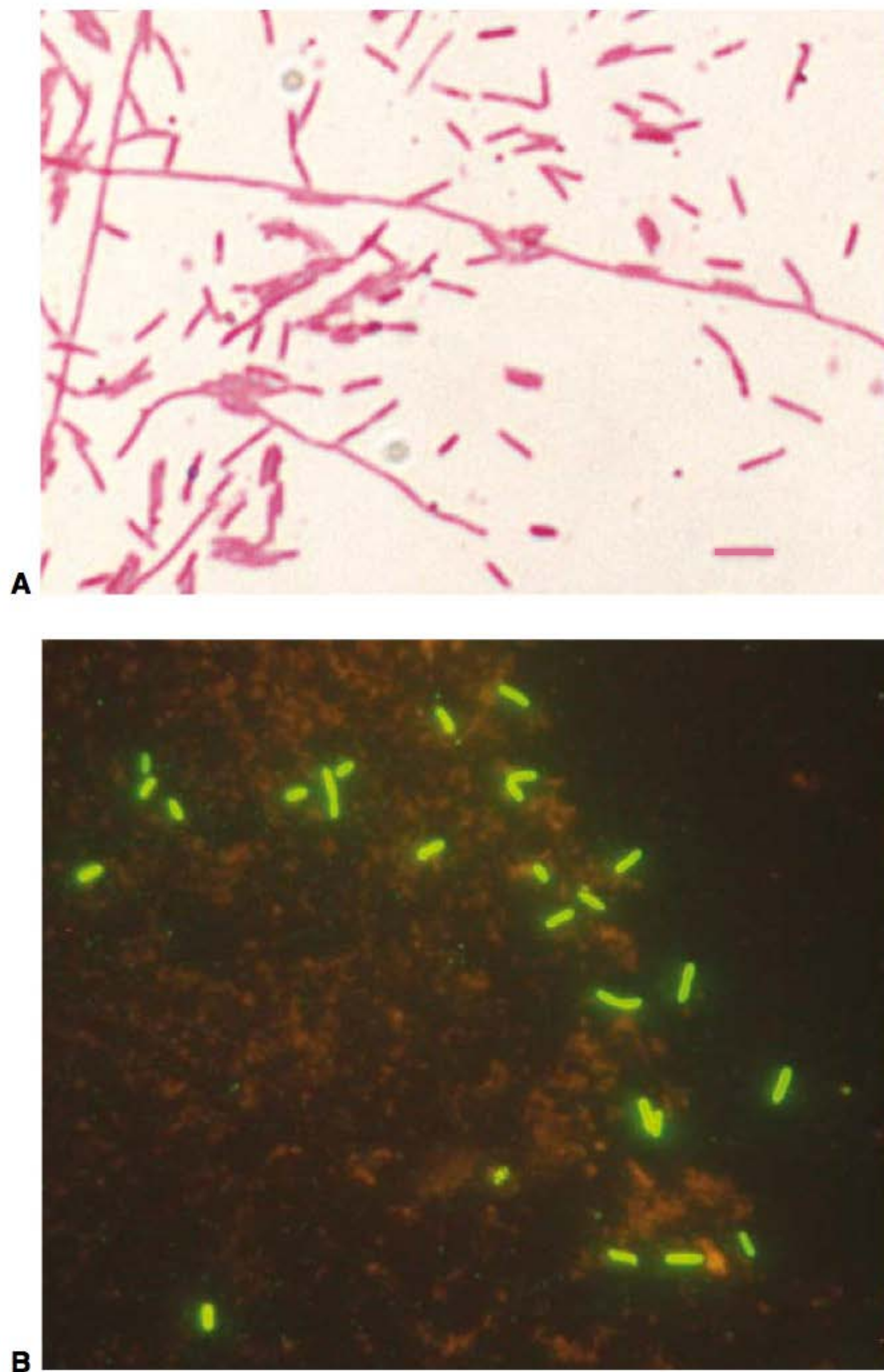


FIGURA 22.1 (A) Coloração pelo método de Gram de *Legionella pneumophila*; as legionelas coram-se fracamente com a fucsina básica e de modo deficiente com a safranina. Ampliação do original de 1.000 vezes. (Cortesia do CDC Public Health Image Library.) (B) Coloração direta com anticorpos fluorescentes de *Legionella* de espécies mistas, com o emprego de anticorpos contra antígenos de legionelas conjugados com fluoresceína. Ampliação do original de 1.000 vezes. (Cortesia de R. Nadarajah.)

Manifestações clínicas

A infecção assintomática é comum em todos os grupos etários, conforme se observa pelos títulos elevados de anticorpos específicos. A incidência da doença clinicamente significativa é maior em homens com mais de 55 anos de idade. Os fatores associados a risco elevado são tabagismo, bronquite crônica e enfisema, além de tratamento com esteroides e outros imunossupressores (como no transplante renal, na quimioterapia para câncer e no diabetes melito). Quando ocorre pneumonia em pacientes com esses fatores de risco, é necessário investigar a presença de *Legionella* como causa.

A infecção pode resultar em doença febril indefinida de curta duração ou em doença grave e rapidamente progressiva, com febre alta, calafrios, mal-estar, tosse improdutiva, hipoxia, diarreia e delírio. As radiografias de tórax revelam consolidação

focal frequentemente multilobar. Pode haver leucocitose, hiponatremia, hematúria (e mesmo insuficiência renal) ou anormalidades da função hepática. Durante alguns surtos, a taxa de mortalidade atingiu 10%. O diagnóstico baseia-se no quadro clínico e na exclusão de outras causas de pneumonia por meio de exames laboratoriais. A demonstração de *Legionella* em amostras clínicas pode estabelecer rapidamente um diagnóstico específico. A pesquisa de antígenos de *Legionella* na urina pode ser útil no início do curso da infecção por *L. pneumophila* do sorogrupo 1. O diagnóstico também pode ser estabelecido com base na cultura de legionelas ou em testes sorológicos, mas os resultados desses testes costumam ser demorados, ultrapassando o tempo necessário para a instituição do tratamento específico.

A *L. pneumophila* também causa uma doença denominada “febre de Pontiac” devido à ocorrência da síndrome clínica em um surto em Michigan, EUA. A síndrome caracteriza-se por febre e calafrios, mialgia, mal-estar e cefaleia, que surgem no decorrer de 6 a 12 horas. Além disso, ocorre tontura, fotofobia, rigidez de nuca e confusão. Os sintomas respiratórios são muito menos proeminentes em pacientes com febre de Pontiac, do que nos acometidos pela doença dos legionários, consistindo em tosse branda e faringite. Essa infecção é autolimitada e não necessita de antibioticoterapia.

Exames diagnósticos laboratoriais

A. Amostras

Nas infecções humanas, os microrganismos podem ser isolados de lavados brônquicos, do líquido pleural, de amostras de biópsia pulmonar ou do sangue. O isolamento de *Legionella* do escarro é mais difícil devido ao predomínio das bactérias da microbiota normal. A *Legionella* raramente é isolada de outros locais anatômicos.

B. Esfregaços

As legionelas não são observadas em esfregaços de amostras clínicas corados pelo método de Gram. Os testes de anticorpos fluorescentes diretos de amostras podem ser usados no diagnóstico; entretanto, exibem baixa sensibilidade em comparação com a cultura. Algumas vezes, são utilizadas colorações com prata em amostras de tecido.

C. Cultura

As amostras são cultivadas em ágar-BCYE (ver anteriormente). Os microrganismos cultivados podem ser rapidamente identificados por coloração imunofluorescente. O ágar-BCYE contendo antibióticos pode ser utilizado para a cultura de amostras contaminadas. A espectrometria de massa pela técnica de ionização por dessorção a laser, assistida por matriz, seguida de análise por tempo de voo em sequência-MALDI-TOF, fornece um diagnóstico rápido e com alta especificidade aos isolados clínicos.

D. Testes específicos

Algumas vezes, pode-se demonstrar a presença de antígenos de *Legionella* na urina do paciente por métodos imunológicos.

O teste de antígeno na urina é específico para a *L. pneumophila* sorogrupo 1. Dessa forma, o teste de antígeno urinário de legionela não é útil para se diagnosticar 20 a 70% das infecções por espécies *Legionella*, dependendo da localização geográfica, e não deve ser considerado o único teste para o diagnóstico de infecções por *Legionella*.

E. Testes sorológicos

Os níveis de anticorpos dirigidos contra as legionelas aumentam lentamente durante a doença. As provas sorológicas exibem sensibilidade de 60 a 80% e especificidade de 95 a 99%. Os testes sorológicos são mais úteis para se estabelecer um diagnóstico retrospectivo em surtos de infecção por *Legionella*.

Imunidade

Os pacientes infectados produzem anticorpos contra a *Legionella*, porém a resposta humoral máxima pode não ser observada até 4 a 8 semanas após a infecção. O papel dos anticorpos e das respostas celulares na imunidade protetora dos seres humanos ainda não foi definido. Os animais aos quais são administradas doses subletais de *L. pneumophila* virulenta, *L. pneumophila* avirulenta ou de vacina com proteína secretora principal são imunes a doses letais subsequentes de *L. pneumophila*. Ocorre resposta imunológica tanto humoral quanto celular. A resposta mediada por células é importante na imunidade protetora, devido à infecção e ao crescimento intracelular da *Legionella*.

Tratamento

L. pneumophila é um parasito intracelular de macrófagos e de outras células fagocíticas, e provavelmente de outras células humanas. Outras espécies de *Legionella* também podem mostrar crescimento significativo dentro de macrófagos humanos. Assim, os antimicrobianos empregáveis para tratar infecções por *Legionella* precisam penetrar nos fagócitos e ter atividade biológica nesses locais. Os macrolídeos (eritromicina, azitromicina, telitromicina e claritromicina), as quinolonas (ciprofloxacino e levofloxacino) e as tetraciclina (doxiciclina) são eficazes. Os β -lactâmicos, monobactâmicos e aminoglicosídeos não são eficazes; além disso, muitas legionelas produzem β -lactamases. Pode ser necessária terapia prolongada de três semanas, dependendo da situação clínica.

Epidemiologia e controle

Os habitats naturais das legionelas são os lagos, rios, e especialmente sistemas de água aquecida e solo. As legionelas crescem melhor em água quente, na presença de amebas e bactérias aquáticas. Proliferam em amebas, da mesma forma que o fazem nos macrófagos pulmonares. Quando as condições do ambiente são adversas, as amebas encistam-se, e amebas e legionelas sobrevivem até que ocorram melhores condições do meio ambiente, permitindo o desencistamento. As legionelas, amebas e outros microrganismos existem em biofilmes, onde as legionelas se encontram em estado sésil (dormente). As legionelas sobrevivem a tratamentos de água e entram em grande número nos sistemas de distribuição de água, onde proliferam.

As torres de resfriamento e condensadores evaporativos podem ser intensamente contaminados com *L. pneumophila*. Presumivelmente, os aerossóis que existem nessas torres ou condensadores disseminam os microrganismos para pessoas suscetíveis. De modo semelhante, existe uma ligação entre a contaminação dos sistemas de água residenciais e a doença dos legionários adquirida na comunidade, bem como entre a contaminação de sistemas de água hospitalares e a infecção hospitalar por *L. pneumophila*. A cloração maciça e o superaquecimento da água podem ajudar a controlar a multiplicação das legionelas na água e em sistemas de ar-condicionado. Medidas mais eficazes incluem uso de filtros de alta eficiência, ionização por cobre/prata e uso de dióxido de cloro ou monocloramina (ver Lin *et al.*, 2011).

Verificação de conceitos

- As espécies de *Legionella* são microrganismos ubiqüitários, que se coram fracamente pelo método de Gram. Esses microrganismos são normalmente isolados em água doce e em diferentes sistemas de água potável, em que sobrevivem no interior de amebas ou na proteção de biofilmes. As infecções humanas ocorrem pela inalação de água (aerossóis) contaminada.
- Há mais de 50 espécies de *Legionella*, porém a maioria das infecções é causada pela *L. pneumophila* sorogrupo 1. Os pacientes de risco incluem pacientes imunossuprimidos, como transplantados de medula óssea ou de órgãos sólidos, indivíduos com doença pulmonar crônica, fumantes ou diabéticos.
- A doença dos legionários é uma infecção multissistêmica, que inclui pneumonia, sintomas gastrintestinais, *delirium* e uma variedade de alterações laboratoriais. A pneumonia por *Legionella* é indistinguível de outras bactérias que causam infecções no trato respiratório inferior.
- O diagnóstico se baseia na pesquisa de antígenos na urina e na cultura bacteriológica. A sorologia é puramente retrospectiva e apresenta baixa sensibilidade e especificidade. Técnicas moleculares não estão amplamente disponíveis.
- As espécies de *Legionella* são patógenos intracelulares, portanto, somente antibióticos capazes de penetrar a célula hospedeira, como macrolídeos e fluoroquinolonas, devem ser usados no tratamento.
- Os hospitais que tratam pacientes imunossuprimidos deveriam monitorar com atenção o sistema de abastecimento de água para presença de *Legionella*. Autoridades de saúde pública locais devem disponibilizar orientação para o correto isolamento desse microrganismo e o tratamento das infecções.

BARTONELLA

As três espécies de maior importância médica do gênero *Bartonella* são a *Bartonella bacilliformis*, a causa da febre de Oroya e da verruga peruana; *Bartonella quintana*, a causa da febre das trincheiras da Primeira Guerra Mundial e de alguns casos de angiomatose bacilar; e *Bartonella henselae*, que provoca a doença da arranhadura do gato e que também é associada à angiose bacilar. Essas doenças exibem muitas características em comum. Existe um pequeno grupo adicional de espécies e subespécies de *Bartonella* raramente associado a doenças

humanas, primariamente endocardites como a *Bartonella elizabethae*, *Bartonella vinsonii* subespécie *berkhoffi*, *Bartonella vinsonii* subespécie *arupensis*, *Bartonella koehlerae* e *Bartonella alsatica*. Além disso, há um grande grupo associado a animais e que provavelmente não é transmitido aos seres humanos.

As espécies de *Bartonella* consistem em bastonetes gram-negativos pleomórficos, de crescimento lento e isolamento difícil em laboratório. Podem ser detectadas em tecidos infectados corados pelo método de impregnação de prata de Warthin-Starry.

Bartonella bacilliformis

Existem dois estágios da infecção por *B. bacilliformis*. O estágio inicial é a **febre de Oroya**, uma grave anemia infecciosa. O segundo estágio eruptivo, a **verruga peruana**, que surge comumente em 2 a 8 semanas, embora a verruga também possa ocorrer na ausência da febre de Oroya.

A febre de Oroya caracteriza-se por rápido desenvolvimento de anemia grave em consequência de destruição dos eritrócitos, aumento de tamanho do baço e do fígado e ocorrência de hemorragia nos linfonodos. O citoplasma das células que revestem os vasos sanguíneos é preenchido por massas de bartonelas, de modo que o edema endotelial pode resultar em oclusão vascular e trombose. A taxa de mortalidade da febre de Oroya sem tratamento atinge cerca de 40%. O diagnóstico é estabelecido com base no exame de esfregaços sanguíneos corados e hemoculturas em meio semissólido.

A verruga peruana consiste em lesões cutâneas vasculares que surgem em surtos sucessivos. Tem duração de cerca de um ano e provoca pouca reação sistêmica, não havendo casos fatais. As bartonelas podem ser observadas nos granulomas. As hemoculturas são com frequência positivas, porém não ocorre anemia.

A *B. bacilliformis* produz uma proteína que promove a deformidade (indentação) das membranas dos eritrócitos, e os flagelos dos microrganismos proporcionam a força mecânica necessária para invadir os eritrócitos. Também invade as células endoteliais e outros tipos de célula humana *in vitro*.

A bartonelose limita-se às regiões montanhosas dos Andes americanos na região tropical do Peru, da Colômbia e do Equador, sendo transmitida por mosquitos do gênero *Lutzomyia*.

B. bacilliformis cresce em ágar nutriente semissólido que contenha 10% de soro de coelho e 0,5% de hemoglobina. Depois de 10 dias ou mais de incubação a 28°C, verifica-se o aparecimento de turvação no meio de cultura, e podem-se observar microrganismos granulados, bem como em forma de bastonete nos esfregaços corados pelo método de Gram.

O ciprofloxacino, doxiciclina, ampicilina ou sulfametoxazol trimetoprima devem ser administrados durante pelo menos uma semana. A terapia parenteral pode ser utilizada se o paciente não conseguir absorver a medicação oral. Cloranfenicol tem sido utilizado para o tratamento de infecções por *B. bacilliformis* particularmente na América do Sul. Nos EUA, o cloranfenicol pode não estar disponível, por isso, nesse país, recomenda-se que não seja considerado para a terapia. Juntamente com transfusões de sangue, quando indicadas, a terapia antimicrobiana reduz as taxas de mortalidade. O controle da doença depende da eliminação dos mosquitos-pólvora vetores: o uso de inseticidas, de repelentes de insetos e a eliminação das áreas de reprodução dos mosquitos-pólvora constituem medidas valiosas. A prevenção com antibióticos pode ser útil.

Bartonella henselae* e *Bartonella quintana

A. Doença da arranhadura do gato

Em geral, a doença da arranhadura do gato é uma doença autolimitada e benigna que se manifesta em forma de febre e linfadenopatia cerca de duas semanas após contato com um gato (comumente, arranhadura, lambida, mordida ou, talvez, picada de pulga). Verifica-se o aparecimento de uma lesão cutânea primária (pápula ou pústula) no local 3 a 10 dias após o contato. O paciente costuma ter um aspecto geral satisfatório, mas pode apresentar febre baixa e, em certas ocasiões, cefaleia, faringite ou conjuntivite. Os linfonodos regionais (comumente os axilares, epitrocleares e cervicais) mostram-se acentuadamente aumentados e, algumas vezes, hipersensíveis, podendo o quadro persistir por várias semanas ou até meses. Os linfonodos podem supurar e liberar pus. Nos EUA, acredita-se que ocorram mais de 20.000 casos por ano.

O diagnóstico da doença da arranhadura do gato baseia-se (1) na história clínica e nos achados físicos sugestivos; (2) na aspiração de pus de linfonodos que não contêm bactérias passíveis de cultura pelos métodos habituais; e (3) nos achados histopatológicos característicos, com lesões granulomatosas, que podem incluir bactérias coradas por métodos de impregnação de prata. A obtenção de um teste cutâneo positivo também foi incluída como critério, mas somente como interesse histórico. A observação de títulos de 1:64 ou mais em uma única amostra de soro no teste do anticorpo fluorescente indireto sustenta fortemente o diagnóstico; todavia, o desenvolvimento de títulos diagnósticos pode ser tardio; ensaios imunoenzimáticos também podem ser úteis.

A doença da arranhadura do gato é causada por *B. henselae*, um pequeno bastonete gram-negativo pleomórfico observado principalmente nas paredes dos capilares, próximo à hiperplasia folicular ou no interior de microabscessos. Os microrganismos são mais bem visualizados em cortes histológicos corados pelo método de impregnação de prata de Warthin-Starry; também podem ser detectados por corantes imunofluorescentes. Comumente, não se recomenda a cultura de *B. henselae* para essa doença relativamente benigna.

O reservatório de *B. henselae* é o gato doméstico, podendo ser infectados 33% ou mais dos gatos (e, possivelmente, suas pulgas). Acredita-se que o contato com gatos infectados através de lesões cutâneas possa transmitir a infecção.

A doença da arranhadura do gato, que ocorre comumente em indivíduos imunocompetentes, costuma ser autolimitada. O tratamento é, em grande parte, de suporte, com a tranquilização do paciente, aplicação de compressas quentes e úmidas, bem como uso de analgésicos. A aspiração do pus ou a remoção cirúrgica de um linfonodo excessivamente aumentado podem aliviar os sintomas. O tratamento com tetraciclina, azitromicina, sulfametoxazol-trimetoprima, ripampicina, gentamicina e fluoroquinolona pode ser útil.

B. Angiomatose bacilar

A angiomatose bacilar é uma doença que ocorre predominantemente em indivíduos imunossuprimidos, sobretudo em pacientes com Aids. São raros os casos registrados em indivíduos imunocompetentes. Do ponto de vista histopatológico, a angiomatose bacilar caracteriza-se por lesões circunscritas com proliferação capilar lobular, bem como vasos redondos

e abertos, havendo células endoteliais cubóides que se projetam no lúmen vascular. Um achado proeminente consiste em histiócitos epitelióides circundados por matriz fibromixóide frouxa. Podem-se observar os bacilos pleomórficos no tecido subendotelial quando corado pelo método de impregnação de prata de Warthin-Starry. As lesões podem ser infiltradas por leucócitos polimorfonucleares.

Na sua forma comum, a angiomatose bacilar manifesta-se como uma pápula vermelha (semelhante à uva-do-monte), frequentemente com escama e eritema circundantes. As lesões aumentam, podendo atingir vários centímetros de diâmetro e sofrer ulceração; podem ser isoladas ou múltiplas. O quadro clínico assemelha-se com frequência ao do sarcoma de Kaposi em pacientes com Aids, embora as duas doenças sejam histologicamente diferentes. A angiomatose bacilar acomete praticamente qualquer órgão. O comprometimento do fígado (e do baço) caracteriza-se pela proliferação de espaços císticos repletos de sangue, circundados por uma matriz fibromixóide contendo as bactérias. Essa forma da doença, denominada **peliose hepática**, é em geral acompanhada de febre, perda de peso e dor abdominal. Ocorre também uma forma bacteriêmica de infecção com sinais inespecíficos de mal-estar, febre e perda de peso.

O diagnóstico é confirmado pelos achados histopatológicos característicos e demonstração dos bacilos pleomórficos em cortes corados pela prata. A *B. henselae* e a *B. quintana* podem ser isoladas por meio de cultura direta de amostras de biópsia de tecido acometido obtidas com cuidado, de modo a não haver qualquer bactéria cutânea contaminante. As amostras de biópsia devem ser homogeneizadas em meio de cultura de tecido suplementado e inoculadas em ágar-chocolate fresco e ágar de infusão de coração com 5% de sangue de coelho. As hemoculturas obtidas pelo método de lise-centrifugação podem ser inoculadas nos mesmos meios de cultura. As culturas devem ser incubadas em 5% de CO₂ a 36°C durante um período mínimo de três semanas. As amostras também podem ser cultivadas em monocamadas de cultura de células eucarióticas. Do ponto de vista bioquímico, *B. henselae* e *B. quintana* são relativamente inertes, apresentando inclusive reações negativas da catalase e da oxidase, assim como testes negativos de utilização dos carboidratos. Pode-se detectar uma atividade enzimática com os substratos de aminoácidos por métodos que testam as enzimas pré-formadas. A identificação definitiva é obtida por demonstração da sequência de todo, ou de parte do gene do RNA ribossômico 16S, amplificado pela reação em cadeia da polimerase. Em função da dificuldade no isolamento das espécies de *Bartonella*, a partir de espécimes clínicos e da falta de testes moleculares, os testes sorológicos ainda são considerados por muitos como a melhor opção. A imunofluorescência indireta é o teste mais frequente empregado.

O tratamento da angiomatose bacilar consiste em eritromicina ou doxiciclina via oral (mais gentamicina para os pacientes muito graves) durante um período mínimo de dois meses. As recidivas são comuns, mas podem ser tratadas com os mesmos fármacos utilizados inicialmente.

O reservatório da *B. henselae* é habitualmente o gato doméstico, e os pacientes com angiomatose bacilar causada por esse microrganismo com frequência têm contato com gatos ou fornecem história de picada de pulgas de gato. Os únicos reservatórios conhecidos da *B. quintana* são os seres humanos e o piolho do corpo.

Verificação de conceitos

- As espécies de *Bartonella* compreendem bastonetes curtos gram-negativos encontrados entre animais, seres humanos e seus vetores.
- Os patógenos humanos incluem *B. bacilliformis* causador da febre de Oroya e da verruga peruana, principalmente entre as populações andinas, também responsável pela febre das trincheiras, por endocardites e pela angiomatose bacilar.
- *B. henselae* é a causa de endocardites, da doença da arranhadura do gato e da angiomatose bacilar. O agente infeccioso é adquirido pela mordida e arranhadura do gato, ou pela picada da pulga do gato.
- O diagnóstico das infecções por *B. henselae* é prejudicado pelo crescimento lento do microrganismo, que cresce melhor em ágar-sangue ou ágar chocolate. Outros métodos de diagnóstico incluem demonstração do microrganismo nos tecidos pela coloração de Warthin-Starry e a sorologia, que é o principal método utilizado.
- O tratamento das infecções por *Bartonella* inclui macrolídeos (azitromicina), fluoroquinolonas e doxiciclina.

STREPTOBACILLUS MONILIFORMIS

O *Streptobacillus moniliformis* é um microrganismo gram-negativo, aeróbio e altamente pleomórfico que forma cadeias irregulares de bacilos intercalados com dilatações fusiformes e grandes corpúsculos redondos. Esse microrganismo cresce melhor a 37°C em meios de cultura que contenham proteína sérica, gema de ovo ou amido; todavia, seu crescimento cessa a uma temperatura de 22°C. As formas L podem ser facilmente demonstradas na maioria das culturas do microrganismo. O repique de colônias puras de formas L em meios de cultura líquidos com frequência resulta no reaparecimento dos estreptobacilos. Todas as cepas de estreptobacilos parecem antígenicamente idênticas.

O *S. moniliformis* é um habitante normal da garganta de ratos, podendo infectar o ser humano por mordidas desse animal. A doença humana (**febre da mordida do rato**) caracteriza-se por febre séptica, exantemas petequiais e eritematosos, bem como poliartrite muito dolorosa. O diagnóstico baseia-se em hemoculturas e culturas de líquido articular ou pus, na inoculação em camundongos (não realizada em laboratórios clínicos) e em testes de soroaglutinação.

Esse microrganismo também pode provocar infecção após ser ingerido no leite. A doença é denominada febre de Haverhill e tem ocorrido em surtos epidêmicos.

A penicilina e talvez outros antibióticos são terapêuticamente eficazes.

A febre da mordida do rato com quadro clínico ligeiramente diferente (*sodoku*) é causada pelo *Spirillum minor* (ver o Cap. 24).

DOENÇA DE WHIPPLE

A doença de Whipple caracteriza-se por febre, dor abdominal, diarreia, perda de peso e poliartralgia migratória. Ocorre o comprometimento primário do intestino delgado e dos linfonodos mesentéricos, embora qualquer órgão possa ser acometido.

Do ponto de vista histológico, verifica-se a ocorrência de infiltração proeminente por macrófagos e deposição de gordura. Os vacúolos característicos no interior dos macrófagos, que se coram com o ácido periódico de Schiff (PAS), são patognômicos da doença. O material intracelular e extracelular PAS-positivo consiste em bacilos. Historicamente, as culturas de rotina das amostras clínicas davam resultados negativos, porém mais recentemente o microrganismo tem sido cultivado em associação com células eucarióticas (fibroblastos humanos, monócitos do sangue periférico desativados). Antes do sucesso desta abordagem (cultivo do microrganismo), a amplificação do RNA ribossômico 16S bacteriano pela reação em cadeia da polimerase possibilitou a identificação de uma sequência peculiar das bactérias nas lesões. A análise filogenética demonstrou ser o microrganismo um actinomiceto gram-positivo diferente de qualquer gênero conhecido. O microrganismo foi denominado *Tropheryma whipplei*. O diagnóstico da doença de Whipple é feito por reação em cadeia da polimerase (PCR) a partir de uma amostra apropriada (biópsia de intestino, de cérebro, etc.) para *T. whipplei*.

QUESTÕES DE REVISÃO

1. O ser humano pode infectar-se com *Legionella pneumophila* por:
 - (A) Beber água contaminada com *Acanthamoeba castellanii* que contenha *Legionella pneumophila*
 - (B) Beijar uma pessoa portadora de *Legionella*
 - (C) Inalar aerossóis de fontes ambientais de água
 - (D) Ser picado por um mosquito
 - (E) Consumir carne de porco malcozida
2. Uma menina de 11 anos de idade desenvolveu um princípio de febre aguda, calafrios, cefaleia, vômitos graves, artralgia migratória (dor nas articulações) e mialgias (dores musculares). Dois dias depois, desenvolveu um exantema maculopapular nas palmas das mãos, plantas dos pés, e extremidades. Ao mesmo tempo, o joelho esquerdo tornou-se extremamente doloroso e inchado. Ao exame, foi demonstrada a presença de líquido no joelho. O histórico ainda revelou que a paciente tinha um rato de estimação com quem brincava. A cultura do líquido do joelho em ágar-sangue de carneiro a 5% mostrou colônias de 2 mm após três dias de incubação. O caldo de cultura mostrou pequeno crescimento em forma de bolas (*puffball*) no fundo do tubo. A coloração pelo método de Gram mostrou um bacilo gram-negativo de 0,5 µm de largura e 1 a 4 µm de comprimento. Algumas formas extremamente longas (até 150 µm) com dilatações fusiformes e grandes corpúsculos redondos foram observadas. O microbiologista que observou o esfregaço de Gram soube imediatamente que a causa da infecção na menina era causada por
 - (A) *Treponema pallidum*
 - (B) *Streptobacillus moniliformis*
 - (C) *Francisella tularensis*
 - (D) *Bartonella bacilliformis*
 - (E) *Yersinia pestis*
3. Um homem de 70 anos de idade apresenta-se com pneumonia bilateral. O teste de antígenos urinários para *Legionella* teve resultado positivo. Qual das seguintes alternativas é a causa mais provável dessa pneumonia?
 - (A) *Legionella pneumophila* sorogrupo 1
 - (B) *Legionella micdadei* sorogrupo 4

- (C) *Legionella bozemanii* sorogrupo 2
 (D) *Legionella longbeachae* sorogrupo 2
 (E) Todas as alternativas anteriores, uma vez que o teste de antígeno urinário é específico do gênero, e não específico do sorotipo ou da espécie.
4. Um homem de 70 anos de idade chega à sala de emergência com febre e sentindo-se “muito cansado”. Ele apresenta uma tosse crônica do cigarro, que aumentou drasticamente na última semana e vem produzindo expectoração esbranquiçada. No dia anterior, sua temperatura era de 38°C e ele apresentara diarreia. O exame físico revelou sibilos inspiratórios e expiratórios e estertores sobre o campo inferior do pulmão direito. A radiografia de tórax mostra o lobo inferior direito desigual com infiltrado. O diagnóstico diferencial da doença desse paciente é
- (A) Pneumonia por *Streptococcus pneumoniae*
 (B) Pneumonia por *Legionella pneumophila*
 (C) Pneumonia por *Haemophilus influenzae*
 (D) Pneumonia por *Mycoplasma pneumoniae*
 (E) Todas as alternativas anteriores
5. Na cultura de escarro de rotina do paciente da Questão 4, houve o crescimento de bactérias da microbiota normal. O tratamento com ampicilina por dois dias não mostrou melhora do quadro clínico. Foi considerado o diagnóstico de doença dos legionários, tendo sido feita broncoscopia para obtenção de lavado broncoalveolar e secreção das vias respiratórias. Qual das seguintes alternativas pode sugerir um diagnóstico de doença causada por *Legionella pneumophila* sorogrupo 1?
- (A) Teste de antígeno na urina para *Legionella*
 (B) Teste de anticorpos por fluorescência direta no fluido do lavado broncoalveolar
 (C) Cultura do lavado broncoalveolar em ágar de extrato de levedura-carvão tamponado (BCYE) com antibióticos
 (D) Teste de anticorpos em soros pareados (fases aguda e convalescente)
 (E) Todas as opções anteriores
6. O carvão está presente no ágar de extrato de levedura-carvão tamponado (BCYE) para isolar *Legionella pneumophila* para:
- (A) Fornecer fatores de crescimento ordinários oriundos de amebas de vida livre presentes na água ambiental
 (B) Servir como fonte de carbono para o crescimento de *Legionella pneumophila*
 (C) Prevenir a hemólise de hemácias no meio
 (D) Fornecer um fundo escuro
 (E) Atuar como agente detoxificante
7. Uma jovem de 23 anos de idade apresenta-se com história de febre baixa e cefaleia há três dias. O exame clínico revela linfonodos levemente inchados próximos da axila esquerda. Aproximadamente duas semanas atrás, ela visitou uma amiga e sofreu um arranhão do gato dela no braço esquerdo; nesse local, desenvolveu-se posteriormente uma pápula avermelhada. Qual das seguintes afirmativas sobre a doença da arranhadura do gato é a mais correta?
- (A) O diagnóstico é baseado em uma história sugestiva e no exame físico
 (B) O diagnóstico é baseado em resultados negativos dos cultivos bacterianos de rotina de pus aspirado dos linfonodos envolvidos
 (C) A doença em geral é autolimitada em pessoas imunocompetentes
 (D) O agente etiológico é *Bartonella henselae*
 (E) Todas as alternativas anteriores
8. Qual das seguintes afirmativas sobre a angiomatose bacilar é a mais correta?
- (A) É causada por *Bartonella bacilliformis*
 (B) É tipicamente confinada à pele
 (C) O principal diagnóstico diferencial é o sarcoma de Kaposi
 (D) O agente etiológico pode crescer em 1 a 2 dias em ágar-sangue de carneiro (cultura de rotina)
 (E) Os cães são o reservatório do agente etiológico
9. Um importante fator na patogênese da doença dos legionários é que:
- (A) A *Legionella pneumophila* mata as células polimorfonucleares
 (B) Os macrófagos alveolares fagocitam a *Legionella pneumophila* empregando pseudópodes espiralados
 (C) A *Legionella pneumophila* invade os capilares pulmonares, levando a disseminação e doença sistêmica
 (D) A *Legionella pneumophila* induz a fusão dos macrófagos alveolares com os lisossomos
 (E) A proteína de superfície externa A (OspA) da *Legionella pneumophila* é importante para a invasão dos macrófagos alveolares
10. Todas as afirmações abaixo sobre *T. whipplei* são verdadeiras, exceto:
- (A) É facilmente cultivável em ágar-chocolate após três dias de incubação
 (B) É uma actinomiceto gram-positivo
 (C) Causa febre, dor abdominal, diarreia, perda de peso e poliartralgia migratória
 (D) Se cora com o ácido periódico de Schiff (PAS)
11. Todas as afirmações abaixo sobre *Legionella* são verdadeiras, exceto:
- (A) Hospitais que atendem pacientes imunossuprimidos com risco de infecções por *Legionella* deveriam monitorar o sistema de água potável para a presença do microrganismo
 (B) O contato pessoa a pessoa é o principal mecanismo de transmissão do microrganismo
 (C) As espécies podem ser visualizadas pelo método de Gram, caso a carbofucsina seja utilizada como contracorante
 (D) A radiografia de tórax de uma paciente com pneumonia provocada por *Legionella* é indistinguível das pneumonias causadas por outras bactérias
 (E) Os macrolídeos e as quinolonas são os fármacos de primeira escolha no tratamento das infecções por *Legionella*
12. Qual das afirmações melhor representa o papel da proteína Mip na patogênese de *Legionella*?
- (A) Previne a fusão fagossomo-lisossomo
 (B) Atua como siderófora para captura de ferro
 (C) Previne a fagocitose
 (D) Facilita a aderência ao macrófago e estimula a invasão celular
 (E) Nenhuma das alternativas anteriores
13. A febre de Pontiac é uma forma grave de pneumonia causada pela *Legionella pneumophila* sorogrupos 1 e 6
- (A) Verdadeiro
 (B) Falso
14. Todas as afirmações abaixo sobre *Streptobacillus moniliformis* são verdadeiras, exceto:
- (A) É sensível à penicilina
 (B) Causa a febre da mordida do rato
 (C) Causa a febre de Haverhill pela ingestão de alimentos contaminados
 (D) O microrganismo apresenta forma espiralada

15. O diagnóstico da doença de Whipple é melhor determinado por:
- (A) Sorologia pareada obtida com intervalo de oito semanas
 - (B) Cultura em meios para microbactérias
 - (C) Amplificação do ácido nucleico a partir de amostra de tecido
 - (D) Histopatologia
 - (E) Nenhuma das alternativas anteriores

Respostas

- | | | | |
|------|------|-------|-------|
| 1. C | 5. E | 9. B | 13. B |
| 2. B | 6. E | 10. A | 14. D |
| 3. A | 7. E | 11. B | 15. C |
| 4. E | 8. C | 12. D | |

REFERÊNCIAS

- Edelstein PH: *Legionella*. In Versalovic J, Carroll KC, Funke G, et al (editors). *Manual of Clinical Microbiology*, 10th ed. ASM Press, 2011.
- Edelstein PH, Cianciotto NP: *Legionella*. In Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, et al. (editors). *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*, 7th ed. Elsevier, 2010.
- Lin YE, Stout JE, Yu VL: Prevention of hospital-acquired legionellosis. *Curr Opin Infect Dis* 2011;24:350–356.
- Maggi RG, Kempf VAJ, Chomel BB, et al: *Bartonella*. In Versalovic J, Carroll KC, Funke G, et al. (editors). *Manual of Clinical Microbiology*, 10th ed. ASM Press, 2011.
- Muder RR: Other *Legionella* species. In Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, et al. (editors). *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*, 7th ed. Elsevier, 2010.
- Slater LN, Welch DF: *Bartonella*, including cat-scratch disease. In Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, et al. (editors). *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*, 7th ed. Elsevier, 2010.

Micobactérias

As micobactérias são bactérias aeróbias em forma de bastonete que não formam esporos. Apesar de não serem facilmente coradas, resistem à descoloração por ácido ou álcool e, por esse motivo, são denominadas bacilos “álcool-acidorresistentes” (BAAR). O *Mycobacterium tuberculosis* é um patógeno muito importante em seres humanos e que provoca tuberculose. O *Mycobacterium leprae* causa a hanseníase. O *Mycobacterium avium-intracellulare* (complexo *M. avium* ou MAC) e outras micobactérias não tuberculosas (NTM) que com frequência infectam pacientes com Aids são patógenos oportunistas em indivíduos imunocomprometidos e por ocasião causam doença em pacientes com o sistema imunológico normal. Existem mais de 200 espécies de *Mycobacterium*, inclusive muitas que são saprófitas. As micobactérias que infectam os seres humanos estão relacionadas no Quadro 23.1.

MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS

Morfologia e identificação

A. Microrganismos típicos

Nos tecidos, os bacilos da tuberculose consistem em bastonetes retos e finos, medindo cerca de $0,4 \times 3 \mu\text{m}$ (Fig. 23.1). Em meios artificiais, são observadas formas cocoides e filamentosas, com morfologia variável de uma espécie para outra. As micobactérias não podem ser classificadas como microrganismos gram-positivos ou gram-negativos. Coradas com corantes básicos, não podem ser descoradas por álcool independentemente do tratamento com iodo. Os verdadeiros bacilos da tuberculose caracterizam-se pela sua “álcool-acidorresistência” — isto é, o álcool etílico a 95%, contendo 3% de ácido clorídrico (ácido-álcool), descora rapidamente todas as bactérias, exceto as micobactérias. A álcool-acidorresistência depende da integridade do envelope lipídico. A **técnica de Ziehl-Neelsen** de coloração é empregada para a identificação das bactérias álcool-acidorresistentes. O método é descrito de modo detalhado no Capítulo 47. Nos esfregaços de escarro ou em cortes de tecido, as micobactérias podem ser demonstradas pela sua fluorescência amarelo-alaranjada após coloração com corantes de fluorocromo (p. ex., auramina, rodamina). A facilidade com que os BAAR podem ser visualizados com as colorações de fluorocromos faz dessas colorações as preferidas para amostras clínicas (Fig. 23.1B).

B. Cultura

Os meios para a cultura primária das micobactérias devem incluir um não seletivo e um seletivo. Os meios seletivos contêm antibióticos para evitar o crescimento excessivo de bactérias e fungos contaminantes. Existem três formulações gerais que podem ser utilizadas tanto para os meios seletivos quanto para os não seletivos.

1. Meios de ágar semissintéticos — tais meios de cultura (p. ex., Middlebrook 7H10 e 7H11) contêm sais específicos, vitaminas, cofatores, ácido oleico, albumina, catalase e glicerol; o meio 7H11 também contém hidrolisado de caseína. A albumina neutraliza os efeitos tóxicos e inibitórios dos ácidos graxos na amostra ou no meio. Os inóculos grandes crescem nesses meios de cultura em algumas semanas. Devido à possível necessidade de grandes inóculos, tais meios de cultura podem ser menos sensíveis que os outros para o isolamento primário das micobactérias.

Os meios de ágar semissintéticos são utilizados como meios seletivos para observar a morfologia das colônias e para teste de sensibilidade com o acréscimo de antibióticos a serem testados.

2. Meios espessados com ovo — são meios de cultura (p. ex., Löwenstein-Jensen) que contêm sais definidos, glicerol e substâncias orgânicas complexas (p. ex., ovos frescos ou gema de ovo, farinha de batata e outros ingredientes em várias combinações). O verde de malaquita é incluído para inibir outras bactérias. Os pequenos inóculos em amostras de pacientes crescem nesses meios de cultura em 3 a 6 semanas.

Tais meios com antibióticos adicionados (Gruft e o Mycobactosel*) são utilizados como meios seletivos.

3. Meios de cultura em caldo — os meios em caldo (p. ex., Middlebrook 7H9 e 7H12) propiciam a proliferação de pequenos inóculos. Normalmente, as micobactérias crescem em

* N. de R.T. Meios seletivos que contêm antibióticos como meio Gruft (modificação de Löwenstein-Jensen) e o Mycobactosel são algumas vezes usados em combinação com meios não seletivos para aumentar o isolamento de micobactérias de amostras contaminadas. O meio Gruft contém penicilina e ácido nalidíxico e o meio Mycobactosel contém cicloheximida, lincomicina e ácido nalidíxico. Basicamente, apresentam em sua composição gema de ovos, farinha de batata e glicerol com variações mínimas em sais definidos, leite e batata, além de verde de malaquita para suprimir o crescimento de bactérias gram-positivas.

QUADRO 23.1 Micobactérias que infectam seres humanos

Espécies	Reservatório	Manifestações clínicas comuns; comentários
ESPÉCIES SEMPRE CONSIDERADAS PATOGÊNICAS		
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	Seres humanos	Tuberculose pulmonar e disseminada; milhões de casos anualmente no mundo
<i>Mycobacterium leprae</i>	Seres humanos	Hanseníase
<i>Mycobacterium bovis</i>	Seres humanos, bovinos	Doença semelhante à tuberculose, rara na América do Norte; <i>Mycobacterium bovis</i> é estreitamente relacionado com <i>Mycobacterium tuberculosis</i>
ESPÉCIES POTENCIALMENTE PATOGÊNICAS EM SERES HUMANOS		
Causa moderadamente comum de doenças		
Complexo <i>Mycobacterium avium</i>	Solo, água, aves, galinhas, suínos, bovinos, meio ambiente	Disseminada, pulmonar, muito comum em pacientes com Aids; ocorre em outros pacientes imunodeprimidos; incomum em pacientes com o sistema imunológico normal
<i>Mycobacterium kansasii</i>	Água, bovinos	Pulmonar, outros locais
Causas pouco frequentes a muito raras de doença		
<i>Mycobacterium africanum</i>	Seres humanos, macacos	Cultura pulmonar; semelhante ao <i>Mycobacterium tuberculosis</i> ; rara
<i>Mycobacterium genavense</i>	Seres humanos, pássaros domésticos	Sangue em pacientes com Aids; crescem em meio líquido (BACTEC) e meio sólido suplementado com micobactina J; crescimento em duas a oito semanas
<i>Mycobacterium haemophilum</i>	Desconhecido	Nódulos subcutâneos e úlceras principalmente em pacientes com Aids; necessita de hemoglobina ou hemina; cresce a 28 a 32°C; raro
<i>Mycobacterium malmoense</i>	Desconhecido, ambiente	Pulmonar; doença semelhante à tuberculose (adultos), linfonodos (crianças); a maior parte dos casos relatados é da Suécia, mas o microrganismo pode estar muito mais disseminado; <i>Mycobacterium malmoense</i> é estreitamente relacionado com <i>Mycobacterium avium intracellulare</i> ; leva 8 a 12 semanas para crescer
<i>Mycobacterium marinum</i>	Peixe, água	Nódulos subcutâneos e abscessos, úlceras cutâneas
<i>Mycobacterium scrofulaceum</i>	Solo, água, alimentos mofados	Linfadenite cervical, geralmente curada por incisão, drenagem e remoção dos linfonodos envolvidos
<i>Mycobacterium nonchromogenicum</i>	Ambiente	O patógeno principal é o complexo <i>Mycobacterium terrae</i> . Causa tenossinovite nas mãos
<i>Mycobacterium simiae</i>	Macacos, água	Pulmonar, disseminado em pacientes com Aids; raro
<i>Mycobacterium szulgai</i>	Desconhecido	Pulmonar, tipo tuberculose; raro
<i>Mycobacterium ulcerans</i>	Seres humanos, ambiente	Nódulos subcutâneos e úlceras; pode ser grave; <i>Mycobacterium ulcerans</i> é estreitamente relacionado com <i>Mycobacterium marinum</i> ; leva 6 a 12 semanas para crescer; crescimento ótimo a 33°C sugere fonte ambiental; raro
<i>Mycobacterium xenopi</i>	Água, aves	Pulmonar, tipo tuberculose com doença pulmonar preexistente; rara
De crescimento rápido		
<i>Mycobacterium abscessus</i>	Solo, água, animais	A mais frequente micobactéria de crescimento rápido isolada de infecções pulmonares; de pele e de tecidos moles; frequentemente resistente a vários fármacos
<i>Mycobacterium chelonae</i>	Solo, água, animais, vida marinha	Lesões cutâneas (mais comum), abscessos subcutâneos, infecções disseminadas em pacientes imunocomprometidos
<i>Mycobacterium fortuitum</i>	Solo, água, animais	Consiste em um complexo de microrganismos que só podem ser diferenciados por métodos moleculares. Associado a furunculose de unhas e infecções pulmonares similares a <i>Mycobacterium abscessus</i>
<i>Mycobacterium immunogenum</i>	Ambiente	Associado a pseudossurtos ligados a material hospitalar contaminado; os isolados têm sido associados a doenças de articulações, úlcera de pele, infecções de cateteres e doença pulmonar. Estreitamente relacionado com <i>Mycobacterium chelonae abscessus</i>
<i>Mycobacterium mucogenicum</i>	Desconhecido	Infecções associadas a cateter venoso central são as mais importantes ligadas a este microrganismo. O nome reflete sua aparência mucoide em cultura
ESPÉCIES SAPROFÍTICAS QUE RARAMENTE CAUSAM DOENÇA EM SERES HUMANOS		
<i>Mycobacterium gordonae</i>	Água	Estas espécies <i>Mycobacterium</i> saprofíticas são raros causadores de doença em seres humanos. Culturas positivas para estas micobactérias em geral representam contaminação do ambiente nas amostras, e não doença. Muitas dessas micobactérias saprofíticas crescem melhor a temperaturas $\leq 33^\circ\text{C}$. Existem muitas outras espécies de micobactérias saprofíticas não relacionadas aqui que podem raramente aparecer em culturas de amostras de pacientes
<i>Mycobacterium flavescens</i>	Solo, água	
<i>Mycobacterium fallax</i>	Solo, água	
<i>Mycobacterium gastrii</i>	Lavados gástricos	
<i>Mycobacterium smegmatis</i>	Solo, água	
Complexo <i>Mycobacterium terrae</i>	Solo, água	

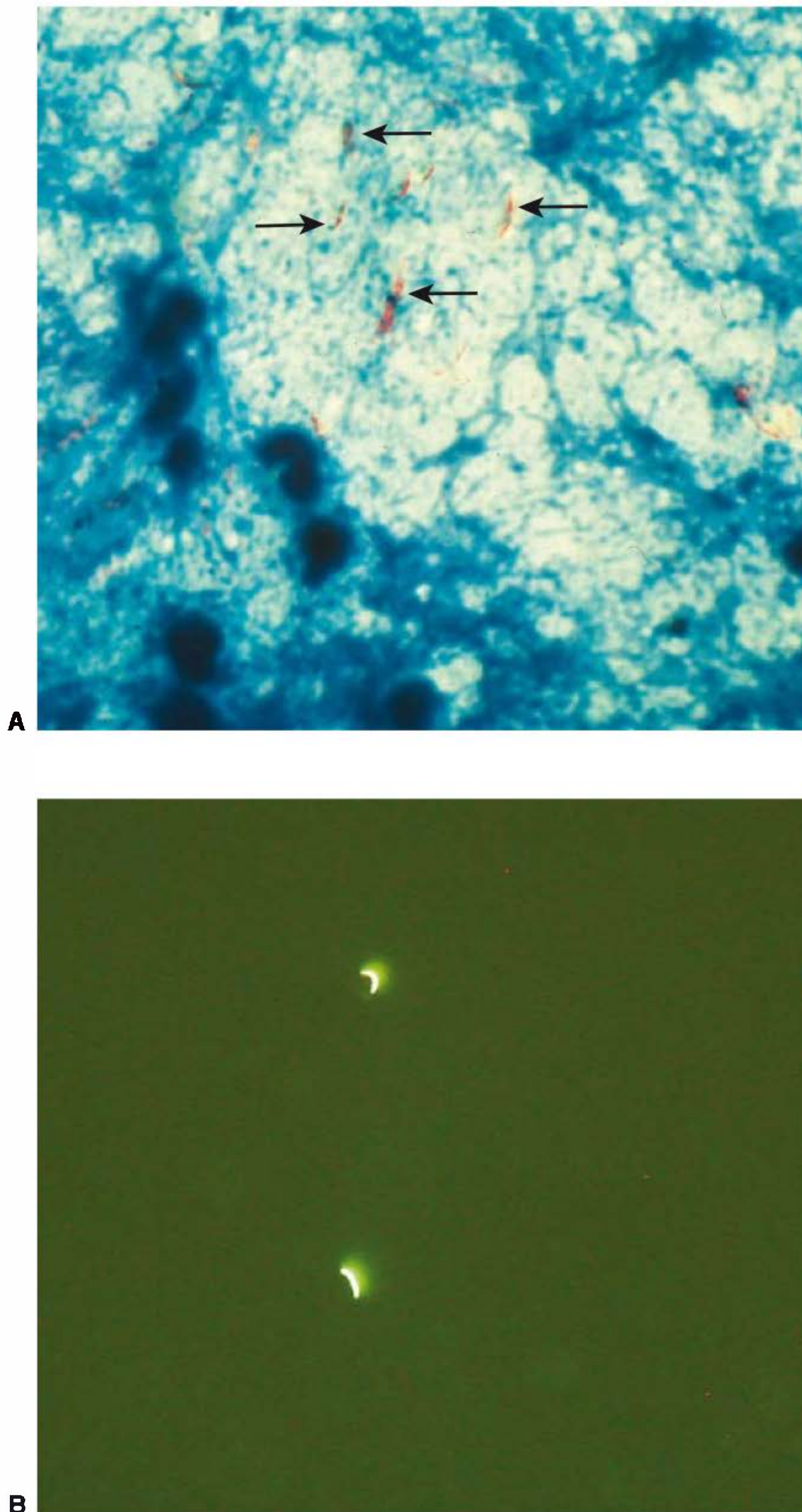


FIGURA 23.1 (A) *Mycobacterium tuberculosis* (setas) em uma amostra de escarro processada e corada pela técnica de Ziehl-Neelsen. *Mycobacterium tuberculosis* está em vermelho contra um fundo azul-claro. (B) O corante fluorescente Auramina O foi usado para corar uma amostra de escarro, mostrando dois *Mycobacterium tuberculosis* fluorescentes. Aumento original de 1.000 vezes. (Cortesia de G Cunningham.)

agregados ou massas devido ao caráter hidrofóbico da superfície celular. Se forem adicionados Tweens (ésteres hidrossolúveis de ácidos graxos), eles umedecem a superfície e, dessa maneira, possibilitam o crescimento em meios líquidos como uma dispersão. O crescimento é frequentemente mais rápido do que em meios de cultura complexos. Há várias empresas que comercializam esses meios usados em muitos laboratórios de pesquisa de diagnóstico e de referência. Além disso, podem ser empregados em processos automatizados, como o sistema MGIT (Becton Dickinson, Sparks, MD), o versaTREK Culture

System (ThermoFisher Scientific, Houston, TX) e o MB Redox (Heipha Diagnostica Biotest, Eppenheim, Germany)*.

C. Características de crescimento

As micobactérias são aeróbios obrigatórios que obtêm a sua energia da oxidação de muitos compostos simples de carbono. O aumento da tensão de CO_2 intensifica o crescimento. As atividades bioquímicas não são características, e a velocidade de crescimento é muito mais lenta do que a da maioria das bactérias. O tempo de duplicação dos bacilos da tuberculose é de cerca de 18 horas. As formas saprofíticas tendem a crescer mais rápido, proliferam bem a 22 a 33°C, produzem mais pigmento e são menos acidorresistentes do que as formas patogênicas.

D. Reação a agentes físicos e químicos

As micobactérias tendem a ser mais resistentes a agentes químicos do que as outras bactérias, devido à natureza hidrofóbica da superfície celular e a seu crescimento em agregados. Corantes (p. ex., verde de malaquita) ou antibacterianos (p. ex., penicilina) bacteriostáticos para outras bactérias podem ser incorporados aos meios de cultura sem inibir o crescimento dos bacilos da tuberculose. Os ácidos e os álcalis permitem a sobrevivência de alguns bacilos da tuberculose expostos, sendo utilizados para ajudar a eliminar os microrganismos contaminantes e para a “concentração” de amostras clínicas. Os bacilos da tuberculose são resistentes ao ressecamento e sobrevivem por longos períodos em escarro seco.

E. Variação

Pode ocorrer variação no aspecto das colônias, na pigmentação, na virulência, na temperatura ideal de crescimento e em muitas outras características celulares ou de crescimento.

F. Patogenicidade das micobactérias

São observadas diferenças marcáveis na capacidade das diferentes micobactérias de provocar lesões em várias espécies de hospedeiros. Os seres humanos e as cobaias são altamente suscetíveis à infecção por *M. tuberculosis*, enquanto as aves

* N. de R.T. Os três sistemas são semelhantes. O MGIT é um método automatizado para isolamento primário de micobactérias, a partir de amostras clínicas pulmonares e extrapulmonares mais teste de sensibilidade a antibióticos para *M. tuberculosis*. Os tubos de cultura contêm um composto fluorescente embebido em silicone, que é sensível à presença do oxigênio dissolvido no meio. Inicialmente, uma grande quantidade do oxigênio dissolvido extingue as emissões do composto, e pouca fluorescência pode ser detectada. Posteriormente, o metabolismo oxidativo do microrganismo consome o oxigênio, o que ocasiona a emissão da fluorescência e sua detecção pelo equipamento. Em relação ao TSA, trata-se de um procedimento qualitativo, realizado a partir de culturas de *M. tuberculosis* para os seguintes fármacos: estreptomomicina, isoniazida, rifampicina e etambutol. A análise da fluorescência no tubo contendo fármaco comparado à fluorescência no tubo controle de crescimento é o que determina os resultados de TSA, sendo realizada automaticamente pelo equipamento. Após essa análise, ele interpreta os resultados, utilizando algoritmo específico e libera o teste de sensibilidade, como S (sensível) ou R (resistente). Já o sistema MB Redox é um método colorimétrico baseado na aquisição de cor por parte do meio de cultura, através de uma reação de redução secundária ao consumo de O_2 pelo *M. tuberculosis*.

comestíveis e o gado bovino são resistentes. O *M. tuberculosis* e o *Mycobacterium bovis* são igualmente patogênicos para os seres humanos. A via de infecção (respiratória *versus* intestinal) determina o padrão das lesões. Nos países desenvolvidos, o *M. bovis* tornou-se muito raro. Algumas micobactérias “atípicas”, atualmente designadas como NTM (p. ex., *Mycobacterium kansasii*), causam doença humana indistinguível da tuberculose, enquanto outras (p. ex., *Mycobacterium fortuitum*) só provocam lesões superficiais ou atuam como agentes oportunistas.

Componentes dos bacilos da tuberculose

Os componentes mencionados adiante são encontrados principalmente nas paredes celulares. As paredes celulares das micobactérias são capazes de induzir hipersensibilidade tardia, bem como alguma resistência à infecção, podendo substituir células micobacterianas integrais no adjuvante de Freund. O conteúdo celular das micobactérias desencadeia somente reações de hipersensibilidade tardia em animais previamente sensibilizados.

A. Lipídeos

As micobactérias são ricas em lipídeos, que incluem ácidos micólicos (ácidos graxos de cadeia longa de C78 a C90), ceras e fosfatídeos. Na célula, os lipídeos são ligados, em grande parte, a proteínas e polissacarídeos. O dipeptídeo muramil (do peptidoglicano) complexado com ácidos micólicos pode causar a formação de granuloma, enquanto os fosfolipídeos induzem necrose caseosa. Os lipídeos são, até certo ponto, responsáveis pela álcool-acidorresistência. Sua remoção com ácido quente destrói a álcool-acidorresistência, que depende da integridade da parede celular e da presença de certos lipídeos. A álcool-acidorresistência também é perdida após a sonicação das células micobacterianas. A análise dos lipídeos por cromatografia gasosa revela padrões que ajudam na classificação de diferentes espécies.

As cepas virulentas dos bacilos da tuberculose formam “cordões serpentiformes” microscópicos, nos quais os bacilos álcool-acidorresistentes dispõem-se em cadeias paralelas. A formação de cordões está correlacionada com a virulência. Um “fator corda” (trealose-6,6'-dimicolato) é extraído a partir de bacilos virulentos com éter de petróleo. Esse fator inibe a migração dos leucócitos, induz a formação de granulomas crônicos e pode atuar como um “adjuvante” imunológico.

B. Proteínas

Cada tipo de micobactéria contém várias proteínas que induzem a reação tuberculínica. As proteínas ligadas a uma fração graxa podem, se forem injetadas, induzir sensibilidade à tuberculina. Além disso, podem induzir a formação de uma variedade de anticorpos.

C. Polissacarídeos

As micobactérias contêm uma variedade de polissacarídeos. Seu papel na patogênese da doença permanece incerto. Esses polissacarídeos podem induzir a hipersensibilidade do tipo imediato e atuar como antígenos em reações com soro de indivíduos infectados.

Patogênese

As micobactérias são emitidas em gotículas menores que 25 µm de diâmetro, quando pessoas infectadas tosem, espirram ou falam. As gotículas evaporam levando os microrganismos, que são pequenos o suficiente, quando inalados, para serem depositados nos alvéolos. Uma vez no interior do alvéolo, o sistema imunológico do hospedeiro responde com a liberação de citocinas e linfocinas que estimulam monócitos e macrófagos. As micobactérias iniciam sua multiplicação no interior dos macrófagos. Alguns macrófagos desenvolvem maior habilidade de matar o microrganismo, enquanto outros podem ser mortos pelo bacilo. Após 1 a 2 meses da exposição, as lesões patogênicas associadas à infecção aparecem nos pulmões. Dois tipos de lesões como as descritas em Patologia, adiante, podem desenvolver-se. A resistência e a hipersensibilidade do hospedeiro influenciam fortemente o desenvolvimento da doença e o tipo de lesões observadas.

Patologia

A produção e o desenvolvimento de lesões, assim como sua cicatrização ou progressão, são determinados principalmente (1) pelo número de micobactérias no inóculo e por sua multiplicação subsequente, bem como (2) pelo tipo de hospedeiro.

A. Duas lesões principais

1. Tipo exsudativo — consiste em uma reação inflamatória aguda com líquido de edema, leucócitos polimorfonucleares e, posteriormente, monócitos ao redor dos bacilos da tuberculose. Esse tipo de lesão é observado particularmente no tecido pulmonar, em que se assemelha ao da pneumonia bacteriana. Pode cicatrizar por resolução, de modo que todo o exsudato vem a ser absorvido, o que pode ocasionar necrose maciça do tecido; ou pode evoluir para um segundo tipo (produtivo) de lesão. Durante a fase exsudativa, o teste tuberculínico torna-se positivo.

2. Tipo produtivo — quando totalmente desenvolvida, a lesão, que é um granuloma crônico, consiste em três zonas: (1) uma área central de células gigantes multinucleares contendo bacilos da tuberculose; (2) uma zona média de células epitelioides pálidas, com frequência dispostas de modo radial; e (3) uma zona periférica de fibroblastos, linfócitos e monócitos. Posteriormente, verifica-se a formação de tecido fibroso periférico, e a área central sofre necrose caseosa. Tal lesão é denominada tubérculo. Um tubérculo caseoso pode sofrer ruptura em um brônquio, esvaziar seu conteúdo e formar uma cavidade que subsequentemente pode cicatrizar por fibrose ou calcificação.

B. Disseminação dos microrganismos no hospedeiro

Os bacilos da tuberculose propagam-se no hospedeiro por extensão direta, via canais linfáticos e corrente sanguínea, e via brônquios e trato gastrointestinal.

Na primoinfecção, os bacilos da tuberculose propagam-se sempre do local inicial pelos vasos linfáticos para os linfonodos regionais. Os bacilos podem propagar-se ainda mais e alcançar a corrente sanguínea, que os distribui para todos os órgãos (distribuição miliar). A corrente sanguínea também pode ser invadida pela erosão de uma veia por um tubérculo caseoso ou linfonodo. Se a lesão caseosa liberar seu conteúdo em um

brônquio, o material será aspirado e distribuído para outras partes dos pulmões ou deglutido e levado para o estômago e o intestino.

C. Local de crescimento intracelular

Uma vez instaladas no tecido, as micobactérias residem principalmente no interior dos monócitos, das células reticuloendoteliais e das células gigantes. A localização intracelular constitui uma das características que dificultam a quimioterapia e favorecem a persistência dos micróbios. No interior das células de animais imunes, a multiplicação dos bacilos da tuberculose é grandemente inibida.

Infecção primária e reativação dos tipos de tuberculose

Quando um hospedeiro entra em contato pela primeira vez com o bacilo da tuberculose, são em geral observadas as seguintes manifestações: (1) lesão exsudativa aguda se desenvolve e rapidamente se propaga para os vasos linfáticos e linfonodos regionais; a lesão exsudativa no tecido com frequência apresenta rápida cicatrização; (2) o linfonodo sofre caseificação maciça, que em geral se calcifica (lesão de Ghon); (3) o teste tuberculínico torna-se positivo.

Esse tipo de infecção primária ocorria em geral na infância; mas atualmente é frequente em adultos que não desenvolveram infecção e, portanto, eram tuberculino-negativos no início da vida. Nas infecções primárias, pode ocorrer comprometimento em qualquer parte do pulmão, embora seja observado com maior frequência na base.

Em geral, o tipo de reativação é causado por bacilos da tuberculose que sobreviveram na lesão primária. A reativação da tuberculose caracteriza-se por lesões teciduais crônicas, formação de tubérculos, caseificação e fibrose. Os linfonodos regionais mostram-se apenas ligeiramente afetados, e não ocorre caseificação. O tipo de reativação começa quase sempre no ápice do pulmão, onde a pressão de oxigênio (PO_2) é maior.

Tais diferenças entre a infecção primária e a reinfeção ou reativação são atribuídas (1) a resistência e (2) hipersensibilidade induzidas pela primeira infecção. Contudo, não está claro até que ponto cada um desses componentes participa na resposta modificada na tuberculose de reativação.

Imunidade e hipersensibilidade

Durante a primoinfecção pelos bacilos da tuberculose, alguma resistência é adquirida, e há um aumento na capacidade de localizar os bacilos da tuberculose, retardar sua multiplicação, limitar sua propagação e reduzir a disseminação linfática. Essa capacidade pode ser atribuída ao desenvolvimento da imunidade celular, com evidente capacidade dos fagócitos mononucleares de limitar a multiplicação dos microrganismos ingeridos e mesmo de destruí-los.

Durante a evolução da infecção primária, o hospedeiro também adquire hipersensibilidade aos bacilos da tuberculose. Essa hipersensibilidade torna-se evidente pelo aparecimento de reação positiva à tuberculina (ver adiante). A sensibilidade à tuberculina pode ser induzida por bacilos da tuberculose totais ou pela tuberculoproteína em combinação com a cera D solúvel em clorofórmio do bacilo da tuberculose, mas não pela tuberculoproteína isolada. A hipersensibilidade e a resistência

parecem representar aspectos distintos de reações correlatas mediadas por células.

Teste tuberculínico

A. Material

A tuberculina envelhecida é um filtrado concentrado de caldo em que os bacilos da tuberculose cresceram durante seis semanas. Além das tuberculoproteínas reativas, esse material contém uma variedade de outros constituintes dos bacilos da tuberculose e do meio de cultura. Um derivado proteico purificado (DPP) é obtido por fracionamento químico da tuberculina envelhecida. O DPP é padronizado, em termos de sua reatividade biológica, em unidades de tuberculina (UT). Por acordo internacional, a UT é definida como a atividade existente em determinada massa de DPP de Siebert, lote nº 49.608, em um tampão especificado. Trata-se do DPP-S, o padrão de tuberculina contra o qual a potência de todos os produtos deve ser estabelecida por ensaio biológico (*i. e.*, pela extensão da reação em seres humanos). A tuberculina de primeira potência possui 1 UT; a de potência intermediária, 5 UT; e a de segunda potência, 250 UT. A bioequivalência dos produtos de DPP não se baseia na massa do material, mas na atividade comparativa.

B. Dose de tuberculina

A injeção de uma grande quantidade de tuberculina em um hospedeiro hipersensível pode resultar em reações locais graves e exacerbação da inflamação, bem como necrose nos principais locais de infecção (reações focais). Por esse motivo, os testes tuberculínicos em levantamentos empregam 5 UT em 100 µl de solução e nos indivíduos sob suspeita de extrema hipersensibilidade, o teste cutâneo deve ser iniciado com 1 UT. Em geral, o volume injetado por via intracutânea é de 0,1 mL, de uso comum na porção volar do antebraço. A preparação de DPP deve ser estabilizada com polissorbato 80 para evitar adsorção no vidro.

C. Reações à tuberculina

Após o teste tuberculínico ser realizado, a área é examinada para a presença de endurecimento em até 72 horas após a inoculação. É imperativo que uma pessoa treinada na leitura precisa desses testes examine a área em questão. A presença de eritema sozinho não deve ser interpretado como um resultado positivo. Os Centers for Disease Control (CDCs) estabeleceram três pontos de corte para definição de um resultado positivo, baseados na sensibilidade, na especificidade do teste e na prevalência da tuberculose em várias populações. Para os pacientes com maior risco de desenvolver a doença (p. ex., pessoas infectadas pelo HIV* ou indivíduos que tiveram exposição a pessoas com tuberculose ativa), 5 mm ou mais de endurecimento é considerado positivo; maior que 10 mm é considerado positivo para pessoas com probabilidade aumentada de infecção recente. Essa categoria pode incluir indivíduos como os imigrantes de países com alta prevalência de tuberculose, usuários de drogas injetáveis e profissionais de saúde, expostos a pacientes com tuberculose ou a laboratório de diagnóstico. Para as pessoas com baixo risco para a tuberculose, uma área de endurecimento maior ou igual a

* N. de R.T. Cabe ressaltar que, sendo o PPD um teste de hipersensibilidade tardia do tipo IV (mediado por linfócitos T *helper* CD4+), pacientes HIV positivos com baixa contagem de CD4 e alta carga viral podem apresentar resultados falso-negativos.

15 mm é considerado um resultado positivo. Em um indivíduo que não teve contato com micobactérias, em geral não há reação de PPD. Resultados positivos tendem a persistir por vários dias. Reações fracas podem desaparecer de forma mais rápida.

O teste tuberculínico torna-se positivo 4 a 6 semanas após a infecção (ou injeção de bacilos avirulentos). O teste pode ser negativo na presença de infecção tuberculosa, quando o indivíduo desenvolve “anergia” em consequência de tuberculose maciça, sarampo, doença de Hodgkin, sarcoidose, Aids ou imunossupressão. Por ocasião, um teste tuberculínico positivo pode tornar-se negativo após tratamento com isoniazida (INH) em um paciente com conversão recente. Após vacinação com o bacilo Calmette-Guérin (BCG), os indivíduos podem converter a reação positiva, mas esta pode persistir por apenas 3 a 7 anos. Somente a eliminação dos bacilos da tuberculose viáveis resulta em reversão do teste tuberculínico para negativo. Todavia, os indivíduos DPP-positivos há vários anos e que são saudáveis podem não apresentar teste cutâneo positivo. Quando esses indivíduos são submetidos a novo teste em duas semanas, o teste cutâneo com DPP — “reforçado” pela injeção recente de antígenos — resulta novamente em induração de tamanho positivo.

Um teste tuberculínico positivo indica que o indivíduo foi infectado no passado, o que não implica a presença de doença ativa ou imunidade à doença. Os indivíduos tuberculino-positivos correm risco de desenvolver doença por reativação da infecção primária, enquanto os indivíduos tuberculino-negativos que nunca foram infectados não estão sujeitos a esse risco, embora possam ser infectados a partir de uma fonte externa.

D. Ensaios de liberação de interferon- γ para detecção da tuberculose

Às vezes, os resultados do teste tuberculínico são ambíguos, em especial para pessoas que tenham sido vacinadas com BCG ou que vivem em áreas nas quais as micobactérias NTM são altamente prevalentes no meio ambiente. Em um esforço para melhorar a precisão diagnóstica, foram desenvolvidos comercialmente os ensaios de liberação de interferon- γ (*interferon- γ release assays* [IGRAs]) no sangue total. Estes ensaios são baseados nas respostas imunológicas do hospedeiro aos antígenos específicos de *M. tuberculosis*, tais como o antígeno alvo de secreção primária 6 (*early secretory antigenic target-6* [ESAT-6]) e a proteína de filtrado 10 (*culture filtrate protein-10* [CFP-10]), que estão ausentes na maioria das micobactérias NTM e em BCG. Os testes detectam interferon- γ que é liberada por células T CD4 sensibilizadas em resposta a esses antígenos. Atualmente, existem dois ensaios disponíveis comercialmente nos EUA. O *Quantiferon-Gold in tube test* ([QFT-GIT] Cellestis, Valencia, EUA) é um ensaio Elisa, que detecta interferon- γ em sangue total. O T-SPOT-TB (Oxford Immunotec, Oxford, Reino Unido) é um ensaio Elisa-*immunospot* que usa células mononucleares purificadas do sangue periférico. Os resultados de dois testes são relatados como positivo, negativo ou indeterminado. Esses ensaios estão ainda em fase de extensa avaliação. Eles são sensíveis à variação biológica na resposta imunológica. No entanto, vários estudos têm demonstrado que esses ensaios são comparáveis ao teste tuberculínico na avaliação de infecção latente, particularmente em pessoas que receberam BCG. No entanto, eles não devem ser usados em pacientes imunodeprimidos, nem em crianças muito novas (menores que 5 anos). O CDC elaborou diretrizes atualizadas para recomendações sobre o uso dos

IGRAs (ver Mazurek 2010). Pacientes que são recém-convertidos (anteriormente negativo e agora com resultado positivo do teste cutâneo ou para o IGRA), bem como outros que tiveram um resultado positivo e atendem a certos critérios para aumento do risco de doença ativa. Normalmente, esses pacientes são submetidos à profilaxia com INH diariamente durante nove meses. Recentemente, o CDC publicou novas recomendações para tratamento da tuberculose latente, reduzindo significativamente a duração da terapêutica para 12 semanas. O novo esquema consiste no tratamento uma vez por semana com INH e rifapentina. Esse novo esquema mostrou ser equivalente ao tratamento antigo preconizado em três ensaios clínicos randomizados.

Manifestações clínicas

Como o bacilo da tuberculose pode afetar qualquer órgão, suas manifestações clínicas são inúmeras. Fadiga, fraqueza, perda de peso, febre e tremores noturnos podem ser sinais de tuberculose. O comprometimento pulmonar, que causa tosse crônica e hemoptise, em geral está associado a lesões muito avançadas. Meningite ou comprometimento do trato urinário podem ocorrer na ausência de outros sinais de tuberculose. A disseminação pela corrente sanguínea resulta em tuberculose miliar, com lesões em muitos órgãos e taxa elevada de mortalidade.

Exames diagnósticos laboratoriais

A positividade do teste tuberculínico não confirma a presença de doença ativa causada por bacilos da tuberculose, prova fornecida pelo isolamento dos bacilos da tuberculose.

A. Amostras

As amostras consistem em escarro fresco, lavado gástrico, urina, líquido pleural, líquido cefalorraquiano, líquido articular, material de biópsia, sangue ou outro material suspeito.

B. Descontaminação e concentração das amostras

As amostras de escarro e de outros locais não estéreis devem ser liquefeitas com *N*-acetil-L-cisteína, descontaminadas com NaOH (que destrói muitas outras bactérias e fungos), neutralizadas com tampão e concentradas por centrifugação. As amostras assim processadas podem ser utilizadas para coloração álcool-acidorresistente e cultura. As amostras de locais estéreis, como o líquido cefalorraquiano, não precisam ser submetidas ao procedimento de descontaminação, podendo ser diretamente centrifugadas, examinadas e cultivadas.

C. Esfregaços

O escarro, os exsudatos ou outros materiais são examinados por coloração para os bacilos álcool-acidorresistentes. A coloração dos lavados gástricos e da urina em geral não é recomendada, uma vez que micobactérias saprofíticas podem estar presentes e fornecer uma cor positiva. A microscopia de fluorescência com coloração por auramina-rodamina é mais sensível que a coloração tradicional álcool-acidorresistente, tais como Ziehl-Neelsen, e são as colorações preferidas para materiais clínicos. Se microrganismos acidorresistentes forem encontrados em uma amostra apropriada, trata-se de evidência presuntiva de infecção micobacteriana.

D. Cultura, identificação e teste de sensibilidade

As amostras processadas de locais não estéreis e as centrifugadas de locais estéreis podem ser cultivadas diretamente em

meios seletivos e não seletivos (ver anteriormente). A cultura seletiva em caldo é com frequência o método mais sensível e fornece resultados mais rapidamente. Um meio de ágar seletivo (p. ex., Löwenstein-Jensen ou dupla placa de Middlebrook 7H10/7H11 com antibióticos) deve ser inoculado paralelamente às culturas em caldo. A incubação deve ser efetuada a 35 a 37°C em 5 a 10% de CO₂, durante um período de até oito semanas. Se as culturas forem negativas na presença de coloração álcool-acidorresistente positiva, ou se houver suspeita de micobactérias NTM de crescimento lento (ver adiante), um conjunto de meios de cultura inoculados deverá ser incubado a uma temperatura mais baixa (p. ex., 24 a 33°C), ambos durante 12 semanas.

A amostra de sangue para a cultura do complexo de micobactérias (em geral, MAC) deve ser anticoagulada e processada por um dos dois métodos seguintes: (1) sistema de centrifugação para a lise comercialmente disponível; (2) inoculação em meios de cultura em caldo disponíveis no comércio, preparados especificamente para hemoculturas.

Do ponto de vista clínico, é importante caracterizar e diferenciar o complexo *M. tuberculosis* das outras espécies de micobactérias. As micobactérias isoladas devem ser identificadas até o nível de espécie. Os métodos convencionais para identificação das micobactérias incluem observação da velocidade de crescimento, morfologia das colônias, pigmentação e perfis bioquímicos. Os métodos convencionais com frequência exigem 6 a 8 semanas para identificação e estão sendo abandonados rotineiramente de forma rápida pela maioria dos

laboratórios de análises clínicas, por serem inadequados para identificação de um crescente número de espécies clinicamente relevantes. A velocidade de crescimento separa as micobactérias de crescimento rápido (em sete ou menos dias) das outras micobactérias (Quadro 23.2). Os **fotocromógenos** produzem pigmentos na presença de luz, mas não no escuro; os **escotocromógenos** produzem pigmentos quando crescem no escuro; e os **não cromógenos** (não fotocromógenos) não são pigmentados nem apresentam colônias de cor castanho-amarelada ou amarelo-clara. Existem métodos com sondas moleculares para quatro espécies (ver adiante), cuja execução é muito mais rápida que a dos métodos convencionais. As sondas podem ser utilizadas em micobactérias que crescem em meios de cultura sólidos ou em culturas de caldo. Sondas de DNA específicas para as sequências de RNAr do microrganismo em teste são utilizadas em um procedimento de hibridização. Existem cerca de 10.000 cópias de RNAr por célula micobacteriana, proporcionando um sistema de amplificação natural que aumenta a detecção. Os híbridos de fita dupla são separados das sondas não hibridizadas de fita simples. As sondas de DNA estão ligadas à substâncias químicas ativadas nos híbridos e detectadas por quimioluminescência. São utilizadas sondas para o complexo *M. tuberculosis* (*M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. africanum*, *M. caprae*, *M. microti*, *M. canetti* e *M. pinnipedii*), o MAC (*M. avium*, *M. intracellulare* e micobactérias estreitamente relacionadas), *M. kansasii* e *M. gordonae*. O uso dessas sondas reduz de várias semanas para apenas um dia o tempo necessário para a identificação das micobactérias clinicamente importantes.

Nos Estados Unidos, esses quatro grupos (complexo *M. tuberculosis*, MAC, *M. kansasii* e *M. gordonae*) respondem a 95% ou mais de todo isolado clínico para micobactérias. Para as espécies que não são identificadas com sondas de DNA, muitos laboratórios têm usado sequenciamento do gene RNAr 16S para identificar rapidamente espécies sonda-negativas, ou enviado o microrganismo para laboratórios de referência com capacidade de sequenciamento.

A cromatografia líquida de alta eficiência (*High-performance liquid chromatography* [HPLC]) é utilizada para estabelecer as espécies de micobactérias. O método baseia-se no desenvolvimento de perfis de ácidos micólicos, que variam de uma espécie para outra. A HPLC para determinação da espécie de micobactérias está disponível em laboratórios de referência. A espectrometria de massa pela técnica de ionização por desorção a *laser*, assistida por matriz seguida de análise por tempo de voo, em sequência-MALDI-TOF, até momento, não tem demonstrado ser útil para a identificação precisa das espécies de *Mycobacterium* a partir de espécime clínico.

O teste de sensibilidade para micobactérias é um importante auxiliar na seleção de fármacos para o tratamento eficaz do paciente. Uma técnica de cultura em caldo radiométrica padronizada pode ser empregada para se avaliar a suscetibilidade do microrganismo a fármacos de primeira linha. A técnica convencional à base de ágar, mais complexa e trabalhosa, geralmente é posta em prática em laboratórios de referência; fármacos de primeira e segunda linhas podem ser testados por esse método.

E. Detecção do DNA

A reação em cadeia da polimerase (PCR) é muito promissora para a detecção rápida e direta do *M. tuberculosis* em amostras clínicas. A sensibilidade global é de 55 a 90%, com

QUADRO 23.2 Classificação tradicional de Runyon de micobactérias

Classificação	Microrganismo
Complexo TB	<i>Mycobacterium tuberculosis</i> <i>Mycobacterium africanum</i> <i>Mycobacterium bovis</i>
Fotocromógenos	<i>Mycobacterium asiaticum</i> <i>Mycobacterium kansasii</i> <i>Mycobacterium marinum</i> <i>Mycobacterium simiae</i>
Escotocromógenos	<i>Mycobacterium flavescens</i> <i>Mycobacterium gordonae</i> <i>Mycobacterium scrofulaceum</i> <i>Mycobacterium szulgai</i>
Não cromógenos	Complexo <i>Mycobacterium avium</i> <i>Mycobacterium celatum</i> <i>Mycobacterium haemophilum</i> <i>Mycobacterium gastri</i> <i>Mycobacterium genavense</i> <i>Mycobacterium malmoense</i> <i>Mycobacterium nonchromogenicum</i> <i>Mycobacterium shimoidei</i> <i>Mycobacterium terrae</i> <i>Mycobacterium trivale</i> <i>Mycobacterium ulcerans</i> <i>Mycobacterium xenopi</i>
De crescimento rápido	<i>Mycobacterium abscessus</i> Grupo <i>Mycobacterium fortuitum</i> Grupo <i>Mycobacterium chelonae</i> <i>Mycobacterium immunogenum</i> <i>Mycobacterium mucogenicum</i> <i>Mycobacterium phlei</i> <i>Mycobacterium smegmatis</i> <i>Mycobacterium vaccae</i>

especificidade de cerca de 99%. O teste tem maior sensibilidade quando efetuado em amostras cujos esfregaços são positivos para os bacilos acidorresistentes. Ao menos dois ensaios moleculares disponíveis comercialmente nos EUA foram aprovados pela Food and Drug Administration (FDA) para detecção de *M. tuberculosis* em amostras de escarro positivo e um dos ensaios também está aprovado para amostras respiratórias de esfregaço negativo. As novas tecnologias para amplificação do ácido nucleico combinam a detecção do complexo *M. tuberculosis* juntamente com a detecção dos genes de resistência para rifampicina (RMP) e outros fármacos de primeira escolha. Esses testes não estão amplamente disponíveis nos EUA, porém estão disponíveis em outros países*.

A caracterização de cepas específicas do *M. tuberculosis* pode ser importante para finalidades epidemiológicas. Esta abordagem permite rastrear a transmissão de uma pessoa para outra, analisar epidemias de tuberculose e demonstrar a reativação *versus* reinfeção de pacientes. A tipagem molecular por perfil de DNA (*DNA fingerprinting*) é feita com o uso de protocolos padronizados baseados no polimorfismo de comprimento dos fragmentos de restrição (RFLP). Muitas cópias da sequência de inserção 6110 (IS6110) estão presentes no cromossomo da maior parte das cepas do *M. tuberculosis*, sendo localizadas em posições variáveis. São gerados fragmentos de DNA por digestão com endonucleases de restrição e separados por eletroforese. Uma sonda contra a IS6110 é usada para determinar os genótipos. Outros testes úteis na caracterização das amostras incluem a espoligotipagem**, uma técnica baseada em PCR, e a análise MIRU-VNTR, que consiste na tipagem baseada no número variável de repetições em tandem (Variable Number of Repeats Tandem [VNTRs]) de unidades repetitivas intercaladas de micobactérias (Mycobacterial Interspersed Repetitive Units [MIRUs]). Ambas têm representado alternativas para análises de isolados de *M. tuberculosis* geneticamente relacionados. Esse último método tem lentamente substituído a genotipagem baseada na sequência de inserção IS6110, realizada no CDC, e em diferentes laboratórios de referência e de pesquisa.

Tratamento

O tratamento primário da infecção micobacteriana é a quimioterapia específica. Os fármacos utilizados no tratamento das infecções micobacterianas são discutidos no Capítulo 28. Dois casos de tuberculose são apresentados no Capítulo 48.

* N. de R.T. Entre esses novos testes, está o Xpert MTB/RIF que é um método molecular com base na reação em cadeia pela polimerase em tempo real. É uma nova plataforma de teste, automatizada, simples, rápida e de fácil execução nos laboratórios. O teste detecta simultaneamente sequências específicas no DNA do *M. tuberculosis* e o gene *rpoB* relacionado com a resistência para rifampicina, diretamente do escarro, em aproximadamente duas horas. Ele dá resultados com risco mínimo de contaminação.

** N. de R.T. A espoligotipagem baseia-se na análise de unidades repetitivas intercaladas em micobactérias e possibilita a detecção e tipificação das micobactérias do complexo *M. tuberculosis*, sendo indicada como técnica de eleição para comparação de amostras com poucas cópias de IS6110, além de permitir diferenciação de amostras de *M. bovis* e *M. tuberculosis*. Esta técnica baseia-se na amplificação do locus DR (Direct Repeat) do complexo *M. tuberculosis*, ou seja, este método detecta a presença ou ausência de espaçadores no locus DR, diferenciando as amostras isoladas e podendo ser empregado na investigação epidemiológica, que são fundamentais para um melhor controle e erradicação da doença.

Entre 1 em 10⁶ a 1 em 10⁸ bacilos da tuberculose são mutantes espontâneos resistentes aos fármacos antituberculose de primeira linha. Quando os fármacos são utilizados isoladamente, bacilos da tuberculose resistentes emergem rapidamente e multiplicam-se. Por conseguinte, os esquemas terapêuticos utilizam fármacos em combinação para obter taxas de cura superiores a 95%.

Os dois principais fármacos utilizados no tratamento da tuberculose são a INH e a RMP. Os outros fármacos de primeira linha são a pirazinamida (PZA), o etambutol (EMB) e a estreptomicina. Os fármacos de segunda linha são mais tóxicos ou menos eficazes (ou ambos), só devendo ser utilizados para tratamento em circunstâncias excepcionais (p. ex., falha do tratamento, resistência a múltiplos fármacos). Os fármacos de segunda linha abrangem canamicina, capreomicina, etionamida, ciclosserina, ofloxacino e ciprofloxacino.

Um esquema de quatro fármacos (INH, RMP, PZA e EMB) é recomendado, nos EUA, para indivíduos que apresentem risco leve a moderado de estar infectados com bacilo resistente a fármacos. São fatores de risco a emigração recente da América Latina ou da Ásia, pessoas infectadas pelo HIV ou que apresentem alto risco de infecção pelo HIV e vivam em área de baixa prevalência de bacilos da tuberculose multirresistentes a fármacos, bem como pessoas que tenham sido previamente tratadas com um esquema que não incluiu a RMP. Esses quatro fármacos são administrados por dois meses. Se o isolado for sensível a INH e a RMP, o uso da PZA e do EMB pode ser interrompido e o tratamento continua com a INH e a RMP por mais seis meses. Em pacientes com lesão caseosa, ou que a baciloscopia é ainda positiva após dois meses de tratamento, é necessário mais três meses de uso (em um total de nove meses) para prevenir recidiva. Em pacientes relapsos, o tratamento supervisionado é imperativo.

A resistência do *M. tuberculosis* a fármacos é um problema mundial. Os mecanismos que explicam o fenômeno da resistência de muitas cepas, mas não de todas, foram definidos. A resistência à isoniazida foi associada a deleções ou mutações no gene da catalase-peroxidase (*katG*); esses microrganismos isolados tornam-se catalase-negativos ou exibem redução da atividade da catalase. A resistência à INH também está associada a alterações no gene *inhA*, o qual codifica uma enzima que atua na síntese do ácido micólico. A resistência à estreptomicina está associada a mutações nos genes que codificam a proteína S12 ribossômica e o rRNA 16S (*rpsL* e *rrs*, respectivamente). A resistência à RMP está associada a alterações na subunidade β da RNA polimerase, o gene *rpoB*. A ocorrência de mutações no gene *gyrA* da DNA girase está associada a resistência às fluoroquinolonas. A possibilidade de o *M. tuberculosis* isolado de um paciente ser resistente a fármacos deve ser levada em consideração na escolha do tratamento.

O *M. tuberculosis* multirresistente a fármacos (resistente tanto à INH quanto à RMP) é o principal problema no tratamento e controle da tuberculose. Tais cepas são prevalentes em determinadas áreas geográficas e certas populações (hospitais e cárceres). Inúmeros surtos de tuberculose por cepas multirresistentes a fármacos têm ocorrido. São particularmente importantes em indivíduos com infecção pelo HIV de países em desenvolvimento ou pobres. Os indivíduos infectados por microrganismos multirresistentes ou que correm alto risco de contrair essas infecções, inclusive exposição a outro indivíduo com esse tipo de infecção, devem ser tratados de acordo com os resultados do teste de sensibilidade para a cepa infectante. Se os resultados do teste

de sensibilidade não estiverem disponíveis, os fármacos deverão ser selecionados de acordo com o padrão conhecido de suscetibilidade na comunidade e modificados quando forem obtidos os resultados do teste. A terapia deve incluir no mínimo três e, de preferência, mais de três fármacos aos quais os microrganismos apresentam suscetibilidade comprovada.

Cepas altamente resistentes a fármacos (Extensively drug-resistant [XDR]), na sigla em inglês) são hoje reconhecidas globalmente. Elas são definidas pela OMS, como isolados de *M. tuberculosis* com resistência à INH, à RMP, a uma fluoroquinolona e ao menos três fármacos injetáveis de segunda linha, como amicacina, capreomicina ou canamicina. A prevalência real de tuberculose XDR é subestimada em países de recursos limitados devido à falta de diagnóstico disponível e de testes de suscetibilidade. Os fatores que têm contribuído para a epidemia global incluem tratamento inefetivo da tuberculose, falta de testes diagnósticos corretos e, o mais importante, fracas práticas de controle de infecção. As pessoas infectadas com tuberculose XDR têm pior prognóstico clínico e 64% têm maior probabilidade de morrer durante o tratamento, em comparação com pacientes infectados com cepas suscetíveis. Em 2006, a Global Task Force em TB-XDR da OMS lançou recomendações multifacetadas e abrangentes direcionadas às epidemias por TB-XDR (disponível no site http://www.who.int/tb/features_archive/global_taskforce_report/en/).

Epidemiologia

A fonte mais frequente de infecção é o ser humano, que elimina um grande número de bacilos da tuberculose, particularmente das vias respiratórias. O contato próximo (p. ex., na família) e a exposição maciça (p. ex., no pessoal médico) tornam mais provável a transmissão por perdigotos.

A suscetibilidade à tuberculose é uma função do risco de contrair a infecção e desenvolver doença clínica após a ocorrência da infecção. Para o indivíduo tuberculino-negativo, o risco de adquirir bacilos da tuberculose depende da exposição a fontes de bacilos infecciosos — principalmente pacientes com escarro positivo. Esse risco é proporcional à taxa de infecção ativa na população em aglomerações, condições socioeconômicas desfavoráveis e por assistência médica inadequada.

O desenvolvimento de doença clínica após a infecção pode ter um componente genético (comprovado em animais e sugerido em seres humanos por uma incidência maior da doença em indivíduos com o antígeno de histocompatibilidade HLA-Bw15). O risco é influenciado pela idade (alto risco no lactente e no idoso), desnutrição, estado imunológico do indivíduo, doenças coexistentes (p. ex., sífilose, diabetes) e outros fatores de resistência do hospedeiro.

A infecção ocorre em uma faixa etária menor nas populações urbanas em comparação do que nas rurais. A doença verifica-se apenas em uma pequena proporção de indivíduos infectados. Atualmente, nos EUA, a doença ativa exhibe vários padrões epidemiológicos em que os indivíduos correm maior risco, incluindo minorias predominantemente de afro-americanos e hispânicos, imigrantes de países com alta endemicidade; pacientes infectados pelo HIV; pessoas sem moradia; e indivíduos muito jovens e muito idosos. A incidência de tuberculose é particularmente elevada em uma minoria de indivíduos com infecção pelo HIV. A infecção primária pode ocorrer

em qualquer pessoa exposta a uma fonte infecciosa. Os pacientes que tiveram tuberculose podem ser infectados uma segunda vez por via exógena. A tuberculose de reativação endógena é mais comum entre indivíduos com Aids e imunossupressão, idosos desnutridos e indigentes alcoolistas.

Prevenção e controle

1. O tratamento imediato e eficaz dos pacientes com tuberculose ativa, bem como o cuidadoso acompanhamento dos contatos desses pacientes com testes tuberculínicos, radiografias e tratamento apropriado constituem a base do controle da tuberculose pela saúde pública.
2. O tratamento farmacológico dos indivíduos tuberculino-positivos e assintomáticos nos grupos etários mais sujeitos a complicações (p. ex., crianças) e dos indivíduos tuberculino-positivos que devem receber imunossupressores reduz acentuadamente a reativação da infecção.
3. Diversos fatores inespecíficos podem reduzir a resistência do hospedeiro, favorecendo, assim, a conversão de uma infecção assintomática em doença. Tais fatores consistem em inanição, gastrectomia e supressão da imunidade celular por fármacos (p. ex., corticosteroides) ou infecção. A infecção pelo HIV constitui um importante fator de risco para tuberculose.
4. Vários bacilos da tuberculose vivos avirulentos, particularmente o BCG (um microrganismo bovino atenuado), são utilizados para induzir certo grau de resistência em indivíduos com exposição intensa à infecção. A vacinação com esses microrganismos substitui a infecção primária por bacilos da tuberculose virulentos, sem o perigo inerente dos últimos. As vacinas disponíveis são inadequadas por muitas razões técnicas e biológicas. Todavia, o BCG é administrado em crianças em muitos países. As evidências estatísticas indicam um aumento da resistência por um período limitado após a vacinação com BCG.
5. A erradicação da tuberculose no gado bovino e a pasteurização do leite reduziram acentuadamente as infecções causadas por *M. bovis*.

Verificação de conceitos

- As micobactérias são bastonetes aeróbios e álcool-ácido-resistentes, devido à complexa composição de sua parede celular composta por ácidos micólicos.
- As micobactérias crescem lentamente em relação as outras bactérias cultiváveis. Tanto em meios sólidos ou líquidos não seletivos quanto seletivos podem ser usados para o isolamento desses microrganismos a partir do material clínico.
- Embora haja mais de 200 espécies de micobactérias, o complexo de crescimento lento *M. tuberculosis* é o principal grupo de interesse médico e de saúde pública.
- A característica principal da infecção por *M. tuberculosis* é o granuloma, uma estrutura concêntrica que apresenta uma região central necrótica (necrose caseosa), envolvida por uma zona de células gigantes multinucleadas, monócitos, histiócitos e um anel externo de fibroblastos.
- A tuberculose humana ocorre pela inalação de gotículas ou de aerossóis contendo o bacilo.
- O teste cutâneo tuberculínico e o IGRAs podem ser empregados para o rastreamento de indivíduos infectados.

- O diagnóstico da tuberculose requer baciloscopia e o isolamento pela cultura do microrganismo. Testes de amplificação de ácidos nucleicos, quando realizado de espécime clínico com baciloscopia positiva, são geralmente muito úteis.
- O pilar da terapia é o esquema inicial com quatro fármacos (INH, RMP, PZA e EMB) seguido por quatro meses de INH e RMP. Casos de tuberculose multirresistente e XDR têm se tornado um grande problema de saúde pública mundial.

OUTRAS MICOBACTÉRIAS

Além dos bacilos da tuberculose (p. ex., *M. tuberculosis*, *M. bovis*), outras micobactérias com graus variáveis de patogenicidade foram isoladas de fontes humanas nas últimas décadas. Tais micobactérias “atípicas” foram inicialmente agrupadas de acordo com a velocidade de seu crescimento a diferentes temperaturas e com a produção de pigmentos (ver anteriormente). Várias dessas micobactérias são atualmente identificadas por sondas ou sequenciamento de DNA. A maioria dos referidos microrganismos ocorre no meio ambiente, sendo patógenos oportunistas e não são facilmente transmitidos de uma pessoa para outra (Quadro 23.1).

As espécies ou os complexos importantes causadores de doença são delineados a seguir.

Complexo *Mycobacterium avium*

O complexo *Mycobacterium avium* é frequentemente denominado MAC ou complexo MAI (*M. avium intracellulare*). Esses microrganismos exibem crescimento ótimo a 41°C e produzem colônias lisas, delicadas e não pigmentadas. São onipresentes no meio ambiente, sendo cultivados a partir da água, do solo, dos alimentos e animais, inclusive aves.

Os microrganismos do MAC raramente provocam doença em seres humanos imunocompetentes. Todavia, nos EUA, a infecção disseminada pelo MAC é uma das infecções oportunistas de origem bacteriana mais comum em pacientes com Aids. O risco de desenvolver infecção disseminada pelo MAC em indivíduos infectados pelo HIV aumenta acentuadamente quando a contagem de linfócitos CD4-positivos declina para níveis abaixo de 100/μL. (Ver Caso 17 no Cap. 48.) O sexo, a raça, o grupo étnico e os fatores de risco individuais para infecção pelo HIV não influenciam o desenvolvimento de infecção disseminada pelo MAC; entretanto, a ocorrência de infecção anterior por *Pneumocystis jiroveci*, anemia grave e interrupção da terapia antirretroviral podem aumentar o risco.

Durante os primeiros 15 anos de epidemia da Aids, aproximadamente 25% e talvez até 50% dos pacientes infectados pelo HIV desenvolveram bacteriemia e infecção disseminada pelo MAC durante a evolução da Aids. Subsequentemente, o uso da terapia com antirretrovirais altamente ativos (HAART) e a profilaxia com azitromicina ou claritromicina reduziram acentuadamente a incidência de infecção disseminada pelo MAC em pacientes com Aids. Outros grupos de risco incluem os indivíduos com fibrose cística e com proteinose alveolar pulmonar*.

* N. de R.T. A proteinose alveolar pulmonar é uma doença caracterizada pelo acúmulo de material lipoproteínico no interior dos alvéolos, o que interfere de forma significativa nas trocas gasosas pulmonares. A apresentação clínica é variável, porém os sintomas usuais são dispneia e tosse. Febre, dor torácica e hemoptise são manifestações menos comuns que podem também ocorrer principalmente na presença de infecção pulmonar secundária.

As doenças pulmonares provocadas por MAC têm também sido descritas em mulheres de meia-idade e idosas na ausência de doença pulmonar crônica, sendo denominadas como síndrome de “Lady Windermere”. Esta forma da doença é indolente e ao longo do tempo é caracterizada pela presença de nódulos nos lobos médio e na língula, que evoluem para cavitação.

A exposição ambiental pode levar a colonização das vias respiratórias ou do trato gastrointestinal pelo MAC. A bacteriemia transitória ocorre seguida por invasão dos tecidos. Ocorre desenvolvimento de bacteriemia persistente e extensa infiltração dos tecidos, com conseqüente disfunção orgânica. Qualquer órgão pode ser acometido. Nos pulmões, a presença de nódulos, infiltrados difusos, cavidades e lesões endobrônquicas é comum. Outras manifestações consistem em pericardite, abscessos dos tecidos moles, lesões cutâneas, comprometimento dos linfonodos, infecção óssea e lesões do sistema nervoso central. Com frequência, os pacientes apresentam sintomas inespecíficos de febre, sudorese noturna, dor abdominal, diarreia e perda de peso. O diagnóstico é estabelecido com base na cultura de microrganismos do MAC a partir de amostras de sangue ou tecido.

Os microrganismos do MAC são rotineiramente resistentes aos fármacos contra tuberculose de primeira linha. A terapia inicial preferida consiste em claritromicina ou azitromicina mais EMB. Outros fármacos que podem ser úteis são rifabutina, clofazimina, fluoroquinolonas e amicacina. Vários fármacos frequentemente são usados em combinação. O tratamento deve ser mantido durante toda a vida do paciente. O tratamento resulta em declínio das contagens de microrganismos do MAC no sangue e melhora dos sintomas clínicos.

Mycobacterium kansasii

O *M. kansasii* é um fotocromógeno que exige meios de cultura complexos para seu crescimento a 37°C. Pode causar doença pulmonar e sistêmica indistinguível da tuberculose, particularmente em pacientes com comprometimento da resposta imunológica. Sensível à RMP é frequentemente tratado com a combinação de RMP, EMB e INH, com boa resposta clínica. A fonte da infecção permanece incerta e o contágio é baixo ou inexistente.

Mycobacterium scrofulaceum

Trata-se de um escotocromógeno ocasionalmente encontrado na água e como saprófita em adultos com doença pulmonar crônica. Provoca linfadenite cervical crônica em crianças e, raramente, outra doença granulomatosa. A excisão cirúrgica dos linfonodos cervicais acometidos pode ser curativa, e a resistência aos fármacos antituberculose é comum. (*Mycobacterium szulgai* e *Mycobacterium xenopi* são semelhantes.)

Mycobacterium marinum e *Mycobacterium ulcerans*

São microrganismos encontrados na água, exibem melhor crescimento a temperaturas por volta de 31°C, podem infectar peixes e provocam lesões cutâneas superficiais (úlceras, “granulomas de piscina”) nos seres humanos. A excisão cirúrgica, as tetraciclina, a RMP e o EMB são algumas vezes eficazes.

Complexo *Mycobacterium fortuitum*

São saprófitas encontrados no solo e na água que crescem rapidamente (3 a 6 dias) em cultura e não formam pigmento.

Raramente, podem produzir doença sistêmica e superficial em seres humanos. Esses microrganismos são com frequência resistentes a fármacos antimicobacterianos, mas podem responder a amicacina, doxiciclina, cefoxitina, eritromicina ou RMP.

Mycobacterium chelonae-abscessus

Estas bactérias de crescimento rápido devem ser diferenciadas uma das outras, pois os tipos e a gravidade das doenças são diferentes e também por ser a terapia para *M. chelonae* mais fácil, uma vez que esse microrganismo é mais suscetível aos agentes antimicrobianos. Ambas as espécies podem causar infecções de pele, tecidos moles e nos ossos após traumatismo ou cirurgia, que podem disseminar-se em pacientes imunocomprometidos. *M. abscessus* também é frequentemente recuperado de pacientes com doença respiratória nos EUA, especialmente nas regiões do sudeste. Os indivíduos mais comumente infectados são mulheres idosas, brancas e não fumantes. Pacientes com fibrose cística também correm risco e podem sucumbir diante de doença fulminante, rapidamente progressiva. *M. chelonae* é tipicamente suscetível a tobramicina, claritromicina, linezolida e imipenem. Claritromicina, amicacina e cefoxitina geralmente são usados para o tratamento de *M. abscessus*, embora a resistência aos fármacos seja um dos maiores problemas deste microrganismo.

Outras espécies *Mycobacterium*

O elevado risco de infecção por micobactérias em pacientes com Aids levou a um maior reconhecimento das infecções micobacterianas em geral. Espécies anteriormente consideradas curiosidades e extremamente raras passaram a ser amplamente identificadas (Quadro 23.1). O *M. malmoense* foi descrito principalmente na Europa setentrional. Provoca uma doença pulmonar semelhante à tuberculose em adultos e linfadenite em crianças. O *M. haemophilum* e o *M. genavense* causam doença em pacientes com Aids. A importância dessas duas espécies ainda não está totalmente elucidada.

Micobactérias saprofíticas não associadas a doença humana

Semelhante ao *Mycobacterium gordonae*, o *Mycobacterium phlei* é frequentemente encontrado em plantas, no solo ou na água. O *Mycobacterium smegmatis* ocorre regularmente em secreções sebáceas humanas e pode ser confundido com microrganismos álcool-acidorresistentes patogênicos. O *Mycobacterium paratuberculosis* causa enterite crônica no gado bovino. Existe um renovado interesse por esses microrganismos como causa potencial de doença inflamatória intestinal.

MYCOBACTERIUM LEPRAE

Embora tenha sido descrito por Hansen em 1873 (nove anos antes da descoberta do bacilo da tuberculose por Koch), esse microrganismo ainda não foi cultivado em meios bacteriológicos artificiais. É o agente etiológico da hanseníase. Existem mais de 10 milhões de casos de hanseníase, principalmente na Ásia.

Os bacilos álcool-acidorresistentes típicos — isoladamente, em feixes paralelos ou em massas globulares — são encontrados regularmente em raspados de pele ou de mucosas (particularmente do septo nasal) em pacientes com hanseníase

lepromatosa. Os bacilos são frequentemente encontrados no interior das células endoteliais dos vasos sanguíneos ou em células mononucleares. Quando bacilos da hanseníase humana (raspados de tecido nasal) são inoculados no coxim plantar de camundongos, desenvolvem-se lesões granulomatosas locais, com a multiplicação limitada dos bacilos. Tatus (*armadillos*) inoculados desenvolvem hanseníase lepromatosa extensa, e animais naturalmente infectados com a doença têm sido encontrados no Texas (EUA) e no México. O *M. leprae* do tatu ou do tecido humano contém uma *o*-difeno oxidase única, talvez uma enzima característica dos bacilos da hanseníase.

Manifestações clínicas

O início da hanseníase é insidioso. As lesões afetam os tecidos mais frios do corpo incluindo pele, nervos superficiais, nariz, faringe, laringe, olhos e testículos. As lesões cutâneas podem ocorrer em forma de máculas pálidas e anestésicas, de 1 a 10 cm de diâmetro; nódulos infiltrados eritematosos, difusos ou distintos, de 1 a 5 cm de diâmetro; ou infiltração difusa da pele. Os distúrbios neurológicos manifestam-se em forma de infiltração e espessamento dos nervos, com consequentes anestesia, neurite, parestesia, úlceras tróficas, bem como reabsorção óssea e encurtamento dos dedos. A desfiguração em decorrência da infiltração da pele e do comprometimento dos nervos pode ser extrema nos casos não tratados.

A doença é dividida em dois tipos principais: lepromatosa e tuberculoide, com vários estágios intermediários. No tipo lepromatosa, a evolução é progressiva e maligna, com lesões cutâneas nodulares, acometimento simétrico e lento dos nervos, inúmeros bacilos álcool-acidorresistentes nas lesões cutâneas, bacteriemia contínua e teste cutâneo negativo com lepromina (extrato de tecido lepromatosa). Na hanseníase lepromatosa, a imunidade celular encontra-se bastante deficiente, e a pele mostra-se infiltrada com células T supressoras. No tipo tuberculoide, a infecção é benigna e não progressiva, com lesões cutâneas maculares, início súbito de grave acometimento assimétrico dos nervos com poucos bacilos presentes nas lesões e teste cutâneo positivo com lepromina. Na hanseníase tuberculoide, a imunidade celular permanece intacta, e a pele mostra-se infiltrada com células T auxiliares.

Manifestações sistêmicas de anemia e linfadenopatia também podem ocorrer. É comum haver comprometimento ocular. Pode desenvolver-se amiloidose.

Diagnóstico

Os raspados de pele ou de mucosa nasal com bisturi ou uma amostra de biópsia da pele do lobo da orelha são corados em lâmina pela técnica de Ziehl-Neelsen. A biópsia de pele ou de um nervo espessado revela um quadro histológico típico. Não existem testes sorológicos de valor. Os testes sorológicos não treponêmicos para sífilis frequentemente fornecem resultados falsos positivos na hanseníase.

Tratamento

As sulfonas, tais como a dapsona (ver Cap. 28), constituem a terapia de primeira linha para a hanseníase tanto tuberculoide quanto lepromatosa. A RMP ou a clofazimina é geralmente incluída no esquema inicial de tratamento. Outros fármacos

ativos contra o *M. leprae* são a minociclina, claritromicina e algumas fluoroquinolonas. Os esquemas recomendados pela OMS são práticos. Podem ser necessários vários anos de terapia para se tratar adequadamente a hanseníase.

Epidemiologia

A transmissão da hanseníase tem maior probabilidade de ocorrer quando crianças pequenas são expostas por períodos prolongados a indivíduos que eliminam grandes quantidades de bacilos. As secreções nasais constituem o material mais provavelmente infeccioso nos contatos familiares. O período de incubação é, provavelmente, de 2 a 10 anos. Sem profilaxia, cerca de 10% das crianças expostas podem adquirir a doença. O tratamento tende a reduzir e eliminar a infecciosidade do paciente. Os tatus naturalmente infectados encontrados no Texas (EUA) e no México provavelmente não atuam na transmissão da doença para os seres humanos.

Prevenção e controle

Nos EUA, as recomendações para prevenção da hanseníase incluem um exame aprofundado dos contatos domésticos e parentes próximos, devendo incluir um exame completo da pele e do sistema nervoso periférico. O US Public Health Service National Hansen's Disease Program não recomenda o uso de dapsona como profilaxia. Um rastreamento terapêutico pode ser indicado aos pacientes cujos sinais e sintomas sejam sugestivos de hanseníase, mas que não tenham diagnóstico definitivo.

Verificação de conceitos

- As NTMs constituem em um grupo heterogêneo de microrganismos comumente encontrados no ambiente, incluindo saprófitas e patógenos humanos.
- As NTMs podem apresentar crescimento rápido (< 7 dias) ou crescimento lento, semelhante ao do grupo *M. tuberculosis*. Esse grupo ainda pode ser subdividido com base na produção de pigmentos.
- Os membros do MAC estão entre os isolados mais frequentes das NTMs, sendo responsáveis por infecções em pacientes com Aids e com doença pulmonar crônica.
- *M. kansasii* causa infecções pulmonares que se assemelham ao quadro de tuberculose. Seu tratamento consiste em INH, RIF e EMB.
- As NTMs de crescimento rápido formam um grupo diverso. O complexo *M. fortuitum*, *M. chelonae* e *M. abscessus* é o mais prevalente. *M. abscessus* é responsável pelas infecções mais graves entre os representantes desse grupo e está com frequência associada à multirresistência aos diferentes antimicrobianos.
- *M. leprae* é o agente etiológico da hanseníase. Esse microrganismo não é cultivável. O tratamento da infecção geralmente leva vários anos e consiste no uso em conjunto de dapsona, RMP e clofazimina.

QUESTÕES DE REVISÃO

1. Um homem de 60 anos de idade teve há cinco meses uma história de fraqueza progressiva e perda de peso (13 kg) com febre intermitente, tremor e tosse crônica produtiva de escarro amarelado, contendo sangue ocasionalmente. Amostra do escarro foi obtida, e inúmeros bacilos álcool-acidorresistentes foram vistos no esfregaço corado. A cultura do escarro deu resultado positivo para *Mycobacterium tuberculosis*. Qual é o regime de tratamento mais apropriado para terapia inicial?
 - (A) Isoniazida e rifampicina
 - (B) A sulfametoxazol-trimetoprima e estreptomicina
 - (C) Isoniazida, rifampicina, pirazinamida e etambutol
 - (D) Isoniazida, ciclosserina e ciprofloxacino
 - (E) Rifampicina e estreptomicina
2. Se o *Mycobacterium tuberculosis* isolado do paciente (Questão 1) mostrar-se resistente à isoniazida, o provável mecanismo de resistência é constituído pela(s):
 - (A) β -lactamase
 - (B) Mutações no gene da catalase-peroxidase
 - (C) Alterações na subunidade β da RNA polimerase
 - (D) Mutações no gene da DNA girase
 - (E) Mutações nos genes que codificam a proteína S12 e rRNA 16S
3. Uma mulher de 47 anos de idade apresenta uma história de tosse progressiva há três meses, bem como perda de peso e febre. A radiografia de tórax mostrou doença cavitária bilateral sugestiva de tuberculose. Na cultura de escarro, cresceu um bacilo álcool-acidorresistente fotocromogênico (produz um pigmento laranja quando exposto à luz). O microrganismo mais provável é:
 - (A) *Mycobacterium tuberculosis*
 - (B) *Mycobacterium kansasii*
 - (C) *Mycobacterium gordonae*
 - (D) Complexo *Mycobacterium avium*
 - (E) *Mycobacterium fortuitum*
4. Uma mulher de origem asiática de 31 anos de idade é admitida em um hospital com uma história de sete semanas de crescente mal-estar, mialgia, tosse não produtiva e respiração difícil. Apresentou febre de 38 a 39°C diariamente e perdeu cerca de 5 kg. A radiografia de tórax mostrou-se negativa quando ela chegou aos EUA, 7 anos atrás. A avó morreu de tuberculose quando a paciente era criança. A radiografia de tórax deu resultado normal, e os resultados dos demais exames mostram hematócrito diminuído e anomalias nos testes de função hepática. Biópsias de fígado e medula revelam granulomas com células gigantes e bacilos álcool-acidorresistentes. A paciente provavelmente está infectada por:
 - (A) *Mycobacterium leprae*
 - (B) *Mycobacterium fortuitum*
 - (C) *Mycobacterium ulcerans*
 - (D) *Mycobacterium gordonae*
 - (E) *Mycobacterium tuberculosis*
5. É muito importante que a paciente (Questão 4) também seja avaliada para:
 - (A) HIV/Aids
 - (B) Febre tifoide
 - (C) Abscesso hepático
 - (D) Linfoma
 - (E) Malária
6. Uma preocupação em relação à paciente da Questão 4 é que ela pode estar infectada com uma micobactéria:
 - (A) Sensível somente à isoniazida
 - (B) Resistente à estreptomicina
 - (C) Resistente à claritromicina
 - (D) Sensível somente ao ciprofloxacino
 - (E) Resistente a isoniazida e rifampicina

7. Você observa um homem de 40 anos de idade mendigando em uma cidade da Índia. Ele não tem parte do quarto e do quinto dedos, com perda da parte distal dos dedos de ambas as mãos, sugerindo fortemente hanseníase. O agente causador desta doença:
- É sensível a isoniazida e rifampicina
 - Cresce em partes do corpo com temperatura inferior a 37°C
 - Pode ser cultivado em laboratório com o uso do meio de Middlebrook 7H11
 - É visto em grande quantidade em biópsias de lesões tuberculoides e de hanseníase
 - Infecta comumente pessoas no Texas (EUA), estado em que os tatus são hospedeiros naturais do *Mycobacterium leprae*
8. Qual das seguintes afirmativas sobre o derivado proteico purificado (DPP) e o teste cutâneo de tuberculina é a mais correta?
- É fortemente recomendado que estudantes de Medicina ou de Ciências da Saúde submetam-se ao teste da tuberculina a cada cinco anos
 - As pessoas imunizadas com o BCG raramente ou nunca convertem em positivos os testes cutâneos de DPP
 - O teste cutâneo intradérmico é interpretado em geral 4 horas após a aplicação
 - Um teste de tuberculina positivo indica que o indivíduo foi infectado com *Mycobacterium tuberculosis* no passado, e pode continuar sendo um portador de micobactérias viáveis
 - Um teste DPP positivo implica que a pessoa está imune contra a tuberculose ativa
9. Uma mulher de 72 anos de idade recebeu uma prótese de quadril devido a uma doença degenerativa na articulação do mesmo. Uma semana após o procedimento, apresentou febre e dor na articulação. Foi feita aspiração na região da prótese, e o líquido foi submetido à cultura de rotina e cultura para microrganismos álcool-acidorresistentes. Após dois dias de incubação, não foi observado crescimento nos meios de cultura. Entretanto, após quatro dias, foram vistos alguns bacilos crescendo em ágar-sangue e bacilos semelhantes crescendo em meio específico para as bactérias álcool-acidorresistentes. A paciente provavelmente está infectada com:
- Mycobacterium tuberculosis*
 - Mycobacterium chelonae*
 - Mycobacterium leprae*
 - Mycobacterium kansasii*
 - Complexo *Mycobacterium avium*
10. Uma criança de 10 anos teve uma infecção pulmonar primária por *Mycobacterium tuberculosis*. Qual das características da tuberculose mostradas a seguir é a mais correta?
- Na tuberculose primária, desenvolve-se lesão exsudativa ativa que se dissemina rapidamente para os vasos linfáticos e linfonodos
 - Frequentemente, a lesão exsudativa da tuberculose primária regride lentamente
 - Se a tuberculose se desenvolver anos mais tarde, isto se deve a outra exposição ao *M. tuberculosis*
 - Na tuberculose primária, todos os *M. tuberculosis* infectantes são mortos pelo sistema imunológico
 - Na tuberculose primária, o sistema imunológico é estimulado, mas o teste cutâneo do DPP permanece negativo até que ocorra uma segunda exposição ao *M. tuberculosis*
11. Qual das seguintes alternativas sobre ensaios de liberação de interferon- γ está correta?
- São úteis para avaliação de pacientes imunocomprometidos para tuberculose ativa
 - Detectam antígenos presentes em todas as espécies de *Mycobacterium*
 - Ainda não estão disponíveis para testes nos EUA
 - São realizados com o uso de sondas moleculares que detectam o DNA do microrganismo
 - São empregados como alternativas ao teste cutâneo da tuberculina para avaliação de tuberculose latente.
12. *Mycobacterium abscessus* causa doença pulmonar com maior frequência em qual grupo de indivíduos?
- Crianças pequenas expostas a sujeira
 - Afro-americanos fumantes
 - Mulheres idosas, brancas e não fumantes
 - Homens hispânicos que trabalham nas ruas
 - Pessoas que vivem no nordeste dos EUA
13. Uma micobactéria de crescimento rápido recentemente identificada que surgiu como uma causa importante de infecções associadas a cateter venoso central é:
- Mycobacterium phlei*
 - Mycobacterium mucogenicum*
 - Mycobacterium xenopi*
 - Mycobacterium smegmatis*
 - Mycobacterium terrae*
14. A definição de tuberculose altamente resistente a fármacos (XDR, na sigla em inglês) inclui:
- Resistência à isoniazida
 - Resistência a fluoroquinolonas
 - Resistência a capreomicina, amicacina e canamicina
 - Resistência à rifampicina
 - Resistência a todos os fármacos anteriormente citados
15. Todos os microrganismos mostrados a seguir são micobactérias de crescimento rápido, exceto:
- Mycobacterium fortuitum*
 - Mycobacterium abscessus*
 - Mycobacterium mucogenicum*
 - Mycobacterium nonchromogenicum*
 - Mycobacterium chelonae*

Respostas

- | | | | |
|------|------|-------|-------|
| 1. C | 5. A | 9. B | 13. B |
| 2. B | 6. E | 10. A | 14. E |
| 3. B | 7. B | 11. E | 15. D |
| 4. E | 8. D | 12. C | |

REFERÊNCIAS

- Brown-Elliott BA, Wallace RJ Jr: Infections due to nontuberculous mycobacteria other than *Mycobacterium avium-intracellulare*. In Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (editors). *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*, 7th ed. Elsevier, 2010.
- Centers for Disease Control and Prevention: Recommendations for use of an isoniazid-rifapentine regimen with direct observation to treat latent *Mycobacterium tuberculosis* infection. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2011;60(48):1650–1653.
- Cohn DL, O'Brien RJ, Geiter LJ et al. Targeted tuberculin testing and treatment of latent tuberculosis infection. ATS/CDC Statement Committee on Latent Tuberculosis Infection. *MMWR Recomm Rep* 2000;49(RR-6):1–51.

- Fitzgerald D, Sterling TR, Haas DW: *Mycobacterium tuberculosis*. In Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (editors). *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*, 7th ed. Elsevier, 2010.
- Gordin FM, Horsburgh CR Jr: *Mycobacterium avium* complex. In Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (editors). *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*, 7th ed. Elsevier, 2010.
- Griffith DE, Aksamit T, Brown-Elliott BA et al; ATS Mycobacterial Diseases Subcommittee; American Thoracic Society, Infectious Disease Society of America: An Official ATS/IDSA Statement: Diagnosis, treatment, and prevention of nontuberculous mycobacterial diseases. *Am J Respir Crit Care Med* 2007;175:367–416.
- Jassal M, Bishai WR: Extensively drug-resistant tuberculosis. *Lancet Infect Dis* 2009;9:19–30.
- Mazurek GH, Jereb J, Vernon A et al: IGRA Expert Committee; Centers for Disease Control and Prevention: Updated guidelines for using Interferon Gamma Release Assays to detect *Mycobacterium tuberculosis* infection—United States, 2010. *MMWR Recomm Rep* 2010;59(No. RR-5):1–25.
- Pfyffer GE, Paliciva F: *Mycobacterium*: General characteristics, laboratory detection, isolation, and staining procedures. In Versalovic J, Carroll KC, Funke G et al. (editors). *Manual of Clinical Microbiology*, 10th ed. ASM Press, 2011.
- Renault CA, Ernst JD: *Mycobacterium leprae*. In Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (editors). *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*, 7th ed. Elsevier, 2010.
- Richter E, Brown-Elliott BA, Wallace RJ: *Mycobacterium*: Laboratory characteristics of slowly growing mycobacteria. In Versalovic J, Carroll KC, Funke G et al. (editors). *Manual of Clinical Microbiology*, 10th ed. ASM Press, 2011.
- Yew WW, Sotgiu G, Migliori GB: Update in tuberculosis and nontuberculous mycobacterial disease 2010. *Am J Respir Crit Care Med* 2011;184:180–185.

Espiroquetas e outros microrganismos espiralados

Os espiroquetas constituem um grupo grande e heterogêneo de bactérias espiraladas e móveis. Uma das famílias (Spirochaetaceae) da ordem *Spirochaetales* é constituída de dois gêneros de microrganismos associados a patologias humanas, *Borrelia* e *Treponema*. A outra família (Leptospiraceae) consiste em três gêneros: *Leptospira*, *Leptonema* e *Turneriella*.

Os espiroquetas têm muitas características estruturais em comum, conforme exemplifica o *Treponema pallidum* (Fig. 24.1). São bacilos gram-negativos longos, delgados, de forma helicoidal, espiralada ou em saca-rolha. O *T. pallidum* é dotado de uma **bainha externa** ou revestimento de glicosaminoglicano. No interior da bainha, encontra-se a membrana externa, que contém peptidoglicano e mantém a integridade estrutural do microrganismo. Os **endoflagelos** (filamentos axiais) são organelas semelhantes a flagelos no espaço periplasmático delimitado pela membrana externa. Originam-se em cada extremidade do microrganismo e enrolam-se em torno dele, estendendo-se e recobrimo o ponto médio. No interior dos endoflagelos, encontra-se a membrana interna (membrana citoplasmática), que proporciona estabilidade osmótica e recobre o cilindro protoplasmático. No interior da célula, existe uma série de túbulos citoplasmáticos (fibrilas corpusculares) próximo à membrana interna. Os treponemas reproduzem-se por divisão transversa.

TREPONEMA

O gênero *Treponema* inclui o *T. pallidum* subespécie *pallidum*, que causa a sífilis; o *T. pallidum* subespécie *pertenue*, que provoca a framboesia; o *T. pallidum* subespécie *endemicum*, que causa a sífilis endêmica (também denominada bejel); e o *Treponema carateum*, que provoca a pinta.

TREPONEMA PALLIDUM E SÍFILIS

Morfologia e identificação

A. Microrganismos típicos

São microrganismos espiralados e delgados, que medem cerca de 0,2 μm de largura e 5 a 15 μm de comprimento. As espirais apresentam-se regularmente espaçadas, com distância de 1 μm entre cada uma. Os microrganismos exibem motilidade ativa e giram constantemente em torno dos endoflagelos mesmo após sua fixação às células por meio de suas extremidades afiladas. O eixo longitudinal da espiral costuma ser reto, mas às vezes

pode encurvar-se de modo que o microrganismo forma um círculo completo por determinados momentos, retornando, em seguida, à sua posição reta normal.

De tão delgadas, as espirais não são facilmente observadas, a menos que sejam empregadas a coloração imunofluorescente ou a iluminação de campo escuro. Esses microrganismos não se coram bem com corantes de anilina, mas podem ser detectados em tecidos quando corados por um método de impregnação pela prata.

B. Cultura

O *T. pallidum* patogênico nunca foi cultivado continuamente em meios artificiais, ovos férteis ou cultura de tecidos. Os treponemas não patogênicos (p. ex., cepa de Reiter) podem ser cultivados em condições anaeróbias *in vitro*. Trata-se de saprófitas antigenicamente relacionadas com o *T. pallidum*.

C. Características de crescimento

O *T. pallidum* é um microrganismo microaerofílico que sobrevive melhor em 3 a 5% de oxigênio. A cepa de Reiter saprofítica cresce em meio de cultura definido contendo 11 aminoácidos, vitaminas, sais, minerais e albumina sérica.

Na presença de substâncias redutoras suspensas em líquidos apropriados, o *T. pallidum* pode permanecer móvel durante 3 a 6 dias a 25°C. No sangue total ou no plasma conservado a 4°C, os microrganismos permanecem viáveis durante pelo menos 24 horas, sendo esse aspecto de importância potencial nas transfusões de sangue.

D. Reações a agentes físicos e químicos

O ressecamento mata rapidamente os espiroquetas, assim como a elevação da temperatura a 42°C. Os treponemas são rapidamente imobilizados e destruídos por arsenicais trivalentes, mercúrio e bismuto (contidos em fármacos de interesse histórico no tratamento da sífilis). A penicilina é treponemicida em concentrações mínimas, porém a velocidade da morte é lenta, presumivelmente devido à inatividade metabólica e à lenta velocidade de multiplicação do *T. pallidum* (o tempo de divisão estimado é de 30 horas). A resistência à penicilina não foi demonstrada na sífilis.

E. Genoma

O genoma do *T. pallidum* consiste em um cromossomo circular de aproximadamente 1.138.000 pares de bases, considerado

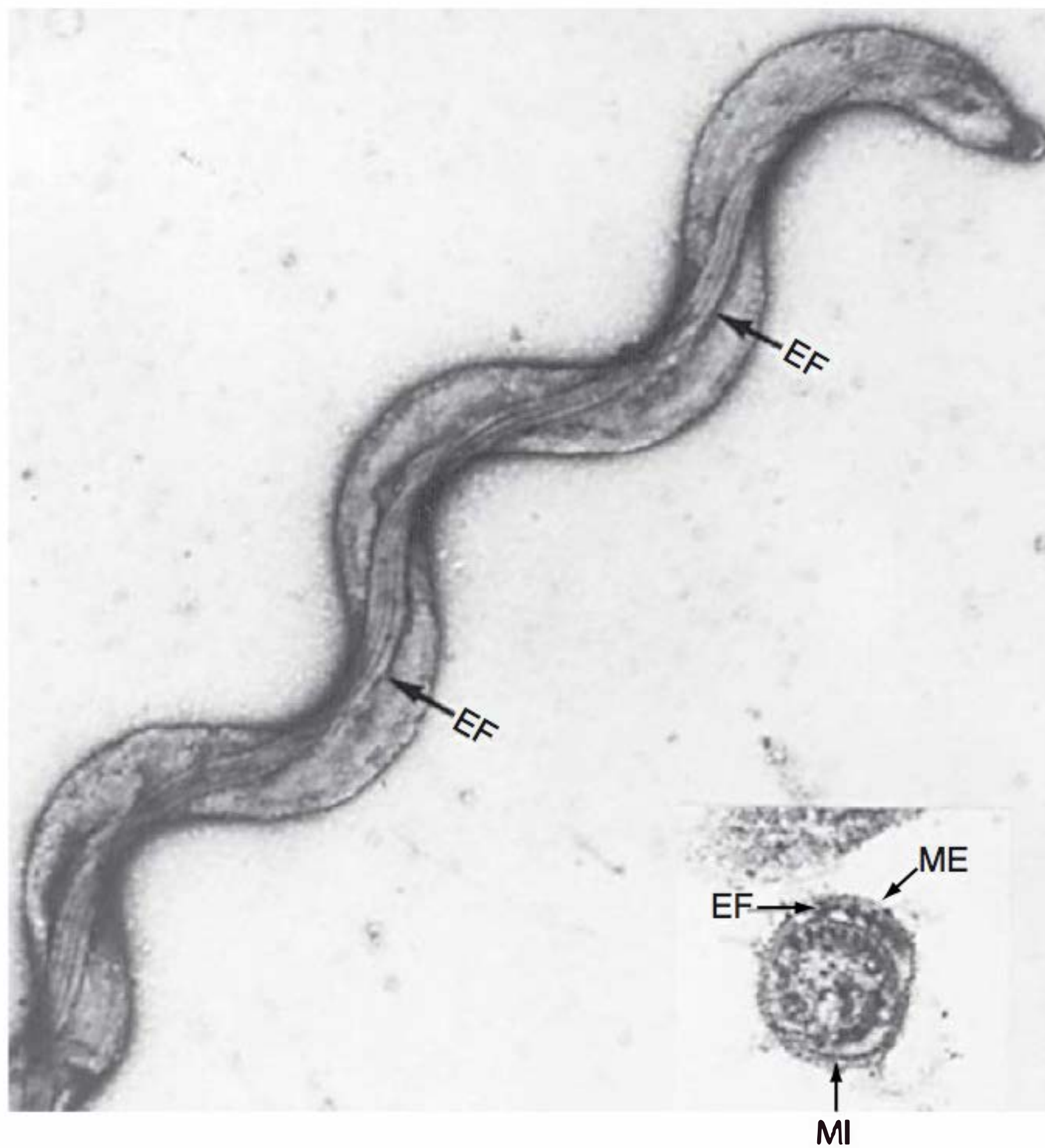


FIGURA 24.1 Micrografia eletrônica do *Treponema pallidum* subespécie *pallidum*. Os endoflagelos estão nitidamente visíveis. **Detalhe:** micrografia eletrônica de um corte delgado do *T. pallidum*. Observar a posição dos endoflagelos (EF) no espaço periplasmático, entre a membrana interna (MI) e a membrana externa (ME). (Cortesia de EM Walker.)

pequeno para uma bactéria. A maior parte das bactérias patogênicas possui transpósons, mas o *T. pallidum* não, sugerindo que seu genoma é altamente conservado e pode explicar sua constante sensibilidade à penicilina. Existem poucos genes envolvidos na produção de energia e síntese dos nutrientes, indicando que o *T. pallidum* os obtém do hospedeiro.

Estrutura antigênica

O fato de o *T. pallidum* não poder ser cultivado *in vitro* limita acentuadamente a caracterização de seus antígenos. A membrana externa circunda o espaço periplasmático e o complexo peptidoglicano-membrana citoplasmática. Proteínas membranares que contêm lipídeos ligados covalentemente aos aminoácidos terminais estão presentes. Os lipídeos parecem ancorar as proteínas à membrana citoplasmática ou membranas externas, mantendo-as inacessíveis aos anticorpos. Os endoflagelos encontram-se no espaço periplasmático. O *T. pallidum* subespécie *pallidum* possui hialuronidase, que degrada o ácido hialurônico na substância fundamental do tecido e que presumivelmente aumenta a capacidade de invasão do microrganismo. Os perfis das proteínas do *T. pallidum* (inclusive todas as subespécies) são indistinguíveis, e mais de 100 antígenos proteicos foram observados. Os endoflagelos são constituídos de três proteínas centrais, homólogas às outras proteínas flagelinas bacterianas, bem como de uma proteína da bainha não relacionada. A cardiolipina é um importante componente dos antígenos treponêmicos.

Os seres humanos com sífilis desenvolvem anticorpos capazes de corar o *T. pallidum* por imunofluorescência indireta, imobilizando e destruindo o *T. pallidum* móvel, e fixando o complemento na presença de uma suspensão do *T. pallidum* ou espiroquetas relacionados. Os espiroquetas também induzem o desenvolvimento de uma substância distinta, semelhante a anticorpo, a reagina, que produz reação positiva nos testes de fixação do complemento (FC) e de floculação com suspensões aquosas de cardiolipina extraída de tecidos de mamíferos normais. Tanto a reagina quanto o anticorpo antitreponêmico podem ser utilizados para o diagnóstico sorológico de sífilis.

Patogênese, patologia e manifestações clínicas

A. Sífilis adquirida

A infecção natural por *T. pallidum* limita-se ao hospedeiro humano. A infecção humana em geral é transmitida por contato sexual, e a lesão infecciosa localiza-se na pele ou nas mucosas da genitália. Entretanto, em 10 a 20% dos casos, a lesão primária é intrarretal, perianal ou oral, podendo aparecer em qualquer parte do corpo. O *T. pallidum* provavelmente pode penetrar em mucosas íntegras ou através de aberturas (ou cortes) da epiderme. Baseado em experimentos com coelhos, a dose infectante é baixa, sendo necessários apenas de 4 a 8 espiroquetas para se iniciar o processo infeccioso.

Os espiroquetas multiplicam-se no local de entrada, e alguns propagam-se para os linfonodos vizinhos, alcançando, assim, a corrente sanguínea. No decorrer de duas a 10 semanas após a infecção, uma pápula se desenvolve no local de infecção e sofre ruptura, originando uma úlcera com base limpa e endurecida (“cancro duro”). A inflamação caracteriza-se por um predomínio de linfócitos e plasmócitos. Essa “lesão primária” sempre cicatriza espontaneamente, mas duas a 10 semanas depois aparecem as lesões “secundárias”, que consistem em exantema maculopapular avermelhado em qualquer parte do corpo, inclusive as mãos e os pés, bem como em pápulas pálidas e úmidas (condilomas) na região anogenital, nas axilas e na boca. Além disso, podem ocorrer meningite sífilítica, coriorretinite, hepatite, nefrite (do tipo por imunocomplexos) ou periostite. As lesões secundárias também desaparecem espontaneamente. Tanto as lesões primárias quanto as secundárias são ricas em espiroquetas e altamente infecciosas. As lesões contagiosas podem reaparecer 3 a 5 anos após a infecção; entretanto, depois desse período, o indivíduo não é mais contagioso. A infecção sífilítica pode permanecer subclínica, e o paciente pode passar pelo estágio primário ou pelo secundário (ou por ambos) sem qualquer sinal ou sintoma, desenvolvendo, entretanto, lesões terciárias.

Em cerca de 30% dos casos, a infecção sífilítica inicial progride de forma espontânea para cura completa sem qualquer tratamento. Em outros 30%, a infecção sem tratamento permanece latente (sendo principalmente evidente pelos testes sorológicos positivos). Nos demais casos, a doença evolui para a “fase terciária”, caracterizada pelo desenvolvimento de lesões granulomatosas (gomas) na pele, nos ossos e no fígado; por alterações degenerativas no sistema nervoso central (sífilis meningovascular, paresia, tabes); ou por lesões cardiovasculares (aortite, aneurisma aórtico, insuficiência valvar aórtica). Em todas as lesões terciárias, os treponemas são muito raros,

devendo a resposta tecidual exagerada ser atribuída a hipersensibilidade do hospedeiro aos microrganismos. Todavia, os treponemas podem ser ocasionalmente encontrados nos olhos ou no sistema nervoso central durante a sífilis tardia.

B. Sífilis congênita

Uma gestante com sífilis pode transmitir o *T. pallidum* ao feto através da placenta a partir de 10 a 15 semanas de gestação. Alguns fetos infectados morrem, resultando em aborto; outros são natimortos a termo. Outros, ainda, nascem vivos, porém desenvolvem os sinais de sífilis congênita na infância, incluindo ceratite intersticial, dentes de Hutchinson, nariz em sela, periostite e uma variedade de anomalias do sistema nervoso central. O tratamento adequado da mãe durante a gravidez evita a sífilis congênita. Os títulos de reagina no sangue da criança aumentam com a infecção ativa, porém declinam com o decorrer do tempo se os anticorpos tiverem sido transmitidos passivamente pela mãe. Na infecção congênita, a criança produz anticorpos antitreponêmicos imunoglobulina M (IgM).

C. Doença experimental

É possível infectar experimentalmente coelhos na pele, nos testículos e nos olhos com *T. pallidum* humano. O animal desenvolve um cancro rico em espiroquetas, e os microrganismos persistem nos linfonodos, no baço e na medula óssea durante toda a vida do animal, embora não haja doença progressiva.

Exames diagnósticos laboratoriais

A. Amostras

As amostras incluem o líquido tecidual, obtido das lesões superficiais iniciais, para a demonstração dos espiroquetas por microscopia de campo escuro ou de imunofluorescência, ou ainda por amplificação do ácido nucleico por PCR. Amostras de sangue podem ser obtidas para testes sorológicos e o líquido cerebrospinal pode ser útil para realização do teste *Veneral Disease Research Laboratory* (VDRL).

B. Exame em campo escuro

Uma gota de líquido tecidual ou exsudato deve ser colocada sobre uma lâmina e uma lamínula pressionada sobre ela para formar uma camada fina. Em seguida, a preparação deve ser examinada sob óleo de imersão com iluminação de campo escuro para a identificação dos espiroquetas móveis típicos. A microscopia de campo escuro não é recomendada para realização a partir de lesões na cavidade oral, uma vez que não é possível diferenciar entre a forma patogênica e os espiroquetas saprófitas presentes na microbiota oral.

Os treponemas desaparecem das lesões poucas horas após o início do tratamento com antibióticos.

C. Imunofluorescência

O líquido tecidual, ou exsudato, deve ser espalhado em uma lâmina de microscopia, seca ao ar e enviada ao laboratório. A lâmina deve ser fixada, corada com anticorpos antitreponêmicos

marcados com fluoresceína e examinada por meio de microscopia de imunofluorescência para a detecção de espiroquetas fluorescentes típicos.

D. Testes de amplificação do ácido nucleico

Atualmente, não há nenhum teste baseado na reação em cadeia da polimerase (PCR) aprovado pela Food and Drug Administration (FDA), ou outros testes moleculares disponíveis nos EUA. Contudo, alguns laboratórios clínicos usam seus próprios testes, tanto para detecção de sequências conservadas presentes no DNA do *T. pallidum* quanto em ensaios para detecção de múltiplos patógenos que provocam úlceras genitais (p. ex. herpes simples).

E. Provas sorológicas para a sífilis

Estes testes usam tanto antígenos treponêmicos quanto não treponêmicos.

1. Testes com antígenos não treponêmicos — os testes não treponêmicos são utilizados universalmente como testes de rastreamento para sífilis. Os testes são amplamente disponíveis, podendo ser executados em sistemas automatizados com facilidade de execução em grande quantidade e a baixo custo. Além da sua função de teste de rastreamento, podem ser usados para acompanhamento da eficácia do tratamento. As limitações dos testes não treponêmicos são a baixa sensibilidade nos estágios iniciais da sífilis, podendo não dar resultados positivos até poucas semanas depois da infecção inicial; resultados falso-positivos podem ocorrer com muitas outras doenças; podem também ser um fenômeno pró-zona, particularmente na sífilis secundária (o excesso de anticorpos produz um resultado negativo em baixas diluições do soro, porém o resultado é positivo em diluições mais altas). Os antígenos desses testes contêm quantidades conhecidas de cardiolipina, colesterol e lecitina purificada em quantidades suficientes para produzir um padrão de reatividade. Historicamente a cardiolipina era extraída de coração ou fígado de bovinos, acrescida de lecitina e colesterol para realçar a reação com os anticorpos sífilíticos “reagina”. A reagina é uma mistura de anticorpos IgM e IgG reagentes com o complexo cardiolipina-colesterol-lecitina. Todos estes testes são baseados no fato de que partículas do antígeno lipídico permanecem dispersas no soro normal, mas floculam quando combinadas com a reagina. Os testes VDRL e o teste da reagina sérica não aquecida (*Unheated Serum Reagin* [USR]) exigem exame microscópico para detectar a floculação. Os testes **reagina plasmática rápida (RPR)** e **soro não aquecido em vermelho de toluidina (TRUST)** possuem partículas coloridas que ficam presas na malha do complexo antígeno-anticorpo e que permitem que os testes sejam interpretados sem ampliação microscópica. Os resultados desenvolvem-se em alguns minutos, sobretudo se a suspensão for agitada.

Os testes não treponêmicos podem dar resultados quantitativos quando se usam diluições seriadas. Uma estimativa da quantidade de reagina presente no soro pode ser expressa como título, ou como a maior diluição que dá um resultado positivo. Os resultados quantitativos são valiosos para se estabelecer um diagnóstico e avaliar o efeito do tratamento. Testes não treponêmicos positivos desenvolvem-se após duas a três

semanas de sífilis não tratada e são positivos em altos títulos na sífilis secundária. Testes não treponêmicos positivos tipicamente revertem para negativos, muitas vezes em 6 a 18 meses e em geral por três anos após um tratamento eficaz da sífilis. Um teste não treponêmico positivo tardio após o tratamento para sífilis sugere tratamento ineficaz ou reinfeção.

O teste VDRL é padronizado para uso no líquido cerebrospinal (LCS) e torna-se positivo na neurosífilis. Os anticorpos reagina geralmente não chegam ao LCS a partir da circulação sanguínea, mas provavelmente são formados no sistema nervoso central em resposta à infecção sífilítica. O diagnóstico sorológico de neurosífilis é complexo.

2. Testes com anticorpos treponêmicos — os testes treponêmicos medem os anticorpos contra os antígenos de *T. pallidum*. Esses testes são empregados para se determinar se um resultado positivo por um teste não treponêmico é um positivo verdadeiro ou um falso-positivo. Um resultado positivo para um teste treponêmico em uma amostra clínica de soro que também é positivo pelo teste não treponêmico é uma forte indicação de infecção por *T. pallidum*. Os testes treponêmicos são menos úteis como método de rastreamento porque, uma vez que o resultado seja positivo seguido de uma infecção sífilítica inicial, os testes permanecem positivos por toda a vida, independentemente da terapia para a sífilis. Não são feitas diluições seriadas no soro em testes treponêmicos, e os testes são relatados como reativo ou não reativo (ou ocasionalmente inconclusivo). Os testes de anticorpos treponêmicos tendem a ser mais caros que os testes não treponêmicos, o que é importante quando se faz rastreamento em um grande número de pessoas (p. ex., doadores de sangue).

O teste de **aglutinação de partículas de *T. pallidum* (*T. pallidum* particule agglutination [TP-PA])** talvez seja o teste treponêmico mais usado nos EUA. Partículas de gelatina sensibilizadas com antígenos de *T. pallidum* subespécie *pallidum* são adicionadas a um soro-padrão diluído. Quando os anticorpos antit. *pallidum* (IgG, IgM, ou ambos) reagem às partículas sensibilizadas, forma-se um grumo de partículas aglutinadas no poço da placa de microdiluição.

O teste de **hemaglutinação de *T. pallidum* (*T. pallidum* hemagglutination agglutination [TPHA])** e o teste de **microhemaglutinação de *T. pallidum* (microhemagglutination *T. pallidum* [MHA-TP])** são baseados nos mesmos princípios do TP-PA, mas empregam hemácias de carneiro em vez de partículas de gelatina e podem ser mais propensas a aglutinação não específica.

A prova de absorção de **anticorpo treponêmico fluorescente (fluorescent treponemal antibody absorbed [FTA-ABS])** é um teste de anticorpos treponêmicos empregado há muitos anos. Devido à dificuldade de realização, esse teste só é usado em circunstâncias especiais. O teste usa imunofluorescência indireta para detectar anticorpos reativos: *T. pallidum* mortos, soro do paciente absorvido com espiroquetas saprofiticos de Reiter sonificados, mais γ -globulina anti-humana marcada com um composto fluorescente. A presença de IgM FTA no sangue de recém-nascidos é uma boa evidência de infecção no útero (sífilis congênita). Um FTA-ABS negativo no LCS tende a excluir a neurosífilis, mas um FTA-ABS positivo no LCS pode ocorrer por transferência de anticorpos do soro, não sendo útil para o diagnóstico de neurosífilis. Vários testes similares para

pesquisa do *T. pallidum* baseados na detecção de anticorpos treponêmicos específicos, usando ensaios imunoenzimáticos (Elisa) ou quimioluminescentes, estão disponíveis. Esses testes usam antígenos obtidos a partir da sonificação de células do *T. pallidum*, ou a partir da tecnologia do DNA recombinante. Uma alíquota do soro diluído é adicionada a placas sensibilizadas. Após lavagem e adição do conjugado, o substrato é adicionado. A alteração colorimétrica ou quimioluminescentes indica soro reativo e, assim, positividade. Como alguns destes ensaios estão disponíveis em plataformas automatizadas, muitos laboratórios inverteram o algoritmo tradicional de rastreamento. Em vez do rastreamento por meio de testes não treponêmicos, e a posterior confirmação por testes de um ensaio treponêmico, esses ensaios permitem um rastreamento de maior sensibilidade. A vantagem dessa abordagem é que os pacientes com doença precoce ou doença latente não tratada são mais prováveis de serem detectados. Contudo, existem algumas preocupações sobre a variabilidade no desempenho desses ensaios, que podem levar a resultados falso-positivos ao testar populações de baixa prevalência. Devido a isso, o CDC recomendou a realização do teste RPR quantitativo, ou outro teste não treponêmico. Um resultado positivo no teste RPR pode indicar uma infecção recente ou tardia de sífilis. Caso o resultado do RPR seja negativo será necessária realização de testes treponêmicos tradicionais como o TP-PA. Um resultado positivo no TP-PA indica sífilis e já um resultado negativo geralmente reflete negatividade para sífilis.

Imunidade

O indivíduo com sífilis ativa ou latente, ou com framboesia parece resistente à superinfecção por *T. pallidum*. Entretanto, se a sífilis ou a framboesia, em seu estágio inicial, forem tratadas adequadamente e a infecção for erradicada, o paciente mais uma vez irá tornar-se completamente suscetível. As várias respostas imunológicas geralmente não conseguem erradicar a infecção ou deter sua evolução.

Tratamento

A penicilina, em concentrações de 0,003 U/mL, tem atividade treponemicida definida, sendo o tratamento de escolha. A sífilis com menos de um ano de duração é tratada com injeção única de penicilina G benzatina intramuscular (2,4 milhões U). Na sífilis de maior duração ou latente, deve-se administrar penicilina G benzatina três vezes por via intramuscular, a intervalos semanais. Na neurosífilis, o mesmo tratamento é aceitável, mas às vezes são recomendadas doses maiores de penicilina intravenosa. Outros antibióticos (p. ex., as tetraciclina ou eritromicina) podem, ocasionalmente, substituir a penicilina. Acredita-se que o tratamento da gonorreia pode curar a sífilis em incubação. O acompanhamento prolongado é essencial. Na neurosífilis, os treponemas sobrevivem algumas vezes a esse tratamento. Recidivas neurológicas graves da sífilis tratada têm ocorrido em pacientes com síndrome da imunodeficiência adquirida (Aids) infectados tanto pelo HIV quanto pelo *T. pallidum*. Uma reação de Jarisch-Herxheimer pode ocorrer horas após o início do tratamento, devendo-se à liberação de produtos tóxicos a partir dos espiroquetas mortos ou que estão morrendo.

Epidemiologia, prevenção e controle

À exceção da sífilis congênita e da exposição ocupacional rara da equipe médica, a sífilis é adquirida por contato sexual. É comum haver reinfecção em indivíduos tratados. Uma pessoa infectada pode provocar contágio por 3 a 5 anos durante o estágio “inicial” da sífilis. A sífilis “tardia”, de mais de cinco anos de duração, em geral não é contagiosa. Consequentemente, as medidas de controle dependem: (1) do tratamento imediato e adequado de todos os casos diagnosticados; (2) do acompanhamento das fontes de infecção e dos contatos, de modo que possam ser tratados; (3) de prática sexual segura com preservativo. Várias doenças sexualmente transmissíveis podem ser transmitidas simultaneamente. Por conseguinte, é importante considerar a possibilidade de sífilis quando for encontrada qualquer doença sexualmente transmissível.

DOENÇAS RELACIONADAS COM A SÍFILIS

Essas doenças são causadas por treponemas estreitamente relacionados com o *T. pallidum*. Todas fornecem resultados positivos nos testes sorológicos treponêmicos e nos testes sorológicos não treponêmicos para a sífilis, podendo-se demonstrar alguma imunidade cruzada em animais de laboratório e, talvez, em seres humanos. Não são doenças sexualmente transmissíveis; todas são transmitidas por contato direto. Nenhum dos microrganismos causais é cultivado em meios artificiais.

Bejel

O bejel (causado pela infecção por *T. pallidum* subespécie *endemicum*) ocorre principalmente na África, mas também no Oriente Médio, no Sudeste Asiático e em outros locais, particularmente em crianças. Provoca lesões cutâneas altamente infecciosas. Complicações viscerais tardias são raras, porém após período de latência pode ocorrer destruição dos tecidos cartilaginoso e ósseo, além de ulcerações cutâneas crônicas. A penicilina é o fármaco de escolha.

Bouba (framboesia)

A bouba é endêmica, particularmente entre crianças, em muitos países tropicais quentes e úmidos, sendo causada pelo *T. pallidum* subespécie *pertenue*. A lesão primária, que consiste em uma pápula ulcerada, geralmente ocorre nos braços ou nas pernas. A transmissão é feita por contato direto em indivíduos com menos de 15 anos de idade. Não ocorre infecção congênita transplacentária. A formação de cicatrizes das lesões cutâneas e destruição óssea são comuns, mas complicações viscerais ou do sistema nervoso são muito raras. Tem-se discutido se a bouba representa uma variante da sífilis adaptada à transmissão por meios não sexuais nos climas quentes. Parece haver imunidade cruzada entre a bouba e a sífilis. Os métodos diagnósticos e o tratamento assemelham-se aos da sífilis. A resposta ao tratamento com penicilina é notável.

Pinta

A pinta é causada pelo *Treponema carateum* e ocorre de modo endêmico em todas as faixas etárias no México, nas Américas

Central e do Sul, Filipinas e em algumas regiões do Pacífico. A doença parece limitar-se a indivíduos de pele escura. A lesão primária, uma pápula não ulcerada, surge em áreas expostas do corpo. Alguns meses depois, lesões hiperpigmentadas e achatadas aparecem na pele; despigmentação e hiperqueratose ocorrem nos anos posteriores. A pinta é transmitida por meios não sexuais, seja por contato direto ou por moscas ou mosquitos. O diagnóstico e o tratamento assemelham-se aos da sífilis.

Verificação de conceitos

- O gênero *Treponema* inclui as espécies *T. pallidum*, subespécies *pallidum* (causadora da sífilis), *T. pallidum* subespécie *pertenue* (causadora da bouba), *T. pallidum* subespécie *endemicum* (causadora da sífilis endêmica ou Bejel) e o *T. carateum* (causadora da pinta).
- O *T. pallidum* não é cultivado em meios artificiais. Assim, ele somente pode ser detectado diretamente dos tecidos infectados ou de exsudatos, usando microscopia de campo escuro, de imunofluorescência ou por testes moleculares.
- As infecções pelo *T. pallidum* subespécies *pallidum* são limitadas à espécie humana. O microrganismo é transmitido pelo contato sexual direto, pela passagem transplacentária (sífilis congênita) ou por meio de exposição ocupacional.
- A lesão primária típica (cancro duro) no sítio de infecção é indolor, geralmente se manifesta como lesão ulcerativa genital.
- Infecções primárias não tratadas levam à doença secundária com disseminação sistemática do espiroqueta, resultando em um período de latência, caracterizado pela ausência de sintomas, porém com resultados sorológicos positivos. O estágio terciário envolve comprometimento do sistema nervoso central e cardíaco grave.
- Em adição à detecção direta do espiroqueta no espécime clínico, o diagnóstico da sífilis é rotineiramente realizado por testes sorológicos. O algoritmo tradicional envolve o rastreamento, usando testes não treponêmicos, seguidos pela confirmação com testes treponêmicos, tais como TP-PA.
- A disponibilidade de Elisa e CIA automatizados levou alguns laboratórios a adotar uma inversão na sequência de rastreamento, realizado por um teste específico treponêmico, que é seguido por um teste não treponêmico para confirmação do diagnóstico. A preocupação pela possibilidade de resultados falso-positivos levou o CDC a recomendar um algoritmo que confirme o resultado negativo, em um teste não treponêmico com um teste treponêmico tradicional.
- A penicilina é o antibiótico de escolha terapêutica para todos os estágios da sífilis.

BORRELIA

ESPÉCIES BORRELIA E FEBRE RECORRENTE

A febre recorrente na forma epidêmica é causada pela *Borrelia recurrentis*, transmitida pelo piolho do corpo humano; não ocorre nos EUA. A febre recorrente endêmica é causada por borrelíias transmitidas por carrapatos do gênero *Ornithodoros*. O nome da espécie do gênero *Borrelia* é frequentemente igual ao do carrapato. Por exemplo, a *Borrelia hermsii*, que causa

febre recorrente no Oeste dos EUA, é transmitida pelo *Ornithodoros hermsii*.

Morfologia e identificação

A. Microrganismos típicos

As borrelíias formam espirais irregulares de 10 a 30 μm de comprimento e 0,3 μm de largura. A distância entre as espirais varia de 2 a 4 μm . Os microrganismos são altamente flexíveis e movem-se por rotação e contorção. As borrelíias coram-se facilmente com corantes bacteriológicos e hematológicos, como os dos métodos de Giemsa ou de Wright (Fig. 24.2).

B. Cultura

O microrganismo pode ser cultivado em meios líquidos que contenham sangue, soro ou tecido, mas perde rapidamente sua patogenicidade para os animais quando transferido repetidamente *in vitro*. A multiplicação é rápida em embriões de pinto, quando o sangue de pacientes é inoculado na membrana corioalantoica.

C. Características de crescimento

Pouco se sabe a respeito das necessidades metabólicas ou da atividade das borrelíias. À temperatura de 4°C, os microrganismos sobrevivem alguns meses em sangue infectado ou em cultura. Em alguns carrapatos (mas não em piolhos), os espiroquetas são transmitidos de uma geração para outra.

D. Variação

A única variação significativa da *Borrelia* está relacionada com a sua estrutura antigênica.

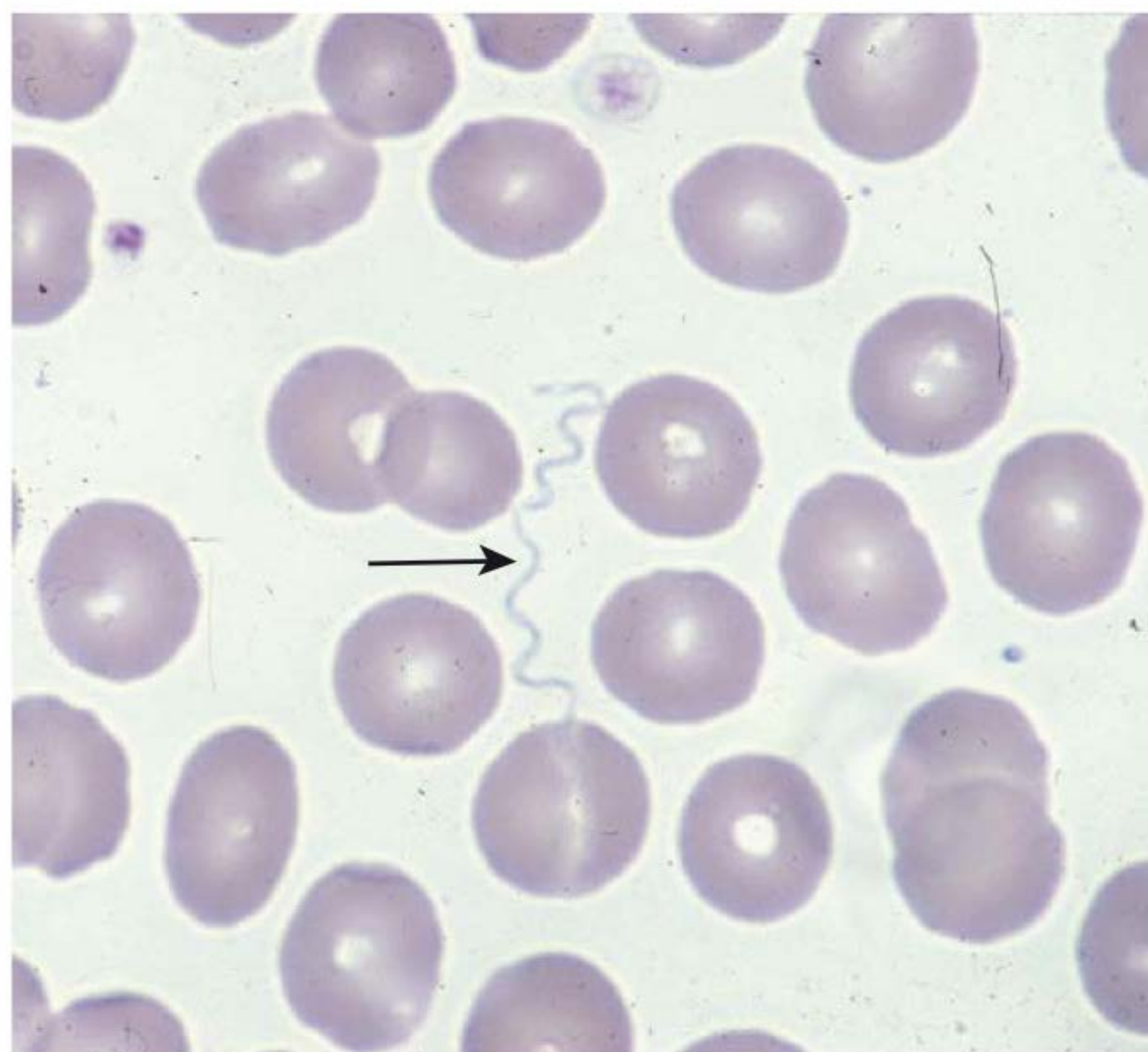


FIGURA 24.2 *Borrelia* (seta) em esfregaço do sangue periférico de paciente com febre recorrente. Aumento original de 1.000 vezes.

Estrutura antigênica

Anticorpos são produzidos em altos títulos após infecção por borrelíias. A estrutura antigênica dos microrganismos modifica-se no decorrer de uma única infecção. Os anticorpos produzidos inicialmente atuam como fator seletivo, permitindo a sobrevivência apenas das variantes antigenicamente distintas. A evolução recidivante da doença parece dever-se à multiplicação dessas variantes antigênicas contra as quais o hospedeiro deve produzir novos anticorpos. A recuperação final (depois de 3 a 10 recidivas) está associada à presença de anticorpos contra diversas variantes antigênicas.

Patologia

Os casos fatais demonstram espiroquetas em grande número no baço e no fígado, com focos necróticos em outros órgãos parenquimatosos e lesões hemorrágicas nos rins e no trato gastrointestinal. Espiroquetas têm sido ocasionalmente demonstrados no LCS e no cérebro de indivíduos que tiveram meningite. Em animais de laboratório (cobaias, ratos), o cérebro pode servir de reservatório de borrelíias após o desaparecimento destas do sangue.

Patogênese e manifestações clínicas

O período de incubação é de 3 a 10 dias. O início é súbito, com calafrios e elevação abrupta da temperatura. Durante esse período, verifica-se a presença de inúmeros espiroquetas no sangue. A febre persiste por 3 a 5 dias, e em seguida declina, deixando o paciente fraco mas não doente. O período afebril, cuja duração é de 4 a 10 dias, é seguido de um segundo ataque de calafrios, febre, cefaleia intensa e mal-estar. Ocorrem 3 a 10 dessas recidivas, geralmente de gravidade decrescente. Durante a fase febril (particularmente quando a temperatura está aumentando), os microrganismos são observados no sangue, mas durante o período afebril estão ausentes.

Os anticorpos dirigidos contra os espiroquetas aparecem durante a fase febril, e o ataque provavelmente é interrompido em virtude de seus efeitos aglutinantes e líticos. Esses anticorpos podem selecionar diversas variantes antigenicamente distintas, que se multiplicam e provocam recidiva. Diversas variantes antigênicas distintas de borrelíias podem ser isoladas de um único paciente com recidivas sequenciais, mesmo após a inoculação experimental de um único microrganismo.

Exames diagnósticos laboratoriais

A. Amostras

As amostras de sangue devem ser obtidas durante a elevação da temperatura para esfregaços e inoculação em animais.

B. Esfregaços

Esfregaços sanguíneos finos ou espessos, corados pelo método de Wright ou de Giemsa, revelam a presença de grandes espiroquetas com espirais largas entre os eritrócitos.

C. Inoculação em animais

Camundongos brancos ou ratos jovens são inoculados com sangue por via intraperitoneal. Esfregaços corados do sangue

da cauda dos animais são examinados à procura de espiroquetas após 2 a 4 dias.

D. Sorologia

Os espiroquetas cultivados podem servir como antígenos para os testes de FC; entretanto, é difícil efetuar uma preparação de antígenos satisfatória. Os pacientes com febre recorrente epidêmica (transmitida por piolhos) podem desenvolver uma reação VDRL positiva.

Imunidade

A imunidade após a infecção geralmente é de curta duração.

Tratamento

A grande variabilidade das remissões espontâneas da febre recorrente dificulta a avaliação da eficácia do tratamento quimioterápico. Acredita-se que as tetraciclina, a eritromicina e a penicilina sejam eficazes. O tratamento durante um único dia pode ser suficiente para interromper uma crise.

Epidemiologia, prevenção e controle

A febre recorrente é endêmica em muitas partes do mundo. O principal reservatório é a população de roedores, que serve como fonte de infecção para os carrapatos do gênero *Ornithodoros*. A distribuição de focos endêmicos e a incidência sazonal da doença são largamente determinadas pela ecologia dos carrapatos em diferentes regiões. Nos EUA, carrapatos infectados são encontrados em todo o Oeste, particularmente nas áreas montanhosas, mas os casos clínicos são raros. No carrapato, as espécies de *Borrelia* podem ser transmitidas por via transovariana de uma geração para outra.

Os espiroquetas são encontrados em todos os tecidos do carrapato, podendo ser transmitidos por picada ou esmagamento do animal. A doença transmitida pelo carrapato não é epidêmica. Entretanto, quando um indivíduo infectado tem piolhos, estes se tornam infectados ao sugar o sangue, e em 4 a 5 dias podem servir como fonte de infecção para outros indivíduos. A infecção dos piolhos não é transmitida para a geração seguinte, e a doença resulta do ato de esfregar piolhos esmagados nas feridas causadas pelas picadas. Epidemias graves podem ocorrer em populações infectadas por piolhos, sendo a transmissão favorecida por aglomerações, desnutrição e clima frio.

Nas áreas endêmicas, a infecção humana pode ocasionalmente resultar de contato com sangue e tecidos de roedores infectados. A taxa de mortalidade da doença endêmica é baixa, mas nas epidemias pode atingir 30%.

A prevenção baseia-se em evitar a exposição a carrapatos e piolhos, bem como em sua eliminação (limpeza e uso de inseticidas).

BORRELIA BURGDORFERI E DOENÇA DE LYME

A doença de Lyme recebeu esse nome em homenagem à cidade de Lyme, Connecticut (EUA), local em que foram inicialmente

identificados vários casos em crianças. Desde 1962, três espécies de *Borrelia* são associadas à doença de Lyme, *B. burgdorferi*, *B. afzelii* e *B. garinii*. Todas as três espécies causam doença na Europa, porém apenas *B. burgdorferi* é responsável pela doença na América do Norte. A *B. burgdorferi* é transmitida aos seres humanos pela picada de um pequeno carrapato *Ixodes*. A doença manifesta-se, inicialmente, em forma de lesão cutânea característica, o **eritema migratório**, juntamente com sintomas do tipo gripal, enquanto as manifestações tardias frequentemente consistem em artralgia e artrite.

Morfologia e identificação

A. Microrganismos típicos

B. burgdorferi é um microrganismo espiralado de 20 a 30 μm de comprimento e 0,2 a 0,3 μm de largura. A distância entre as espirais varia de 2 a 4 μm . Os microrganismos apresentam número variável (7 a 11) de endoflagelos e são altamente móveis. *B. burgdorferi* cora-se facilmente com corantes ácidos e de anilina, bem como por técnicas de impregnação pela prata.

B. Cultura e características de crescimento

B. burgdorferi cresce mais facilmente em meio de cultura líquido complexo, o meio de Barbour-Stoenner-Kelly (BSK II). Rifampicina, fosfomicina (fosfonomicina) e anfotericina B podem ser adicionadas ao BSK II para reduzir a taxa de contaminação da cultura por outras bactérias e fungos. *B. burgdorferi* é mais facilmente isolada das lesões cutâneas do eritema migratório; o isolamento do microrganismo de outros locais é difícil. O microrganismo também pode ser cultivado a partir de carrapatos. Como a cultura do microrganismo constitui um procedimento complexo e especializado com baixo índice diagnóstico, raramente é utilizada.

Estrutura e variação antigênica

B. burgdorferi tem um aspecto morfológico semelhante ao de outros espiroquetas. O genoma de *B. burgdorferi* foi sequenciado, permitindo a previsão de muitas estruturas antigênicas. Existe um cromossomo linear incomum de cerca de 950 kb juntamente com vários plasmídeos circulares e lineares. Observa-se um grande número de sequências de lipoproteínas, inclusive as proteínas de superfície externa OspA a F. Acredita-se que a expressão diferencial dessas proteínas possa ajudar *B. burgdorferi* a sobreviver em hospedeiros muito diferentes, como carrapatos e mamíferos. A OspA e a OspB, juntamente com a lipoproteína 6,6 são expressas primariamente no carrapato. Outras proteínas da superfície externa são reguladas durante a alimentação do carrapato, quando os microrganismos migram do intestino médio do carrapato para as glândulas salivares, o que pode explicar por que o carrapato deve alimentar-se durante 24 a 48 horas antes que ocorra a transmissão de *B. burgdorferi*.

Patogênese e manifestações clínicas

A transmissão de *B. burgdorferi* a seres humanos ocorre por meio da inoculação do microrganismo na saliva do carrapato ou por regurgitação do conteúdo intestinal do carrapato. O microrganismo adere aos proteoglicanos nas células do

hospedeiro, processo mediado por um receptor de glicosaminoglicano da borrélia. Após inoculação pelo carrapato, os microrganismos migram a partir do local de picada, originando a lesão cutânea característica. A disseminação ocorre pelos vasos linfáticos ou pelo sangue para outras áreas da pele, locais musculoesqueléticos e muitos outros órgãos.

A doença de Lyme, a exemplo de outras doenças causadas por espiroquetas, ocorre em fases, com manifestações iniciais e tardias. Uma lesão cutânea única que surge três dias a quatro semanas após a picada de carrapato frequentemente marca o Estágio 1. A lesão, conhecida como eritema migratório, surge em forma de área avermelhada e plana próxima à picada do carrapato, expandindo-se lentamente, com palidez central. Juntamente com a lesão cutânea, verifica-se com frequência uma doença de tipo gripal, com febre, calafrios, mialgia e cefaleia. O Estágio 2 ocorre semanas a meses depois, e inclui artralgia e artrite, manifestações neurológicas com meningite, paralisia de nervos faciais e radiculopatia dolorosa, além de doença cardíaca, com defeitos de condução e miopericardite. O Estágio 3 começa meses a anos mais tarde, com comprometimento crônico da pele, do sistema nervoso e das articulações. Espiroquetas têm sido isolados de todos esses locais, sendo provável que algumas das manifestações tardias sejam causadas pela deposição de complexos de antígeno-anticorpo.

Exames diagnósticos laboratoriais

Em alguns pacientes sintomáticos, o diagnóstico de doença de Lyme no estágio inicial pode ser estabelecido clinicamente pela observação da lesão cutânea. Quando essa lesão cutânea não está presente e em estágios mais tardios da doença, que devem ser diferenciados de muitas outras doenças, é necessário efetuar exames diagnósticos laboratoriais. Todavia, não existe um teste ao mesmo tempo sensível e específico.

A. Amostras

Devem ser obtidas amostras de sangue para testes sorológicos. Amostras do LCS ou do líquido articular podem ser obtidas, porém a cultura geralmente não é recomendada. Essas e outras amostras podem ser utilizadas para a detecção do DNA de *B. burgdorferi* pela reação em cadeia da polimerase (PCR).

B. Esfregaços

B. burgdorferi foi identificada em cortes de amostras de biópsia, mas o exame de esfregaços corados não é um método sensível para se estabelecer o diagnóstico de doença de Lyme. Em cortes histológicos, *B. burgdorferi*, às vezes, pode ser identificada por meio do uso de anticorpos e métodos imuno-histoquímicos.

C. Cultura

Em geral, a cultura não é efetuada, visto que carece de sensibilidade e requer 6 a 8 semanas.

D. Métodos de amplificação do ácido nucleico

O teste de PCR tem sido utilizado para detectar o DNA de *B. burgdorferi* em muitos fluidos orgânicos. Trata-se de um teste rápido, sensível e específico, mas que não diferencia o DNA da

B. burgdorferi viva na doença ativa do DNA da *B. burgdorferi* morta na doença tratada ou inativa. Apresenta sensibilidade de cerca de 85% quando aplicado a amostras de líquido sinovial, porém a sensibilidade é muito menor quando são usadas amostras do LCS de pacientes com neuroborreliose.

E. Sorologia

A sorologia tem sido a base para o diagnóstico de doença de Lyme. Entretanto, 3 a 5% dos indivíduos normais e pacientes com outras doenças (p. ex., artrite reumatoide, muitas doenças infecciosas) podem ser soropositivos por ensaios iniciais de Elisa ou imunofluorescência indireta (IFI). Quando a prevalência da doença de Lyme é baixa, como ocorre em muitas áreas geográficas, existe probabilidade muito maior de que uma reação positiva seja de um paciente que não tenha a doença de Lyme do que de um paciente portador da doença (valor preditivo positivo < 10%). Por conseguinte, a sorologia para a doença de Lyme só deve ser efetuada na presença de achados clínicos altamente sugestivos. Um diagnóstico de doença de Lyme não deve basear-se em um resultado positivo dos testes de Elisa ou IFI na ausência de achados clínicos sugestivos. Uma abordagem em dois estágios para o sorodiagnóstico é fortemente recomendada: Elisa ou IFI seguidos de um teste de *immunoblotting* para a reatividade com antígenos específicos de *B. burgdorferi*.

Os testes mais amplamente utilizados são o teste do anticorpo fluorescente indireto (IFA) e ensaios imunoenzimáticos (Elisa). Foram comercializadas muitas variações desses ensaios, que utilizam diferentes preparações de antígenos, técnicas e parâmetros de avaliação final. Os resultados dos testes iniciais são geralmente relatados como positivo, negativo ou indeterminado.

O ensaio *immunoblot* é geralmente efetuada para confirmar os resultados obtidos no Elisa. Os antígenos recombinantes ou antígenos de lisados celulares de *B. burgdorferi* são separados por eletroforese, transferidos para uma membrana de nitrocelulose e expostos ao soro do paciente. A interpretação do *immunoblot* baseia-se no número e no tamanho molecular dos anticorpos que reagem com as proteínas de *B. burgdorferi*. Os *blots* podem ser analisados para IgG ou IgM. Os padrões de bandas antígeno-anticorpo dos *immunoblots* devem ser interpretados com conhecimento de resultados conhecidos de pacientes em vários estágios de borreliose. Deve-se ter cautela para evitar falsas interpretações de *blots* minimamente reativos.

Imunidade

A resposta imunológica à *B. burgdorferi* desenvolve-se lentamente. Os soros obtidos no Estágio 1 são positivos em 20 a 50% dos pacientes. Os soros obtidos no Estágio 2 são positivos em 70 a 90% dos casos, com IgG e IgM reativas; IgG predomina em infecções de longa duração. No Estágio 3 aproximadamente 100% dos pacientes apresentam IgG reativa contra a *B. burgdorferi*. A resposta humoral pode expandir-se no decorrer de meses a anos, e parece ser dirigida sequencialmente contra uma série de proteínas de *B. burgdorferi*. O tratamento antimicrobiano precoce diminui a resposta humoral. Os títulos de anticorpos declinam lentamente após o tratamento, porém a maioria dos pacientes com manifestação tardia da doença de Lyme permanece soropositiva durante anos.

Tratamento

A infecção em sua fase inicial, local ou disseminada, deve ser tratada com doxiciclina ou amoxicilina — ou um outro fármaco — durante 14 a 21 dias. O tratamento alivia os sintomas iniciais e promove a resolução das lesões cutâneas. A doxiciclina pode ser mais eficaz que a amoxicilina na prevenção das manifestações tardias. A artrite estabelecida pode responder a terapia prolongada com doxiciclina, amoxicilina ou cefuroxima axetil por via oral, penicilina G, ou ceftriaxona intravenosa. Nos casos refratários, a ceftriaxona é eficaz. Quase 50% dos pacientes tratados com doxiciclina, ou amoxicilina no início da evolução da doença de Lyme, desenvolvem complicações tardias mínimas (p. ex., cefaleia e dores articulares).

Epidemiologia, prevenção e controle

B. burgdorferi é transmitida por um pequeno carrapato do gênero *Ixodes*. O vetor é o *Ixodes scapularis* (também denominado *Ixodes dammini*) no Nordeste e Centro-Oeste dos EUA, bem como *Ixodes pacificus* na Costa Oeste. Na Europa, o vetor é o *Ixodes ricinus*, e outros carrapatos vetores parecem importantes em outras regiões do mundo. Os carrapatos *Ixodes* são bastante pequenos e, com frequência, não são observados quando estão sugando a pele. As larvas têm cerca de 1 mm; as ninfas, cerca de metade de uma semente de papoula ou de pimenta quebrada (cerca de 2 mm); e uma fêmea adulta, 3 a 4 mm. Todos os estágios têm menos de metade, ou mais, do que os estágios do carrapato de cães, *Dermacentor variabilis*. Dependendo do estágio de desenvolvimento e da espécie de *Ixodes*, o carrapato precisa alimentar-se 2 a 4 dias para obter um repasto de sangue. A transmissão de *B. burgdorferi* ocorre no final do processo de alimentação. Camundongos e cervos constituem os principais reservatórios animais de *B. burgdorferi*, porém outros roedores e aves também podem ser infectados. Na parte leste dos EUA, 10 a 50% dos carrapatos são infectados, enquanto nos Estados do Oeste a taxa de infecção nos carrapatos é bem menor, de cerca de 2%.

A maioria das exposições ocorre de maio a julho, quando o estágio de ninfa dos carrapatos é mais ativo. Entretanto, o estágio larvar (agosto e setembro) e o estágio adulto (primavera e outono) também se alimentam em seres humanos, podendo transmitir *B. burgdorferi*.

A prevenção consiste em evitar exposição aos carrapatos. Recomenda-se usar camisas de mangas compridas e colocar as pernas das calças por dentro das meias. O exame cuidadoso da pele, após a pessoa ter permanecido em ambientes externos, possibilita a detecção dos carrapatos e sua remoção antes de transmitirem *B. burgdorferi*.

O controle ambiental dos carrapatos por meio da aplicação de inseticidas teve sucesso moderado na redução do número de carrapatos durante uma estação.

Verificação de conceitos

- Uma variedade de espécies de *Borrelia* causa doença em geral após mordida de um artrópode ou outro vetor.
- *B. recurrentis* é transmitida pelo piolho do corpo humano e causa a febre recorrente epidêmica. Já na forma endêmica, o microrganismo é transmitido por carrapatos do gênero

Ornithodoros. *B. hermsii* é a causa da febre recorrente observada no oeste dos EUA.

- A febre recorrente é caracterizada pelo aumento abrupto da temperatura que persiste por 3 a 5 dias. Depois de um breve intervalo afebril, um segundo ciclo febril ocorre em geral relacionado com a variação antigênica que ocorre no microrganismo.
- O diagnóstico da febre recorrente é melhor realizado pelo esfregaço de sangue periférico corado por Wright ou Giemsa.
- O tratamento é realizado com penicilina, tetraciclina e eritromicina.
- *B. burgdorferi* é responsável pela doença de Lyme que é com frequência transmitida pela picada de um pequeno carrapato *Ixodes* em seu estágio ninfal.
- A doença de Lyme ocorre em estágios. O Estágio I é caracterizado pelo eritema migratório no sítio da picada do carrapato. Os Estágios II e III são caracterizados por artrite e manifestações cardíacas e neurológicas.
- O diagnóstico baseia-se em duas abordagens sorológicas que começam com um teste de Elisa ou IFA, seguido por um ensaio *immunoblot* para reatividade a antígenos específicos, caso o resultado do teste de rastreamento for positivo.
- O tratamento depende do estágio da infecção. Penicilina, doxiciclina, cefuroxima e ceftriaxona parenteral têm sido utilizados com sucesso.

LEPTOSPIRA E LEPTOSPIROSE

A leptospirose é uma zoonose de distribuição mundial, causada por espiroquetas do gênero *Leptospira*. O sistema tradicional de classificação baseia-se na especificidade bioquímica e sorológica para diferenciar a espécie patogênica *Leptospira interrogans* da espécie não patogênica de vida livre *Leptospira biflexa*. As espécies são, ainda, subclassificadas em mais de 200 sorotipos de *L. interrogans* e em mais de 60 sorotipos de *L. biflexa*. Os sorotipos são organizados em sorogrupos de *L. interrogans* e sorogrupos de *L. biflexa*. Os sorogrupos baseiam-se na antigenicidade compartilhada, sendo principalmente para uso laboratorial.

Um segundo sistema de classificação baseia-se em estudos de hibridização do DNA-DNA, que demonstraram a existência de alto grau de heterogeneidade entre as duas espécies da classificação tradicional. A análise filogenética baseada no sequenciamento do RNAr 16S indica que existem três grupos de leptospiros, patógenos, saprófitas e alguns com patogenicidade incerta. As 19 espécies (13 patogênicas e 6 saprófitas) não correspondem às espécies da classificação sorológica tradicional. De fato, alguns sorotipos na classificação tradicional ocorrem em várias espécies na classificação molecular, e a classificação sorológica não pode ser utilizada para prever a classificação molecular. De acordo com a nova classificação, as espécies são subdivididas em 24 sorogrupos e 250 serovares, baseada em diferenças químicas do lipopolissacarídeo.

A discussão a seguir utiliza a classificação sorológica tradicional.

Morfologia e identificação

A. Microrganismos típicos

As leptospiros são espiroquetas flexíveis, delgados e altamente espiralados, de 5 a 15 μm de comprimento, com espirais muito

finas de 0,1 a 0,2 μm de largura. Uma extremidade do microrganismo mostra-se frequentemente encurvada, formando um gancho. As leptospiros exibem motilidade ativa, mais bem vista à microscopia de campo escuro. As micrografias eletrônicas revelam a existência de um filamento axial delgado e membrana delicada. O espiroqueta é tão delicado que, à microscopia de campo escuro, aparece apenas como uma cadeia de minúsculos cocos. Não se cora facilmente, mas pode ser impregnado pela prata.

B. Cultura

As leptospiros crescem melhor em condições aeróbias à temperatura de 28 a 30°C, em meios de cultura semissólidos (p. ex., Ellinghausen-MacCullough-Johnson-Harris), em tubos de 10 mL contendo 0,1% de ágar e 5-fluoruracila. Ver também Exames diagnósticos laboratoriais (adiante). Depois de uma a duas semanas, as leptospiros produzem uma zona difusa de crescimento próximo à parte superior do tubo e, mais tarde, um anel de crescimento no tubo, correspondendo ao nível de pressão de oxigênio ideal para os microrganismos.

C. Exigências de crescimento

As leptospiros obtêm energia a partir da oxidação dos ácidos graxos de cadeia longa e não podem utilizar os aminoácidos ou carboidratos como principais fontes de energia. Os sais de amônio são a principal fonte de nitrogênio. As leptospiros podem sobreviver durante semanas em água, particularmente em pH alcalino.

Estrutura antigênica

As principais cepas (“sorotipos”) de *L. interrogans* isoladas de seres humanos ou de animais em diferentes partes do mundo (Quadro 24.1) são sorologicamente relacionadas e exibem reatividade cruzada em testes sorológicos, o que indica considerável superposição na estrutura antigênica, sendo necessária a realização de testes quantitativos e estudos de absorção de anticorpos para se estabelecer um diagnóstico sorológico específico. O

envelope externo contém grandes quantidades de lipopolissacarídeo, cuja estrutura antigênica varia de uma cepa para outra. Tal variação forma a base da classificação sorológica das espécies de *Leptospira*, além de determinar a especificidade da resposta imunológica dos seres humanos às leptospiros.

Patogênese e manifestações clínicas

Em geral, a infecção humana decorre das leptospiros, frequentes em fontes de água, entrando no corpo através de cortes ou ferimentos na pele, e pelas mucosas (boca, nariz, conjuntivas). A ingestão é considerada uma via de menor importância. Depois de um período de incubação de uma a duas semanas, ocorre início febril variável, durante o qual os espiroquetas encontram-se na corrente sanguínea. Em seguida, instalam-se nos órgãos parenquimatosos (sobretudo no fígado e nos rins), em que acarretam hemorragia e necrose tecidual, com a consequente disfunção desses órgãos (icterícia, hemorragia, retenção de nitrogênio). A doença é com frequência bifásica. Após melhora inicial, desenvolve-se a segunda fase, quando os títulos de anticorpos IgM aumentam. Manifesta-se em forma de “meningite asséptica”, com cefaleia intensa, rigidez da nuca e pleocitose do LCS. Além disso, pode ocorrer recidiva da nefrite e da hepatite, e podem surgir lesões cutâneas, musculares e oculares. O grau e a distribuição do acometimento dos órgãos variam nas doenças causadas por diferentes leptospiros em várias partes do mundo (Quadro 24.1). Muitas infecções são leves ou subclínicas. A hepatite é frequente em pacientes com leptospirose.

Em muitas espécies animais, o comprometimento renal é crônico, resultando em eliminação de um grande número de leptospiros na urina, provavelmente a principal fonte de contaminação ambiental, resultando em infecção humana. A urina humana também pode conter espiroquetas nas segunda e terceira semanas de doença.

Anticorpos aglutinantes, fixadores do complemento e líticos desenvolvem-se durante a infecção. O soro dos pacientes convalescentes protege os animais de laboratório contra uma

QUADRO 24.1 Principais doenças por leptospiros

<i>Leptospira interrogans</i> Sorogrupos	Fonte de infecção	Doença em humanos	Manifestações clínicas	Distribuição
<i>Autumnalis</i>	?	Febre pré-tibial ou febre de Ft. Bragg	Febre, erupção sobre a tibia	EUA, Japão
<i>Ballum</i>	Camundongos	–	Febre, erupção, icterícia	EUA, Europa, Israel
<i>Bovis</i>	Bovinos, ratazanas	–	Febre, prostração	EUA, Israel, Austrália
<i>Canicola</i>	Urina de cães	Icterícia infecciosa	Doença tipo <i>influenza</i> , meningite asséptica	Mundial
<i>Grippotyphosa</i>	Roedores, água	Febre de Marsh	Febre, prostração, meningite asséptica	Europa, EUA, África
<i>Hebdomadis</i>	Ratos, camundongos	Febre de 7 dias	Febre, icterícia	Japão, Europa
<i>Icterohaemorrhagiae</i>	Urina de rato, água	Doença de Weil	Icterícia, hemorragias, meningite asséptica	Mundial
<i>Mitis</i>	Suínos	Doença de Swineherd	Meningite asséptica	Austrália
<i>Pomona</i>	Suínos, bovinos	Doença de Swineherd	Febre, prostração, meningite asséptica	Europa, EUA, Austrália

infecção que, de outro modo, seria fatal. A imunidade resultante da infecção em seres humanos e animais parece específica do sorotipo.

Exames diagnósticos laboratoriais

A. Amostras

As amostras consistem em sangue coletado por técnica asséptica em tubo contendo heparina, LCS ou amostras de tecido para exame microscópico e cultura. A urina deve ser obtida com muito cuidado para evitar que se contamine. O soro é coletado para testes de aglutinação.

B. Exame microscópico

O exame em campo escuro ou esfregaços espessos, corados pela técnica de Giemsa, ocasionalmente demonstram a presença de leptospiras no sangue recém-coletado de pacientes com infecção no estágio inicial. O exame em campo escuro da urina centrifugada também pode ser positivo. Anticorpos conjugados com fluoresceína ou outras técnicas imuno-histoquímicas também podem ser usados.

C. Cultura

Sangue fresco total ou urina pode ser cultivado em meio semissólido. Devido à presença de substâncias inibidoras no sangue, apenas uma ou duas gotas devem ser colocadas em cada um de cinco tubos contendo 5 ou 10 mL do meio de cultura. Até 0,5 mL de LCS podem ser usados. Uma gota de urina não diluída pode ser utilizada, seguida de uma gota de urina diluída seriadamente até 10 vezes, para um total de quatro tubos. Uma amostra de tecido de cerca de 5 mm de diâmetro deve ser esmagada e utilizada como inóculo. O crescimento é lento, e as culturas devem ser mantidas durante pelo menos oito semanas.

D. Sorologia

O diagnóstico de leptospirose na maioria dos casos é confirmado por meio da sorologia. Anticorpos aglutinantes aparecem inicialmente 5 a 7 dias após a infecção e desenvolvem-se lentamente, alcançando um pico em 5 a 8 semanas. Títulos muito elevados podem ser atingidos (> 1:10.000). Os testes-padrão dos laboratórios de referência para detecção dos anticorpos de leptospiras usam aglutinação microscópica de microrganismos vivos, o que pode ser perigoso. O teste é altamente sensível, mas difícil de padronizar; o ponto final é 50% de aglutinação, que é difícil de ser determinada. A aglutinação de suspensões vivas é mais específica para o sorotipo do que as leptospiras infectantes. Os testes de aglutinação geralmente são realizados somente por laboratórios de referência. Os soros pareados devem mostrar uma mudança significativa no título de um único soro, com alto título de aglutininas mais um quadro clínico compatível com o diagnóstico. Devido à dificuldade de realização de um teste de aglutinação definitivo, uma variedade de outros testes tem sido desenvolvidos para uso como rastreamento primário.

Imunidade

A infecção é acompanhada de imunidade específica do sorotipo, mas pode ocorrer reinfecção por diferentes sorotipos.

Tratamento

O tratamento da leptospirose leve consiste em doxiciclina, ampicilina ou amoxicilina VO. A doença moderada ou grave deve ser tratada com penicilina ou ampicilina intravenosa.

Epidemiologia, prevenção e controle

As leptospiroses são infecções que acometem essencialmente os animais; a infecção humana é apenas acidental, após contato com água ou outros materiais contaminados com excrementos de animais hospedeiros. As principais fontes de infecção humana incluem ratos, camundongos, roedores silvestres, cães, porcos e gado bovino, animais que eliminam leptospiras na urina durante a doença ativa, bem como no estado de portador assintomático. As leptospiras permanecem viáveis na água estagnada por várias semanas, de modo que beber, nadar, tomar banho ou ingerir alimentos contaminados pode resultar em infecção humana. Os indivíduos com maior probabilidade de entrar em contato com água contaminada por ratos (p. ex., mineiros, pessoas que trabalham na limpeza de esgotos, fazendeiros e pescadores) correm maior risco de infecção. As crianças contraem a infecção a partir de cães com mais frequência do que os adultos. O controle consiste em evitar exposição a água potencialmente contaminada e reduzir a contaminação mediante o controle dos roedores. A profilaxia eficaz consiste em doxiciclina, 200 mg VO, 1 vez/semana, durante a exposição maciça. Os cães podem receber vacina contra cinomose-hepatite-leptospirose.

OUTRAS DOENÇAS CAUSADAS POR ESPIROQUETAS

SPIRILLUM MINOR (SPIRILLUM MORSUS MURIS)

O *Spirillum minor* provoca uma forma de febre de mordedura do rato (*sodoku*). Esse microrganismo espiralado, muito pequeno (3 a 5 μm) e rígido, é transportado pelos ratos em todas as partes do mundo. O microrganismo é inoculado nos seres humanos pela mordida do rato, resultando em lesão local, aumento de tamanho dos linfonodos regionais, exantemas cutâneos e febre do tipo recorrente. A frequência da doença depende do grau de contato entre os seres humanos e os ratos. O espirilo pode ser isolado por inoculação em cobaias ou camundongos com material obtido de linfonodos aumentados ou do sangue, mas não foi cultivado em meios bacteriológicos. Nos EUA e na Europa, essa doença tem sido reconhecida com pouca frequência. Vários outros microrganismos aeróbios espiralados, gram-negativos e móveis podem causar febre recidivante.

ESPIROQUETAS NORMALMENTE PRESENTES NA BOCA E NAS MUCOSAS

Vários espiroquetas são normalmente encontrados na boca. Alguns receberam denominações (p. ex., *Borrelia buccalis*), porém nem sua morfologia nem sua atividade fisiológica permitem efetuar uma classificação definitiva. Na genitália normal, um

espiroqueta denominado *Borrelia refringens* é ocasionalmente encontrado, podendo ser confundido com o *T. pallidum*. Esses microrganismos são saprófitas inócuos em condições normais. A maioria consiste em anaeróbios estritos, que podem crescer em tubos com caldo de infusão de carne selados com parafina, aos quais se adiciona tecido.

QUESTÕES DE REVISÃO

- Uma mulher de 28 anos de idade, com 10 semanas de gravidez, procurou uma clínica de obstetrícia pré-natal. Ela tem uma história clínica de tratamento para sífilis sete anos atrás. Os resultados dos exames sorológicos para sífilis foram os seguintes: teste não treponêmico, RPR, não reativo; teste treponêmico (TP-PA), reativo. Qual das seguintes afirmativas é mais correta?
 - O tratamento prévio da mãe foi ineficaz
 - A criança corre sério risco de apresentar sífilis congênita
 - A mãe necessita ser tratada novamente contra sífilis
 - A mãe precisa ser submetida a uma punção lombar e realizar um VDRL em seu LCS para neurosífilis
- Qual das seguintes situações clínicas pode causar um falso resultado positivo em testes não treponêmicos (VDRL ou RPR) para sífilis?
 - Lúpus eritematoso
 - Sarampo
 - Hanseníase
 - Gravidez
 - Transfusão de sangue
 - Malária
 - Todas as alternativas anteriores
- Uma jovem de 20 anos de idade apresenta uma úlcera de 2 cm nos grandes lábios. A lesão tem as bordas elevadas e é relativamente dolorosa. Qual seria o provável patógeno associado ao quadro clínico em questão?
 - Infecção por adenovírus
 - Infecção por papilomavírus
 - Infecção por *Neisseria gonorrhoeae*
 - Cervicite por *Chlamydia trachomatis*
 - Infecção por *Treponema pallidum*
- Uma mulher de 42 anos de idade foi acampar nas montanhas de Serra Nevada (EUA), onde dormiu duas noites em uma cabana abandonada. Após a segunda noite, observou uma marca de picada no ombro. Seis dias depois, desenvolveu febre de 38°C, que durou quatro dias. Dez dias mais tarde, teve outro episódio similar de febre. O exame em lâmina com esfregaço de sangue corado pelo método de Wright mostrou espiroquetas, sugestivos de *Borrelia*. Qual das seguintes afirmativas sobre a febre recorrente e *Borrelia hermsii* está correta?
 - Cada recorrência está associada a uma variante antígenicamente distinta
 - Deverão ser feitos esfregaços de sangue quando a paciente estiver afebril
 - As borrelíias não passam pela via transovariana de uma geração a outra no carrapato
 - O principal reservatório da *Borrelia* é o veado
 - A *Borrelia hermsii* é resistente a penicilina e tetraciclina
- Um jovem de 23 anos de idade apresenta-se com erupções maculopapulares no tronco, mas não na boca nem nas palmas das mãos e plantas dos pés. Devido ao fato de, no diagnóstico diferencial, ter sido considerada, sífilis secundária, foi feito um teste RPR, cujo resultado foi positivo, com um título em uma diluição de 1:2. Entretanto, o teste de TP-PA deu resultado negativo. Qual das seguintes doenças pode ser descartada?
 - Sífilis secundária
 - Sarampo atípico
 - Infecção por vírus Coxsackie
 - Infecção aguda por HIV-1
 - Reação alérgica a fármacos
- Qual dos seguintes animais é fonte de *Leptospira interrogans*?
 - Gado bovino
 - Cães
 - Camundongos
 - Ratos
 - Porcos
 - Todas as opções anteriores
- Um médico residente de 27 anos de idade foi admitido em um hospital por causa de febre súbita de 39°C e cefaleia. Duas semanas antes ele passara férias em uma região rural do Oregon, em que nadou com frequência em um canal de irrigação que fazia limite com o campo onde as vacas pastavam. Logo após sua admissão foram feitos testes de sangue, que indicaram anormalidades na função renal, bilirrubinas e outros testes hepáticos elevados. As culturas de sangue, urina e LCS foram negativas. Suspeita-se de leptospirose. Qual das seguintes alternativas mais provavelmente confirma este diagnóstico?
 - Análise em soro de fase aguda e convalescente por meio do teste RPR
 - Cultura de urina em células de fibroblastos diploides humanos
 - Teste no soro por microscopia de campo escuro para a presença de leptospiros
 - Testes em soro das fases aguda e convalescente para anticorpos antileptospira
 - Hemocultura ou LCS em ágar-chocolate
- Um homem de 47 anos de idade apresenta-se com artrite de progressão lenta nos joelhos. Ele gosta de caminhar nas áreas costeiras do Norte da Califórnia, em que a prevalência de *Borrelia burgdorferi* em carrapatos *Ixodes* é estimada em 1 a 3% (considerada baixa). O paciente está preocupado com doença de Lyme. Ele não observou a presença de carrapato em seu corpo e não reparou em nenhuma erupção vermelha em expansão. O Elisa para borreliose de Lyme deu positivo. O que deve ser feito agora?
 - Uma amostra do líquido sinovial do joelho deve ser examinada para a presença de *Borrelia burgdorferi*
 - O paciente deve receber antibiótico para tratar doença de Lyme
 - Deve ser feito um PCR do plasma do paciente para detectar *Borrelia burgdorferi*
 - Uma amostra de soro do paciente deve ser submetida ao teste de *immunoblot* para detecção de anticorpos reativos com antígenos de *Borrelia burgdorferi*
- Qual dos seguintes microrganismos infecta principalmente o fígado e os rins?
 - Streptobacillus moniliformis*
 - Leptospira interrogans*
 - Staphylococcus aureus*
 - Escherichia coli*
 - Enterococcus faecalis*
 - Treponema pallidum*

10. Qual dos espiroquetas é transmitido primariamente por contato sexual?
- (A) *Treponema pallidum* subespécie *pallidum*
 (B) *Treponema pallidum* subespécies *endemicum*
 (C) *Borrelia recurrentis*
 (D) *Borrelia burgdorferi*
 (E) Todas as alternativas anteriores
11. O teste de sequência reversa para o diagnóstico da sífilis
- (A) Envolve o uso de Elisa ou quimioluminescente como teste de rastreamento, seguido pelo uso de um teste não treponêmico para confirmação
 (B) Pode estar associado a um percentual elevado de resultados falso-positivos
 (C) Pode ser mais sensível que o algoritmo tradicional, usado na detecção da fase inicial da doença
 (D) Está substituindo o algoritmo tradicional em muitos laboratórios
 (E) Todas as alternativas anteriores são verdadeiras
12. Todas as afirmações a seguir sobre a febre recorrente são verdadeiras, *exceto*:
- (A) A doença epidêmica apresenta um maior percentual de mortalidade do que a doença endêmica
 (B) A doença endêmica que ocorre nos EUA é causada por *B. recurrentis*
 (C) Os episódios de febre recorrente são causados por variação antigênica entre os espiroquetas
 (D) A penicilina é o fármaco de escolha terapêutica
 (E) Esmagar o carrapato pode transmitir o espiroqueta e desencadear a infecção
13. Os testes de amplificação do ácido nucleico são métodos sensíveis para o diagnóstico da neuroborreliose
- (A) Verdadeiro
 (B) Falso
14. A microscopia de campo escuro pode ser usada para a detecção do espiroqueta na seguinte condição:
- (A) Detecção do espiroqueta do líquido cefalorraquidiano (LCS) em pacientes com sífilis terciária
 (B) Detecção do espiroqueta em lesões suspeitas na cavidade oral em pacientes com sífilis secundária
 (C) Detecção do espiroqueta na urina de paciente com suspeita de leptospirose
 (D) Detecção do espiroqueta no sangue periférico de pacientes com RPR positivos, mas sem sintomatologia clínica
15. *Streptobacillus moniliformis* é a causa da febre da mordida do rato. Que outro microrganismo também pode estar envolvido nessa doença?
- (A) *Treponema pallidum* subespécie *pertenue*
 (B) *Leptospira interrogans*
 (C) *Borrelia recurrentis*
 (D) *Spirillum minor*
 (E) *Brachyspira aalborgi*

Respostas

- | | | | |
|------|------|-------|-------|
| 1. A | 5. A | 9. B | 13. B |
| 2. G | 6. F | 10. A | 14. C |
| 3. E | 7. D | 11. E | 15. D |
| 4. A | 8. D | 12. B | |

REFERÊNCIAS

- Centers for Disease Control and Prevention: Discordant results from reverse sequence syphilis screening—Five laboratories, United States, 2006–2010. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2011;60:133–137.
- Hook EW III: Endemic treponematoses. In Mandell GL, Bennett JE, Dolin R et al. (editors). *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*, 7th ed. Elsevier, 2010.
- Levett PN: *Leptospira*. In Versalovic J, Carroll KC, Funke G et al. (editors). *Manual of Clinical Microbiology*, 10th ed. ASM Press, 2011.
- Levett PN, Hakke DA: *Leptospira* species (Leptospirosis). In Mandell GL, Bennett JE, Dolin R et al. (editors). *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*, 7th ed. Elsevier, 2010.
- Radolf JD, Pillay A, Cox DL: *Treponema* and *Brachyspira*, human host-associated spirochetes. In Versalovic J, Carroll KC, Funke G et al. (editors). *Manual of Clinical Microbiology*, 10th ed. ASM Press, 2011.
- Rhee KY, Johnson WD Jr: *Borrelia* species (relapsing fever). In Mandell GL, Bennett JE, Dolin R et al. (editors). *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*, 7th ed. Elsevier, 2010.
- Schriefer ME: *Borrelia*. In Versalovic J, Carroll KC, Funke G et al. (editors). *Manual of Clinical Microbiology*, 10th ed. ASM Press, 2011.
- Seña AC, White BL, Sparling PF: Novel *Treponema pallidum* serologic tests: A paradigm shift in syphilis screening for the 21st century. *Clin Infect Dis* 2010;51:700–708.
- Steere AC: *Borrelia burgdorferi* (Lyme disease, Lyme borreliosis). In Mandell GL, Bennett JE, Dolin R et al. (editors). *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*, 7th ed. Elsevier, 2010.
- Tramont EC: *Treponema pallidum* (syphilis). In Mandell GL, Bennett JE, Dolin R et al. (editors). *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*, 7th ed. Elsevier, 2010.
- Vijayachari P, Sugunan AP, Shriram AN et al.: Leptospirosis: An emerging global public health problem. *J Biosci* 2008;33: 557–569.

Micoplasmas e bactérias com paredes celulares defeituosas

MICOPLASMAS

Existem mais de 200 espécies de microrganismos incluídos na classe Mollicutes (bactérias que carecem de paredes celulares). Acredita-se que pelo menos 15 dessas espécies sejam de origem humana, enquanto outras foram isoladas de animais e plantas. Nos seres humanos, existem quatro espécies de importância primária. *Mycoplasma pneumoniae* provoca pneumonia, sendo associado a infecções articulares e outras infecções. *Mycoplasma hominis* às vezes causa febre puerperal, tendo sido detectado com outras bactérias em infecções das tubas uterinas. *Ureaplasma urealyticum* constitui uma causa da uretrite não gonocócica em homens, e está associado a doença pulmonar em prematuros de baixo peso. *Mycoplasma genitalium* é estreitamente relacionado com *M. pneumoniae*, sendo associado a infecções uretrais e outras infecções. Outros membros do gênero *Mycoplasma* são patógenos humanos e de diferentes animais, acometendo as vias respiratórias, o trato urogenital e as articulações.

O menor genoma dos micoplasmas, *M. genitalium*, corresponde a pouco mais de duas vezes o tamanho do genoma de alguns vírus grandes. Os micoplasmas são os menores microrganismos que podem ser de vida livre na natureza e capazes de se autorreplicar em meios de cultura em laboratório. Apresentam as seguintes características: (1) os menores micoplasmas têm 125 a 250 nm de tamanho; (2) são altamente pleomórficos, visto que carecem de parede celular rígida, sendo delimitados por uma “unidade de membrana” de três camadas que contém um esterol (os micoplasmas necessitam da adição de soro ou colesterol ao meio para produzirem os esteróis necessários ao seu crescimento); (3) os micoplasmas são totalmente resistentes à penicilina, pois carecem das estruturas da parede celular sobre as quais a penicilina atua; entretanto, são inibidos pela tetraciclina ou pela eritromicina; (4) os micoplasmas podem multiplicar-se em meios de cultura acelulares; em ágar, o centro da colônia fica em geral mergulhado abaixo da superfície; (5) o crescimento dos micoplasmas é inibido por anticorpos específicos; e (6) os micoplasmas exibem afinidade pelas membranas celulares dos mamíferos.

Morfologia e identificação

A. Microrganismos típicos

Os micoplasmas não podem ser estudados pelos métodos bacteriológicos habituais devido ao pequeno tamanho de suas

colônias bem como à plasticidade e à delicadeza de suas células. O crescimento em meios de cultura líquidos dá origem a inúmeras formas. O cultivo em meios de cultura sólidos consiste principalmente em massas protoplasmáticas de formas indefinidas, facilmente deformadas. Essas estruturas variam acentuadamente de tamanho, de 50 a 300 nm de diâmetro. A morfologia aparece em formas diferentes, de acordo com o método de observação empregado (microscopia em campo escuro, imunofluorescência, esfregaços feitos a partir de cultura líquida ou sólida corados por Giemsa e fixação em ágar).

B. Cultura

As culturas de micoplasmas que causam doenças em seres humanos requerem meios com soro, substratos metabólicos, tais como glicose ou ureia, e fatores de crescimento, como extrato de levedura. Não existe um meio que seja ótimo para todas as espécies, devido às diferentes propriedades e necessidades de substratos. Após incubação a 37°C durante um período de 48 a 96 horas, pode não haver turvação no caldo de cultura; entretanto, a coloração do sedimento centrifugado pelo método de Giemsa revela as estruturas pleomórficas características, e o repique em meios de cultura sólidos apropriados produz colônias minúsculas.

Depois de 2 a 6 dias em meio bifásico (caldo sobre ágar) e em ágar incubado em placa de Petri selada para evitar evaporação, podem-se detectar, com o uso de uma lupa, colônias isoladas, das espécies de *Mycoplasma* de crescimento mais rápido, que medem 20 a 500 μm. As colônias são redondas e exibem uma superfície granulosa com centro escuro em geral mergulhado no ágar. É possível repicar as colônias, cortando-se um pequeno quadrado de ágar contendo uma ou mais colônias e aplicando-se esse material em uma placa nova ou colocando-o em meio de cultura líquido. Podem-se corar os microrganismos para exame microscópico colocando-se um quadrado semelhante em lâmina e cobrindo-se a colônia com lamínula na qual foi aplicada uma solução alcoólica de azul de metileno e azure deixando-a evaporar (fixação do ágar). Essas lâminas também podem ser coradas com anticorpo fluorescente específico.

C. Características de crescimento

Os micoplasmas são peculiares em microbiologia em virtude (1) de seu tamanho extremamente pequeno e (2) de seu crescimento em meios complexos, porém acelulares.

Os micoplasmas passam através de filtros com poros de 450 nm e, por conseguinte, são comparáveis a clamídias ou aos grandes vírus. Todavia, os micoplasmas parasitos crescem em meios de cultura acelulares que contenham lipoproteína e esterol. Esta necessidade de esterol para o crescimento e síntese de membrana é exclusiva desses microrganismos.

Muitos micoplasmas utilizam a glicose como fonte de energia; os ureaplasmas necessitam de ureia.

Alguns micoplasmas humanos produzem peróxidos e hemolisam eritrócitos. Em culturas de células e *in vivo*, os micoplasmas desenvolvem-se de forma predominante em superfícies celulares. Muitas culturas de linhagens de células humanas e animais estabelecidas possuem micoplasmas como contaminantes; com frequência os micoplasmas são intracelulares.

D. Variação

O extremo pleomorfismo dos micoplasmas constitui uma de suas principais características.

Estrutura antigênica

Muitas espécies antigenicamente distintas de micoplasmas já foram isoladas de animais (p. ex., camundongos, galinhas e perus). Nos seres humanos, podem ser identificadas pelo menos 16 espécies, como *M. hominis*, *Mycoplasma salivarium*, *Mycoplasma orale*, *Mycoplasma fermentans*, *M. pneumoniae*, *M. genitalium*, *U. urealyticum* e outros.

As espécies são classificadas de acordo com suas características bioquímicas e sorológicas. Os antígenos de fixação do complemento (FC) dos micoplasmas consistem em glicolipídeos. Os antígenos para os testes de Elisa são proteínas. Algumas espécies apresentam mais de um sorotipo.

Patogênese

Muitos micoplasmas patogênicos exibem formas filamentosas ou semelhantes a um frasco, sendo dotados de estruturas polares especializadas que medeiam sua aderência às células do hospedeiro e consistem em um complexo grupo de proteínas interativas, adesinas e proteínas acessórias de aderência (p. ex., a adesina P1 de *M. pneumoniae* e a adesina MgPa de *M. genitalium*). As proteínas são ricas em prolina, o que influencia seu dobramento e sua ligação e é importante na aderência às células. Os micoplasmas fixam-se à superfície das células ciliadas e das não ciliadas, provavelmente através dos sialoglicoconjugados e glicolipídeos sulfatados das células mucosas. Alguns micoplasmas carecem das estruturas polares distintas, porém utilizam proteínas adesinas ou dispõem de outros mecanismos para aderir às células do hospedeiro. Os eventos subsequentes no processo de infecção não estão bem elucidados, mas podem incluir diversos fatores: citotoxicidade direta, graças à produção de peróxido de hidrogênio e radicais superóxido; citólise mediada por reações antígeno-anticorpo ou por quimiotaxia e por ação das células mononucleares; e competição por e depleção dos nutrientes.

Infecção por micoplasma

Os micoplasmas parecem específicos quanto a seus hospedeiros, sendo transmissíveis e potencialmente patogênicos apenas

para determinada espécie de hospedeiro. Nos animais, os micoplasmas parecem parasitos intracelulares, com predileção pelas células mesoteliais (pleura, peritônio, membrana sinovial das articulações). Vários produtos extracelulares podem ser elaborados (p. ex., hemolisinas).

A. Infecção de seres humanos

Os micoplasmas têm sido cultivados a partir das mucosas e dos tecidos humanos, particularmente do trato genital, do trato urinário e das vias respiratórias. Os micoplasmas fazem parte da microbiota normal da boca, podendo ser cultivados a partir de saliva normal, mucosa oral, escarro ou tecido das tonsilas. *M. salivarium*, *M. orale* e outros micoplasmas podem ser isolados da cavidade oral de muitos adultos sadios, embora a existência de uma associação com doença clínica seja incerta. *M. hominis* é encontrado na orofaringe de menos de 5% dos adultos. A presença de *M. pneumoniae* na orofaringe está em geral associada à ocorrência de doença (ver adiante).

Alguns micoplasmas são habitantes do trato genitourinário, em particular nas mulheres. Em ambos os sexos, a presença de micoplasma nas vias genitais está diretamente relacionada com o número de parceiros sexuais durante a vida. *M. hominis* pode ser isolado de 1 a 5% dos homens assintomáticos e de 30 a 70% das mulheres assintomáticas; as taxas aumentam para 20% e mais de 90% em homens e mulheres, respectivamente, em clínicas para doenças sexualmente transmissíveis. *U. urealyticum* é encontrado no trato genital de 5 a 20% dos homens sexualmente ativos e 40 a 80% das mulheres sexualmente ativas. Cerca de 20% das mulheres que se tratam em clínicas para doenças sexualmente transmissíveis apresentam *M. genitalium* no trato genital inferior. Outros micoplasmas também ocorrem no trato genital inferior.

B. Infecção de animais

A pleuropneumonia bovina é uma doença contagiosa e ocasionalmente letal do gado bovino, associada à pneumonia e derrame pleural. A doença propaga-se provavelmente por via respiratória. Os micoplasmas são encontrados em exsudatos inflamatórios.

A agalactia de carneiros e cabras na região do Mediterrâneo é uma infecção generalizada, com lesões localizadas na pele, nos olhos, articulações, púbere e escroto; resulta em atrofia das glândulas mamárias nas fêmeas. São encontrados micoplasmas no sangue durante o estágio inicial da doença e, posteriormente, no leite e em exsudatos.

Nas aves domésticas, os micoplasmas causam várias doenças respiratórias economicamente importantes. Os microrganismos podem ser transmitidos da galinha para o ovo e o pinto. Porcos, cães, ratos, camundongos e outras espécies abrigam micoplasmas que podem provocar infecção, afetando particularmente a pleura, o peritônio, as articulações, as vias respiratórias e os olhos. Em camundongos, um *Mycoplasma* de forma espiralada (espiroplasma) pode induzir a catarata.

Exames diagnósticos laboratoriais

A. Amostras

As amostras consistem em *swab* de garganta, escarro, exsudatos inflamatórios e secreções respiratórias, uretrais ou genitais.

B. Exame microscópico

A pesquisa direta de micoplasma a partir de amostras clínicas é inútil. As culturas são examinadas conforme descrito anteriormente.

C. Culturas

O material deve ser inoculado em meios sólidos ou líquidos especiais, dependendo do microrganismo. Meios sólidos são melhores quando incubados a 37°C, com 5% de CO₂ em condições microaerofílicas, ou mesmo anaerobiose. Já os meios líquidos necessitam de incubação a 37°C, em condição de aerobiose. A duração da incubação varia de 2 a 4 dias para espécies como *M. hominis* e *U. urealyticum*, ou em até quatro semanas para *M. pneumoniae*. Pode ser necessário efetuar um ou dois repiques, antes que ocorra crescimento adequado para exame microscópico por coloração ou imunofluorescência. As colônias de *M. hominis* podem exibir um típico aspecto de “ovo frito” no ágar, porém as colônias de *M. pneumoniae* e *M. genitalium* são menores sem o típico aspecto colonial observado em *M. hominis*. Os espécimes clínicos para detecção de espécies de *Ureaplasma* são geralmente inoculados em caldo ou ágar (p. ex., ágar A8), contendo ureia. O crescimento é detectado por alteração colorimétrica, resultante da hidrólise da ureia. Para microrganismos de crescimento rápido, os meios sólidos e os caldos deveriam ser examinados várias vezes ao dia e, para os de crescimento lento, uma vez ao dia.

D. Sorologia

Nos seres humanos infectados por micoplasmas, pode-se verificar a produção de anticorpos, detectados por vários métodos. Podem-se efetuar testes de FC (fixação de complemento) com antígenos glicolipídicos extraídos de micoplasmas cultivados com clorofórmio-metanol. *M. pneumoniae* e *M. genitalium* reagem cruzadamente no teste de FC. Os testes de inibição da hemaglutinação podem ser aplicados a eritrócitos tanizados com antígenos adsorvidos de *Mycoplasma*. Pode-se utilizar a imunofluorescência indireta. O teste que mede a inibição do crescimento por anticorpos é muito específico. Os testes imunoenzimáticos (Elisa) são considerados mais confiáveis, do que os testes de FC, estando disponíveis na maioria dos laboratórios, porém apresentam sensibilidade e especificidade variáveis, dependendo do teste escolhido. Com todas essas técnicas sorológicas, existe uma especificidade adequada para diferentes espécies humanas de *Mycoplasma*; todavia, é necessário um título crescente de anticorpos para que se possa estabelecer o diagnóstico, em razão da elevada incidência de provas sorológicas positivas em indivíduos normais.

E. Testes de amplificação do ácido nucleico

Métodos moleculares para detecção de espécies humanas de micoplasma e ureaplasma estão disponíveis em muitos laboratórios de referência e, uma variedade de *primers* (sequências iniciadoras) e sondas genéticas foram publicadas, em diferentes artigos científicos. Contudo, poucos ensaios estão aprovados pela Food and Drug Administration (FDA). Testes de amplificação de ácidos nucleicos (*Nucleic acid amplification tests* [NAATs]) são particularmente úteis para microrganismos que

são de difícil cultivo, como *M. pneumoniae* e *M. genitalium*, mas menos importantes para microrganismos de crescimento mais rápido. As dificuldades podem ser evidenciadas quando esses testes são positivos, mesmo com ausência de sintomatologia clínica. Esses testes são melhores utilizados em combinação a outras técnicas tradicionais de diagnóstico, como testes sorológicos.

Tratamento

Muitas cepas de micoplasmas são inibidas por uma variedade de antimicrobianos; entretanto, a maioria mostra-se resistente a penicilinas, cefalosporinas e vancomicina. As tetraciclina e eritromicinas mostram-se eficazes tanto *in vitro* quanto *in vivo*, e, hoje, constituem os fármacos de escolha na pneumonia por micoplasma. Alguns ureaplasmas são resistentes à tetraciclina.

Epidemiologia, prevenção e controle

M. pneumoniae se comporta como um patógeno respiratório (ver adiante), e é capaz de causar infecções endêmicas e epidêmicas. Os micoplasmas e ureaplasmas são transmitidos pelo contato genital ou oral-genital e podem ser igualmente transmitidos em associação com outros patógenos sexualmente adquiridos. Práticas sexuais seguras reduzem sua disseminação. Não existem vacinas para proteger contra qualquer um desses microrganismos.

MYCOPLASMA PNEUMONIAE E PNEUMONIAS ATÍPICAS

M. pneumoniae constitui uma causa proeminente de pneumonia, particularmente em indivíduos de 5 a 20 anos de idade.

Patogênese

M. pneumoniae é transmitido de uma pessoa a outra por secreções respiratórias infectadas. A infecção começa com a fixação da extremidade do microrganismo a um receptor existente na superfície das células epiteliais respiratórias (Fig. 25.1). A fixação é mediada por uma proteína específica, a adesina, sobre a estrutura terminal diferenciada do microrganismo. Durante o processo infeccioso, os microrganismos permanecem extracelulares.

Manifestações clínicas

Em geral, a pneumonia por micoplasma é uma doença leve. O espectro clínico da infecção por *M. pneumoniae* abrange uma infecção assintomática até a ocorrência de pneumonite grave com comprometimento neurológico e hematológico (*i. e.*, anemia hemolítica) ocasional, bem como uma variedade de lesões cutâneas possíveis. Ocorre miringite bolhosa nos casos espontâneos assim como em voluntários inoculados experimentalmente.

O período de incubação varia de 1 a 3 semanas. Em geral, o início é insidioso, com cansaço, febre, cefaleia, faringite e tosse. De início, a tosse é improdutivo, embora em certas ocasiões seja paroxística. Posteriormente, pode haver escarro com estrias de sangue e dor torácica. No início da evolução



FIGURA 25.1 Micrografia eletrônica de *Mycoplasma pneumoniae*, fixado a células epiteliais respiratórias ciliadas, em amostra de escarro de paciente com pneumonia por *M. pneumoniae* comprovada por cultura. Os microrganismos (M) podem ser observados na borda luminal fixados entre cílios (C). (Cortesia de AM Collier, Department of Pediatrics, University of North Carolina, EUA.)

da doença, o paciente apresenta um aspecto apenas moderadamente doente, e os sinais físicos de consolidação pulmonar são frequentemente insignificantes em comparação com a notável consolidação observada em radiografias. Mais tarde, quando a infiltração se torna máxima, a doença pode ser grave. A resolução da infiltração pulmonar e a melhora clínica ocorrem lentamente, no decorrer de 1 a 4 semanas. Apesar de a evolução da doença ser extremamente variável, a morte é muito rara e, em geral, atribuível a insuficiência cardíaca. Complicações são raras, mas pode ocorrer anemia hemolítica. Os achados patológicos mais comuns consistem em pneumonites intersticial e peribrônquica, bem como bronquiolite necrosante. Outras doenças possivelmente relacionadas com *M. pneumoniae* são eritema multiforme; comprometimento do sistema nervoso central, como meningite, meningoencefalite, além de mono e polineurite; miocardite; pericardite; artrite; e pancreatite.

Entre as causas mais comuns das pneumonias bacterianas comunitárias, além do *M. pneumoniae*, estão o *Streptococcus pneumoniae*, *Legionella pneumophila*, *Chlamydia pneumoniae* e *Haemophilus influenzae*. As apresentações clínicas destas infecções podem ser muito similares, e o reconhecimento das sutilezas de sinais e sintomas é importante. Os agentes causadores podem ser determinados por exame e cultivo do escarro, hemoculturas e outros testes.

Exames laboratoriais

O diagnóstico de pneumonia por *M. pneumoniae* é estabelecido, em grande parte, pelo reconhecimento clínico da síndrome. Os exames laboratoriais têm valor secundário. A contagem de leucócitos pode estar ligeiramente elevada. A coloração de uma amostra de escarro pelo método de Gram tem valor pelo fato de não indicar outro patógeno bacteriano (p. ex., *S. pneumoniae*).

O micoplasma responsável pode ser isolado em cultura a partir de amostras da faringe e do escarro; todavia, a cultura é um teste altamente especializado, quase nunca efetuado, para se estabelecer o diagnóstico de infecção por *M. pneumoniae*. Em cerca de 50% dos pacientes que não recebem tratamento aparecem crioaglutininas contra os eritrócitos humanos do grupo O em títulos crescentes, com valor máximo obtido na terceira ou na quarta semana após o início do processo. A obtenção de um título de 1:64 ou mais corrobora o diagnóstico de infecção por *M. pneumoniae*. Verifica-se uma elevação dos títulos de anticorpos específicos contra o *M. pneumoniae*, que pode ser demonstrada por testes de FC. São necessárias amostras de soro das fases aguda e convalescente para se comprovar uma elevação de 4 vezes nos anticorpos FC. O Elisa (ensaio imunoenzimático) para a detecção de anticorpos IgM e IgG pode ser altamente sensível, específico e é considerado mais confiável do que os testes de FC. O teste por PCR (reação em cadeia da polimerase) das amostras de swabs da garganta ou outro material clínico pode ser realizado.

Tratamento

As tetraciclinas, macrolídeos e fluoroquinolonas podem induzir melhora clínica, mas não erradicam *M. pneumoniae*, possivelmente por sua habilidade de invadir a célula hospedeira.

Epidemiologia, prevenção e controle

As infecções por *M. pneumoniae* são endêmicas em todo o mundo. Em populações de crianças e adultos jovens, nas quais prevalece o contato próximo, bem como em famílias, a taxa de infecção pode ser elevada (50 a 90%), porém a incidência de pneumonite é variável (3 a 30%). Para cada caso de pneumonite manifesta, existem vários casos de doença respiratória mais leve. Aparentemente, *M. pneumoniae* é transmitido, sobretudo por contato direto envolvendo as secreções respiratórias. É rara a ocorrência de um segundo ataque. A presença de anticorpos contra *M. pneumoniae* foi associada a uma resistência à infecção, embora possa não ser responsável por ela. Ocorrem reações imunológicas mediadas por células. O processo pneumônico pode ser atribuído, em parte, a uma resposta imunológica, e não apenas à infecção.

MYCOPLASMA HOMINIS

M. hominis foi associado a uma variedade de doenças, embora constitua uma causa demonstrada em apenas algumas delas. A evidência de uma relação causal provém de culturas e estudos sorológicos. *M. hominis* pode ser cultivado a partir das vias urinárias superiores em cerca de 10% dos pacientes com pielonefrite, estando ainda fortemente associado à infecção das tubas uterinas (salpingite) e abscessos tubo-ovarianos; é possível isolar o microrganismo das tubas uterinas de cerca de 10% das pacientes com salpingite, mas não de mulheres sem sinais da doença. A presença de anticorpos anti *M. hominis* é mais comum em mulheres com salpingite do que em mulheres saudáveis. *M. hominis* foi isolado do sangue de cerca de 10% das mulheres com febre pós-aborto ou puerperal e, em certas ocasiões, de culturas do líquido articular de pacientes com artrite.

UREAPLASMA UREALYTICUM

A exemplo de *M. hominis*, *U. urealyticum* foi associado a uma variedade de doenças, embora constitua uma causa demonstrada em apenas algumas delas. O *U. urealyticum*, que necessita de 10% de ureia para o seu crescimento, provoca uretrite não gonocócica em homens. Dados recentes demonstram que essa uretrite está associada ao biotipo 2 e não ao biotipo 1 (*Ureaplasma parvum*). *Ureaplasma urealyticum* também é comum no trato genital feminino, porém sua associação com doença questionável. *U. urealyticum* é associado à ocorrência de doença pulmonar em prematuros de baixo peso que adquiriram o microrganismo durante o parto, mas um efeito ocasional não foi claramente demonstrado. Contudo, neonatos sintomáticos com alterações radiográficas no pulmão, além da ausência de outras causas perceptíveis de pneumonia, justificam a associação das espécies de *Ureaplasma* e *M. hominis* com doença pulmonar. A evidência de uma associação de *U. urealyticum* com infertilidade involuntária é, quando muito, marginal.

MYCOPLASMA GENITALIUM

M. genitalium foi originalmente isolado de culturas uretrais de dois homens com uretrite não gonocócica; todavia, a cultura do *M. genitalium* é difícil, e as observações subsequentes basearam-se em dados obtidos com o uso da PCR, sondas moleculares e testes sorológicos. Os dados sugerem a associação do *M. genitalium* no homem com alguns casos de uretrite não gonocócica aguda e crônica. Na mulher, *M. genitalium* é associado a inúmeras infecções, tais como cervicite, endometrite, salpingite e a infertilidade.

BACTÉRIAS COM PAREDES CELULARES DEFEITUOSAS

As **variantes da fase L (formas L)** são formas microbianas com paredes celulares defeituosas, capazes de sofrer replicação seriada em forma de células não rígidas, produzindo colônias em meios de cultura sólidos. Algumas variantes da fase L são estáveis; outras mostram-se instáveis e sofrem reversão em formas bacterianas originais. As formas com paredes defeituosas não estão geneticamente relacionadas com os micoplasmas, podendo resultar de mutação espontânea ou dos efeitos de substâncias químicas. O tratamento de eubactérias com inibidores da parede celular ou com lisozima pode produzir formas microbianas com paredes celulares defeituosas. Os **protoplastos** são formas desse tipo que em geral se originam de microrganismos gram-positivos. Mostram-se osmoticamente frágeis, e sua superfície externa carece de constituintes da parede celular. Os **esferoplastos** são formas com parede celular defeituosa que habitualmente se originam de bactérias gram-negativas; essas formas conservam algum material da membrana externa.

As formas com paredes celulares defeituosas continuam sintetizando alguns antígenos que normalmente estão localizados na parede celular das bactérias originais (p. ex., as formas L estreptocócicas produzem proteína M e polissacarídeo capsular). A reversão das formas L para a forma bacteriana original é

intensificada pelo seu crescimento na presença de 15 a 30% de gelatina ou 2,5% de ágar. A reversão é anulada por inibidores da síntese proteica.

Não se sabe ao certo se as formas microbianas com paredes celulares defeituosas causam reações teciduais, resultando em doença. Podem ser importantes na persistência dos microrganismos em tecidos e na recidiva da infecção após tratamento antimicrobiano, como em raros casos de endocardite.

RESUMO DO CAPÍTULO

- Há mais de 200 espécies da classe *Mollicutes* (bactérias sem parede celular), porém apenas 16 estão associadas a infecções humanas.
- Os principais patógenos de importância médica incluem *M. pneumoniae* (a causa de infecções endêmicas e epidêmicas no trato respiratório) e micoplasmas urogenitais, tais como *M. hominis*, *M. genitalium* e *U. urealyticum*.
- *M. hominis* e *U. urealyticum* são facilmente cultiváveis em virtude de seu rápido crescimento, enquanto *M. genitalium* e *M. pneumoniae* requerem um maior tempo de incubação.
- *M. pneumoniae* é uma importante causa de pneumonias comunitárias. A infecção é insidiosa e com frequência prolongada. O diagnóstico é clínico e confirmado por sorologia (títulos elevados de IgG or IgM), por NAATs ou ambos.
- Os micoplasmas urogenitais estão associados à uretrite não gonocócica e não clamidial no homem (*U. urealyticum*). Tanto *M. hominis*, quanto *U. urealyticum* podem causar febre pós-parto e infecções respiratórias em neonatos. *M. hominis* é mais prevalente em mulheres com vaginose bacteriana, que em mulheres saudáveis.
- Infecções por *Mycoplasma* e por *Ureaplasma* não respondem a antibióticos β -lactâmicos. Tetraciclina, macrolídeos e quinolonas são os antimicrobianos de escolha terapêutica.

QUESTÕES DE REVISÃO

1. *Ureaplasma urealyticum* é assim chamado porque:
 - (A) Prolifera no trato urinário superior
 - (B) Necessita de ureia como um substrato de crescimento
 - (C) É uma causa frequente de infecção urinária sintomática da bexiga em mulheres jovens
 - (D) Causa infecções crônicas do trato urinário em recém-nascidos de mães portadoras de ureaplasmas em sua flora genital
2. Uma jovem de 18 anos de idade, sexualmente ativa, desenvolve dor no quadrante inferior esquerdo e febre. Ao exame pélvico, constatam-se inchaço do lado esquerdo e massa sugestiva de abscesso da tuba uterina à apalpação. É estabelecido o diagnóstico de doença inflamatória pélvica. Qual das seguintes bactérias é considerada uma causa comum de doença inflamatória pélvica?
 - (A) *Bacillus cereus*
 - (B) *Haemophilus influenzae*
 - (C) *Neisseria subflava*
 - (D) *Mycoplasma pneumoniae*
 - (E) *Chlamydia trachomatis*

3. Qual das seguintes opções é um aspecto importante na patogênese das infecções por micoplasmas?
- O peptidoglicano da parede celular de micoplasmas
 - A presença de lacto-N-neotriose com uma galactosamina terminal como receptor da célula hospedeira
 - As estruturas e proteínas interativas que medeiam a adesão às células hospedeiras
 - A ausência de cílios na superfície das células hospedeiras
 - O crescimento em um sítio anatômico onde proliferam organismos anaeróbios
4. Uma mulher de 25 anos de idade foi encaminhada a uma clínica de doenças sexualmente transmissíveis devido a contato sexual com parceiro com gonorreia. Essa mulher teve 15 parceiros sexuais desde que se tornou sexualmente ativa. A probabilidade de que apresente também infecção genital por *Mycoplasma hominis* é de:
- 1%
 - 5%
 - 15%
 - 40%
 - 90%
5. Um estudante de Medicina de 25 de idade anos teve contato com um paciente que tinha pneumonia, com febre e tosse. Quatro dias depois, o estudante desenvolveu febre e tosse e os raios X de pulmão mostraram consolidação no lobo inferior direito. A cultura de escarro de rotina deu resultados negativos. Suspeita-se de pneumonia causada por *Mycoplasma pneumoniae*. Todas as alternativas a seguir são métodos para confirmar o diagnóstico clínico, exceto:
- Amplificação do DNA de *M. pneumoniae* por PCR a partir do escarro
 - Cultura de escarro para *M. pneumoniae*
 - Coloração de Gram a partir de esfregaço de escarro
 - Cultura de um aspirado pulmonar para *M. pneumoniae*
 - Ensaio imunoenzimático em soro de fase aguda e convalescente
6. Cada um dos seguintes microrganismos está associado a infecções do trato genital, exceto:
- Mycoplasma hominis*
 - Neisseria gonorrhoeae*
 - Mycoplasma pneumoniae*
 - Chlamydia trachomatis*
 - Mycoplasma genitalium*
7. Micoplasmas apresentam todas as seguintes características, exceto:
- Possuem DNA e RNA
 - Capacidade de crescer em meio isento de células
 - Suscetibilidade a penicilina G
 - Parasitismo extracelular *in vivo*
8. Qual é o tipo de teste mais fácil de ser empregado para se obter confirmação laboratorial de infecção por *Mycoplasma pneumoniae*?
- Cultivo em caldo contendo soro, glicose e penicilina (para inibir outra microbiota)
 - PCR
 - Microscopia eletrônica
 - Testes de Elisa em soros de fase aguda e convalescente
9. Um menino de 13 anos de idade desenvolveu uma infecção por *Mycoplasma pneumoniae*. Qual é o risco de infecção de outros membros de sua casa?
- Nenhum; esse microrganismo é transmitido sexualmente
 - 1 a 3%
 - 10 a 15%
 - 20 a 40%
 - 50 a 90%
10. Um rapaz de 19 anos de idade desenvolveu tosse e febre. Raios X de pulmão mostraram consolidação no lobo inferior esquerdo. Foi feito um diagnóstico de pneumonia. Qual bactéria é uma causa frequente de pneumonias adquiridas na comunidade?
- Legionella pneumophila*
 - Chlamydia pneumoniae*
 - Streptococcus pneumoniae*
 - Mycoplasma pneumoniae*
 - Todas as opções anteriores
11. Todas as afirmações sobre os micoplasmas são verdadeiras, exceto:
- São suscetíveis aos β -lactâmicos
 - Não apresentam parede celular
 - Apresentam afinidade à membrana celular de mamíferos
 - São cultiváveis em meios livres de células
 - Algumas espécies são um pouco maiores do que os vírus
12. O início da infecção por *M. pneumoniae* começa anteriores:
- Elaboração de uma cápsula polissacarídica que inibe a fagocitose
 - Secreção de uma potente exotoxina
 - Endocitose pelas células epiteliais respiratórias ciliadas
 - Aderência a células epiteliais respiratórias ciliadas, mediada pela adesina P1
 - Nenhuma das alternativas anteriores
13. Qual das seguintes bactérias da classe *Mollicutes* possui aspecto de "ovo frito" no ágar com incubação entre 5 e 7 dias?
- Mycoplasma fermentans*
 - Mycoplasma orale*
 - Mycoplasma hominis*
 - Mycoplasma pneumoniae*
 - Todas as opções anteriores
14. Homem de 53 anos de idade, com endocardite em prótese valvar, apresentou febre por duas semanas após interrupção da antibioticoterapia. O infectologista responsável solicitou a pesquisa de formas L. Qual das afirmações caracteriza melhor as formas L?
- São formas deficientes em parede celular e são inequivocamente associadas à endocardite
 - São formas deficientes em parede celular que se multiplicam como células não rígidas
 - Todas as formas L são estáveis e diferentes das formas parentais
 - Todas as formas L são derivadas de bactérias gram-positivas
 - Todas as formas L são geneticamente relacionadas com o micoplasma
15. Com relação ao caso anterior, qual o melhor modo de recuperar as formas L a partir de hemocultura?
- Colocar o sangue na garrafa de hemocultura e subcultivar em ágar-sangue
 - Adicionar 15% de gelatina nas garrafas de hemocultura
 - As formas L não podem ser cultivadas a partir de sangue humano
 - Adicionar às garrafas de hemocultura antibióticos que inibam outros microrganismos
 - Colocar o sangue na garrafa de hemocultura e subcultivar em ágar para *Mycoplasma*

Respostas

- | | | | |
|------|------|-------|-------|
| 1. B | 5. C | 9. E | 13. C |
| 2. E | 6. C | 10. E | 14. B |
| 3. C | 7. C | 11. A | 15. B |
| 4. E | 8. D | 12. D | |

REFERÊNCIAS

- Mycoplasma diseases. Vol 2, Part III, Section D. In Mandell GL, Bennett JE, Dolin R et al. (editors). *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*, 7th ed. Elsevier, 2010.
- Razin S, Yogev D, Naot Y: Molecular biology and pathogenicity of mycoplasmas. *Microbiol Mol Biol Rev* 1998;62:1094.
- Waites KB, Taylor-Robinson D: *Mycoplasma* and *Ureaplasma*. In Versalovic J, Carroll KC, Funke G et al. (editors). *Manual of Clinical Microbiology*, 10th ed. ASM Press, 2011.

Riquétsias e gêneros relacionados

CONSIDERAÇÕES GERAIS

Os patógenos humanos pertencentes à família Rickettsiaceae são pequenas bactérias dos gêneros *Rickettsia* e *Orientia*. Esses dois gêneros são intimamente relacionados com os membros da família Anaplasmataceae que incluem os gêneros *Ehrlichia* e *Anaplasma*. São parasitos intracelulares obrigatórios, sendo transmitidos aos seres humanos por artrópodes. Muitas riquétsias são transmitidas por via transovariana nos artrópodes, que atuam tanto como vetores quanto como reservatórios. Em geral as riquetsioses, porém não as ehrlichioses, se manifestam em forma de febre, exantema e vasculite. São agrupadas com base nas suas manifestações clínicas, nos aspectos epidemiológicos e nas características imunológicas (Quadro 26.1). *Coxiella burnetii* faz parte da família Coxiellaceae e está mais intimamente relacionada com o gênero *Legionella*, mas por conveniência será discutida no final desse capítulo.

RICKETTISIA E ORIENTIA

Propriedades das riquétsias

As riquétsias são cocobacilos pleomórficos que ocorrem em forma de bastonetes curtos ($0,3 \times 1$ a $2 \mu\text{m}$) ou cocos ($0,3 \mu\text{m}$ de diâmetro). Não se coram adequadamente pelo método de Gram, porém são facilmente visualizadas à microscopia óptica quando coradas pelos métodos de Giemsa, Gimenez, laranja acridina ou outros corantes. Além disso, imuno-histoquímica e imunofluorescência realizadas em laboratórios de referência são os métodos mais úteis no diagnóstico das infecções por riquétsias.

As riquétsias crescem facilmente no saco vitelino de ovos embrionados. Podem-se obter preparações puras de riquétsias para uso em testes laboratoriais com a centrifugação diferencial de suspensões do saco vitelino. Muitas cepas de riquétsias também crescem em cultura de células, em que o tempo de geração é de 8 a 10 horas a 34°C . A cultura de células e o crescimento em saco vitelino de ovos embrionados têm substituído a inoculação em animais (exceto para as espécies de *Orientia*). Por motivos de biossegurança, o isolamento das riquétsias só deve ser efetuado em laboratórios de referência.

As riquétsias possuem estruturas de parede celular gram-negativas que incluem peptidoglicanos contendo ácidos murâmico e diaminopimélico. O grupo do tifo e o da febre maculosa contêm lipopolissacarídeo. As proteínas da parede

celular incluem as proteínas de superfície OmpA e OmpB, importantes na resposta imunológica, e fornecem as bases para a sorotipagem.

As riquétsias crescem em diferentes partes da célula. As que pertencem ao grupo do tifo são habitualmente encontradas no citoplasma, enquanto as do grupo da febre maculosa ocorrem no núcleo.

O crescimento das riquétsias é intensificado na presença de sulfonamidas, e as riquetsioses são agravadas por esses fármacos. As tetraciclinas e o cloranfenicol inibem o crescimento de tais bactérias, podendo ser eficazes terapêuticamente.

A maior parte das riquétsias sobrevive apenas por um curto período fora do vetor ou do hospedeiro, sendo rapidamente destruída por calor, dessecação e substâncias químicas bactericidas. As fezes secas de piolhos infectados podem conter a *Rickettsia prowazekii* infecciosa por vários meses à temperatura ambiente.

Antígenos e sorologia das riquétsias

Pode-se utilizar o teste do anticorpo imunofluorescente direto para detectar a presença de riquétsias em carrapatos e cortes de tecidos. Esse teste tem sido mais útil para a detecção da *R. rickettsii* em amostras de biópsia cutânea, para ajudar a estabelecer o diagnóstico de febre maculosa das Montanhas Rochosas; todavia, esse teste só é feito em alguns laboratórios de referência.

As evidências sorológicas de infecção só aparecem a partir da segunda semana de doença em qualquer riquetsiose. Por conseguinte, os testes sorológicos só se mostram úteis para confirmar o diagnóstico, que se baseia nos achados clínicos (p. ex., febre, cefaleia, exantema) e na informação epidemiológica (p. ex., picada de carrapato). O tratamento das doenças potencialmente graves como febre maculosa das Montanhas Rochosas e tifo, deve ser instituído antes da ocorrência de sor conversão.

Foram utilizados diversos testes sorológicos para o diagnóstico das riquetsioses. A maioria desses testes só é feita em laboratórios de referência. Os antígenos para a **imunofluorescência indireta**, aglutinação do látex, ensaios de imunoperoxidase indiretos e ensaios imunoenzimáticos, visando à febre maculosa das Montanhas Rochosas, estão disponíveis comercialmente. Os reagentes necessários para outros testes são preparados apenas em laboratórios de saúde pública ou laboratórios de referência. A técnica do anticorpo fluorescente indireta pode constituir o método mais amplamente utilizado devido

QUADRO 26.1 Doenças causadas por riquetsias e Ehrlichiae

Grupo	Microrganismo	Doença	Distribuição geográfica	Vetor	Reservatório em mamíferos	Características clínicas	Testes diagnósticos ^a
Grupo do tifo	<i>Rickettsia prowazekii</i>	Tifo epidêmico (tifo de piolhos), doença de Brill-Zinsser	Mundial: América do Sul, África, Ásia, América do Norte	Piolho	Seres humanos	Febre, tremores, mialgia, cefaleia, erupção cutânea (sem escaras); doença grave se não for tratada	Sorologia
	<i>Rickettsia typhi</i>	Tifo murino, tifo endêmico, tifo da pulga	Mundial (focos pequenos)	Pulga	Roedores	Febre, cefaleia, mialgia, erupção cutânea (sem escaras); afecção mais leve que o tifo epidêmico	Sorologia
Grupo do tifo rural	<i>Orientia tsutsugamushi</i>	Tifo rural, tifo do mato ou febre de Tsutsugamushi	Ásia, Pacífico Sul, Norte da Austrália	Ácaro	Roedores	Febre, cefaleia, erupção cutânea (50% com escaras), linfadenopatia, linfócitos atípicos	Sorologia
Grupo da febre maculosa ^b	<i>Rickettsia rickettsii</i>	Febre maculosa das Montanhas Rochosas	Hemisfério Ocidental (EUA, América do Sul)	Carrapato ^c	Roedores, cães	Febre, cefaleia, erupção cutânea (sem escaras); muitas manifestações sistêmicas	Teste direto de anticorpos fluorescentes (AF) de riquetsias em tecido; sorologia
	<i>Rickettsia conorii</i>	Febre botonosa, febre maculosa do Mediterrâneo, febre maculosa de Israel, febre do carrapato da África do Sul, tifo do carrapato africano (Quênia), tifo do carrapato indiano	Países mediterrâneos, África, Oriente Médio, Índia	Carrapato ^c	Roedores, cães	Febre, cefaleia, erupções cutâneas, <i>tache noire</i> (escaras)	Teste de anticorpo fluorescente direto de riquetsias em tecido; sorologia
	<i>Rickettsia sibirica</i>	Tifo do carrapato da Sibéria (tifo do carrapato do Norte da Ásia)	Sibéria, Mongólia	Carrapato ^c	Roedores	Febre, erupções cutâneas (escaras)	Sorologia
Grupo tradicional	<i>Rickettsia akari</i>	Riquetsiose variceliforme	EUA, Coreia, Rússia, África do Sul	Ácaro ^c	Camundongo	Doença leve, febre, cefaleia, erupção cutânea vesicular (escaras)	Sorologia
	<i>Rickettsia australis</i>	Tifo do carrapato de Queensland	Austrália	Carrapato ^c	Roedores, marsupiais	Febre, erupções cutâneas no tronco e nos membros (escaras)	Sorologia
Febre Q	<i>Coxiella burnetii</i>	Febre Q	Mundial	Vias respiratórias, fômites, carrapato	Ovelhas, gado bovino, carneiros, outros	Cefaleia, febre, fadiga, pneumonia (sem erupções cutâneas); pode apresentar complicações maiores	Teste de FC positivo para antígenos de fases I e II
Ehrlichiae	<i>Ehrlichia chaffeensis</i>	Ehrlichiose de monócitos humanos	Regiões Centro-Sul, Sudeste e Ocidental dos EUA	Carrapato	Veado, cães, seres humanos	Febre, cefaleia, leucócitos atípicos	Inclusões nos monócitos circulantes, anticorpos para teste indireto de AF
	<i>Neorickettsia sennetsu</i>	Ehrlichiose de monócitos humanos	Japão, Malásia	Peixe infectado por trematódeo (?)	Mamíferos	Febre, cefaleia, leucócitos atípicos	
	<i>Anaplasma phago-cytophilum</i>	Anaplasiose de granulócitos humanos	Alto Meio-Oeste, Sudeste e Oeste dos EUA e Europa	Carrapato	Camundongo, outros mamíferos	Febre, cefaleia, mialgia	Inclusões em granulócitos, anticorpos para teste indireto de AF
	<i>Ehrlichia ewingii</i>	Ehrlichiose de granulócitos humanos	Meio-Oeste dos EUA	Carrapato	Cães	Febre, cefaleia, mialgia	Inclusões em granulócitos, anticorpos para teste indireto de AF

^a Elisa; aglutinação do látex entre outras, dependendo do gênero e da espécie.^b Outras espécies de riquetsias no grupo da febre maculosa que infectam seres humanos são *R. africae*, *R. japonica*, *R. honei* e *R. slovacca*.^c Também serve como reservatório em artrópodes, pela manutenção das riquetsias através de transmissão transovariana.

FA, teste de anticorpos imunofluorescentes; PCR, reação em cadeia da polimerase.

à disponibilidade dos reagentes e à facilidade de sua execução. O teste é relativamente sensível, exige pouco antígeno e pode ser utilizado para a detecção da IgM e IgG. Riquetsias parcialmente purificadas de material infectado do saco vitelino são testadas com diluições do soro do paciente. Detectam-se anticorpos reativos com uma antiglobulina humana marcada com fluoresceína. Os resultados indicam a presença de anticorpos parcialmente próprios da espécie, mas são observadas algumas reações cruzadas.

Patologia

As riquetsias multiplicam-se nas células endoteliais dos pequenos vasos sanguíneos, causando vasculite caracterizada por infiltrado linfocitário ao longo dos vasos sanguíneos. As células tornam-se intumescidas e sofrem necrose; ocorre trombose vascular com consequentes ruptura e necrose. As lesões vasculares são proeminentes na pele; todavia, a vasculite é observada em muitos órgãos e parece constituir a base de distúrbios hemostáticos. Pode-se verificar o desenvolvimento de coagulação intravascular disseminada (CID) e oclusão vascular. No cérebro, agregados de linfócitos, leucócitos polimorfonucleares e macrófagos estão associados aos vasos sanguíneos da substância cinzenta, sendo denominados nódulos do tifo. O coração apresenta lesões semelhantes às dos vasos sanguíneos de pequeno calibre. Outros órgãos também podem ser acometidos.

Imunidade

Em culturas celulares de macrófagos, as riquetsias são fagocitadas e multiplicam-se no interior das células, mesmo na presença de anticorpos. O acréscimo de linfócitos de animais imunes interrompe essa multiplicação *in vitro*. Em seres humanos, a infecção é seguida de imunidade parcial a reinfeção de fontes externas, mas ocorrem recidivas (ver doença de Brill-Zinsser adiante).

Manifestações clínicas

As riquetsioses caracterizam-se por febre, cefaleia, mal-estar, prostração, exantema e aumento de tamanho do baço e do fígado.

A. Grupo do tifo

1. Tifo epidêmico (*Rickettsia prowazekii*) — A doença é transmitida pelo piolho do corpo humano. O tifo epidêmico é caracterizado por uma infecção sistêmica grave com prostração e febre persistente por cerca de duas semanas. A doença é mais grave e com mais frequência fatal em pacientes com mais de 40 anos. Durante as epidemias, a taxa de casos fatais atingiu 6 a 30%.

2. Tifo endêmico ou tifo murino (*Rickettsia typhi*) — O mecanismo de transmissão desse microrganismo são as fezes das pulgas infectadas depositadas dentro das feridas, durante a picada. O quadro clínico do tifo endêmico exhibe muitos aspectos em comum com o do tifo epidêmico, porém a doença é mais leve e raramente fatal, exceto em pacientes idosos.

B. Grupo da febre maculosa

O grupo da febre maculosa assemelha-se clinicamente ao tifo; mas, diferentemente do exantema observado em outras riquetsioses, a erupção no grupo da febre maculosa em geral aparece em primeiro lugar nos membros, migra de modo centrípeto e atinge as palmas das mãos e plantas dos pés. Algumas, como a febre maculosa brasileira, podem produzir infecções graves, ao passo que outras, como a febre do Mediterrâneo, são leves. A taxa de casos fatais varia acentuadamente. Na febre maculosa das Montanhas Rochosas sem tratamento, a taxa de mortalidade em geral é muito mais alta em indivíduos idosos (até 50%) do que em adultos jovens ou crianças.

C. Grupo tradicional

A riquetsiose variceliforme (*Rickettsia akari*) é uma doença leve, cujo exantema assemelha-se ao da varicela. Cerca de uma semana antes do início da febre, verifica-se o aparecimento de uma pápula vermelha de consistência firme no local da picada do ácaro, que evolui para uma vesícula profunda, a qual forma uma escara preta (ver adiante).

D. Grupo da febre de Tsutsugamushi (tifo rural ou do mato)

Tifo do mato ou febre de Tsutsugamushi (*Orientia tsutsugamushi*) — Essa doença se assemelha clinicamente ao tifo epidêmico. Uma característica é a escara ulcerativa coberta por uma crosta escurecida, indicando o local da picada do ácaro. A presença de linfadenopatia e linfocitose é comum, além do envolvimento cardíaco e cerebral que pode ser grave.

Achados laboratoriais

Do ponto de vista técnico, o isolamento das riquetsias é difícil e pouco útil para o diagnóstico. Além disso, o isolamento desses microrganismos é perigoso. Uma amostra de sangue total (ou coágulo sanguíneo emulsificado) é inoculada em cobaias, camundongos, ovos ou cultura de células. As riquetsias são isoladas com mais frequência de sangue coletado pouco depois do início da doença.

Se as cobaias não apresentarem sinais de doença (febre, edema escrotal, necrose hemorrágica e morte), deverá ser obtida uma amostra de soro para a pesquisa de anticorpos, a fim de se determinar se o animal teve infecção inaparente.

Algumas riquetsias podem infectar camundongos; os microrganismos são visualizados em esfregaços de exsudato peritoneal. Na febre maculosa das Montanhas Rochosas, as biópsias cutâneas obtidas de pacientes entre o quarto e o oitavo dias da doença podem revelar a presença de riquetsias por imunofluorescência.

Os testes sorológicos mais amplamente utilizados são imunofluorescência indireta e ensaios imunoenzimáticos (ver adiante). O teste de fixação do complemento não é mais usado na maioria dos laboratórios. Uma elevação do anticorpo deve ser demonstrada durante a evolução da doença. Na febre maculosa das Montanhas Rochosas, a resposta imunológica pode ocorrer somente após a segunda semana de doença.

A reação em cadeia da polimerase (PCR) vem sendo utilizada para ajudar a estabelecer o diagnóstico de febre maculosa

das Montanhas Rochosas, das outras doenças do grupo da febre maculosa, do tifo murino e da febre de Tsutsugamushi em diferentes laboratórios de referência. Métodos de PCR em tempo real têm contribuído para o aumento da sensibilidade e para o diagnóstico laboratorial dessas infecções, antes da soroc conversão a partir de diferentes espécimes clínicos, incluindo tecidos, plasma e sangue periférico. Essas técnicas moleculares também têm sido usadas na detecção do material genético de riquetsias no vetor.

Tratamento

As tetraciclina, preferencialmente a doxiciclina, são eficazes, contanto que o tratamento seja iniciado precocemente. A doxiciclina é administrada por via oral diariamente, devendo ser mantida por 3 a 4 dias após a defervescência. Em pacientes gravemente enfermos, as doses iniciais podem ser administradas por via intravenosa. O cloranfenicol também pode ser eficaz.

As sulfonamidas agravam a doença, sendo contraindicadas. Os antibióticos não eliminam as riquetsias, porém suprimem seu crescimento. A recuperação depende, em parte, dos mecanismos imunológicos do paciente.

Existem pouco dados clínicos experimentais sobre o uso de fluoroquinolonas, embora esses antibióticos apresentem boa atividade *in vitro*.

Epidemiologia

Diversos artrópodes, em particular carrapatos e ácaros, abrigam microrganismos semelhantes às riquetsias nas células que revestem o trato alimentar. Muitos desses microrganismos não são evidentemente patogênicos para os seres humanos.

Os ciclos de vida das diferentes riquetsias variam. A *R. prowazekii* apresenta um ciclo de vida nos seres humanos e no piolho humano (*Pediculus humanus corporis* e *Pediculus humanus capitis*). O piolho adquire o microrganismo ao picar seres humanos infectados e transmite o agente através de excreção fecal sobre a superfície da pele de outra pessoa. Enquanto pica, o piolho defeca ao mesmo tempo. O ato de coçar o local de picada propicia a penetração na pele das riquetsias excretadas nas fezes. Em consequência da infecção, o piolho morre, porém os microrganismos permanecem viáveis por algum tempo nas fezes secas. As riquetsias não são transmitidas de uma geração de piolhos para outra. As epidemias de tifo têm sido controladas pela eliminação do parasito em grandes proporções da população com o uso de inseticidas.

A **doença de Brill-Zinsser** é uma recrudescência de uma antiga infecção de tifo. As riquetsias podem persistir por muitos anos nos linfonodos de um indivíduo, sem desencadear nenhum sintoma. As riquetsias isoladas desses casos comportam-se como a *R. prowazekii* clássica, o que sugere que os próprios seres humanos atuam como reservatórios das riquetsias do tifo epidêmico. As epidemias de tifo têm sido associadas a guerras e deterioração dos padrões de higiene pessoal, o que tem aumentado a oportunidade de proliferação dos piolhos humanos. Se isso acontecer no momento da recrudescência de uma infecção antiga de tifo, poderá ser desencadeada uma epidemia. A doença de Brill-Zinsser ocorre em populações locais de áreas de tifo e em indivíduos que migram dessas áreas para locais em que a doença

não existe. As características sorológicas distinguem rapidamente a doença de Brill do tifo epidêmico primário. Os anticorpos, que aparecem mais cedo, são do tipo IgG em vez do tipo IgM detectado após a infecção primária. Esses anticorpos atingem um título máximo em torno do décimo dia da doença. Tal resposta humoral precoce da IgG e a evolução benigna da doença sugerem que o indivíduo ainda apresente imunidade parcial em decorrência da infecção primária.

Nos EUA, *R. prowazekii* tem um reservatório extra-humano no esquilo voador do sul, *Glaucomys volans*. Nas áreas em que tais esquilos voadores são nativos (sul do Maine até a Flórida e a região central dos EUA), têm ocorrido infecções humanas após picadas por ectoparasitos desses roedores.

R. typhi tem o seu reservatório no rato, em que a infecção é inaparente e de longa duração. As pulgas do rato transportam as riquetsias de um rato para outro e, algumas vezes, do rato para o homem, que desenvolve tifo endêmico. As pulgas dos gatos podem servir como vetores. No tifo endêmico, a pulga não pode transmitir riquetsia por via transovariana.

O. tsutsugamushi tem o seu verdadeiro reservatório nos ácaros que infestam roedores. As riquetsias podem persistir nos ratos por mais de um ano após a infecção. Os ácaros transmitem a infecção por via transovariana. Em certas ocasiões, os ácaros ou as pulgas de ratos infectados picam seres humanos, resultando em tifo rural. As riquetsias persistem no ciclo ácaro-rato-ácaro nos serrados ou na vegetação da mata secundária, que substituiu a mata nativa em áreas parcialmente cultivadas. Essas regiões podem tornar-se infestadas por ratos e ácaros trombiculídeos.

R. rickettsii pode ser encontrada em carrapatos de madeira sadios (*Dermacentor andersoni*), sendo transmitida por via transovariana. No Oeste dos EUA, os carrapatos infectados algumas vezes picam vertebrados, como roedores, cervos e seres humanos. Para serem infecciosos, os carrapatos que abrigam as riquetsias precisam ficar ingurgitados de sangue, visto que isso aumenta o número de riquetsias no carrapato. Por conseguinte, ocorre uma demora de 45 a 90 minutos entre o momento da fixação do carrapato e o aparecimento de sua capacidade infectante. No leste dos EUA, o carrapato do cão *Dermacentor variabilis* transmite a febre maculosa das Montanhas Rochosas. Os cães são hospedeiros desses carrapatos, podendo atuar como reservatórios para a infecção. Os pequenos roedores constituem outro reservatório. Nos EUA, a maioria dos casos de febre maculosa das Montanhas Rochosas ocorre atualmente nas regiões do leste e do sudeste.

R. akari tem como vetor os ácaros hematófagos da espécie *Allodermanyssus sanguineus*, que podem ser encontrados em camundongos (*Mus musculus*) capturados em apartamentos de edifícios nos EUA, onde já ocorreu riquetsiose variceliforme. A transmissão transovariana das riquetsias ocorre nos ácaros. Por conseguinte, o ácaro pode atuar como verdadeiro reservatório e também como vetor. *R. akari* foi também isolada na Europa oriental, na Turquia e na Coreia.

Distribuição geográfica

A. Tifo epidêmico

Essa infecção potencialmente mundial desapareceu dos EUA, da Grã-Bretanha e da Escandinávia, sendo ainda encontrada nos Bálcãs, Ásia, África, México e Andes (América do Sul).

Por causa de sua longa duração no homem em forma de infecção latente (doença de Brill-Zinsser), pode surgir e disseminar-se rapidamente em condições ambientais apropriadas, como as que ocorreram na Europa durante a Segunda Guerra Mundial, em consequência da deterioração da higiene nas comunidades.

B. Tifo murino endêmico

Esta doença apresenta distribuição mundial, particularmente em áreas com elevada infestação por ratos. Pode existir nas mesmas áreas em que ocorrem tifo epidêmico ou tifo rural, podendo ser confundido com estes.

C. Febre de Tsutsugamushi (tifo rural ou do mato)

Ocorre no Extremo Oriente, particularmente em Mianmar (antiga Birmânia), Índia, Sri Lanka, Nova Guiné, Japão e Taiwan. O estágio de larva (micuim) de vários ácaros trombiculídeos atua como reservatório, através da transmissão transovariana, e como vetor para a infecção de seres humanos e roedores.

D. Grupo da febre maculosa

Tais infecções ocorrem em todas as partes do mundo, exibindo em geral algumas diferenças epidemiológicas e imunológicas em diferentes áreas. A transmissão por um carrapato da família *Ixodidae* é comum ao grupo. As doenças agrupadas nesse grupo incluem a febre maculosa das Montanhas Rochosas e as febres maculosas colombiana, brasileira e mexicana; as febres mediterrânea (botonosa), do carrapato da África do Sul e do Quênia; o tifo do carrapato do norte da Austrália; e a riquetsiose do norte da Ásia transmitida por carrapato.

E. Riquetsiose variceliforme

A doença humana foi observada entre moradores de apartamentos no norte dos EUA, mas a infecção também ocorre na Rússia, África e Coreia.

Ocorrência sazonal

O tifo epidêmico é mais comum nos climas frios, atingindo o ápice no inverno, com declínio de sua incidência na primavera, o que provavelmente reflete a aglomeração de pessoas, a falta de combustível e os baixos padrões de higiene pessoal, que favorecem a infestação por piolhos.

As riquetsioses transmitidas aos seres humanos por um vetor atingem sua incidência máxima na época em que o vetor é mais prevalente — ou seja, nos meses de verão e outono.

Controle

O controle deve basear-se em quebra da cadeia de infecção, tratamento dos pacientes com antibióticos e imunização, quando possível. Os pacientes com riquetsioses que não apresentam ectoparasitos não são contagiosos nem transmitem a infecção.

A. Prevenção da transmissão pela quebra da cadeia de infecção

- 1. Tifo epidêmico** — despiolhamento com inseticidas.
- 2. Tifo murino** — moradias à prova de ratos e uso de raticidas.
- 3. Febre de Tsutsugamushi** — limpeza dos locais de vegetação secundária onde vivem ratos e ácaros.
- 4. Febre maculosa** — podem-se utilizar medidas semelhantes para as febres maculosas; limpeza da terra infestada; profilaxia pessoal em forma de roupas protetoras, como uso de botas de cano longo, meias colocadas por cima das calças; repelentes de carrapatos; e remoção frequente dos carrapatos fixados.
- 5. Riquetsiose variceliforme** — eliminação dos roedores e seus parasitos dos domicílios humanos.

Verificação de conceitos

- As riquetsias são cocobacilos pleomórficos, intracelulares obrigatórios e semelhantes a bactérias gram-negativas, porém não se coram pelo método convencional de Gram.
- As riquetsias podem ser cultivadas em células de linhagem contínuas e em saco vitelino de ovos embrionados, porém imuno-histoquímica, imunofluorescência, sorologia e métodos moleculares são em geral usados em sua detecção a partir de diferentes espécimes clínicos.
- A característica das riquetsioses é a vasculite.
- As riquetsias podem ser divididas em diferentes grupos (tifo, febre maculosa, riquetsiose variceliforme e febre de Tsutsugamushi). A divisão desses grupos é baseada pelos vetores que disseminam o microrganismo, pelas manifestações clínicas e pela distribuição geográfica.
- As infecções podem apresentar desde manifestações clínicas brandas como na riquetsiose variceliforme até manifestações graves observadas na febre maculosa das Montanhas Rochosas.
- A doxiciclina é o fármaco de escolha para as riquetsioses.

EHRlichia E ANAPLASMA

As ehrlichioses que causam doenças no homem foram classificadas em um número limitado de espécies, com base, em grande parte, na análise das sequências dos genes do RNAr. Os patógenos são os seguintes: *Ehrlichia chaffeensis*, que provoca a ehrlichiose monocitotrópica humana (*human monocyte ehrlichiosis* [HME]), *Ehrlichia ewingii*, que causa a *Ehrlichia ewingii* ehrlichiose humana e a *Anaplasma phagocytophilum*, que causa a anaplasmoose monocitotrópica humana (*human granulocyte anaplasmosis* [HGA]). O mesmo gênero contém outras espécies que infectam animais, mas aparentemente não infectam o homem. Os patógenos humanos no grupo possuem reservatório animal e podem causar doenças em animais.

O grupo das ehrlichioses é constituído por microrganismos intracelulares obrigatórios, agrupados taxonomicamente com as riquetsias. Possuem como vetores os carrapatos (Ver Quadro 26.1).

Propriedades das *Ehrlichiae*

As *Ehrlichiae* e as anaplasmas são bactérias gram-negativas pequenas (0,5 µm) e intracelulares obrigatórias. Infectam os leucócitos circulantes, eritrócitos e plaquetas. No interior dessas células, se multiplicam em vacúolos fagocíticos, formando agregados que exibem aspecto semelhante a uma inclusão, denominados **mórulas**, termo que se origina da palavra latina que designa amora. As *Ehrlichiae* e as clamídias (ver Cap. 27) assemelham-se entre si pelo fato de serem encontradas em vacúolos intracelulares. Todavia, as *Ehrlichiae* são iguais às riquetsias em virtude da sua capacidade de sintetizar adenosina trifosfato (ATP), enquanto as clamídias não apresentam essa capacidade.

Manifestações clínicas

O período de incubação após a picada do carrapato, para ambas as manifestações clínicas (HME e HGA), é em média de 5 a 21 dias. As manifestações clínicas da ehrlichiose nos seres humanos são inespecíficas, incluindo febre, calafrios, cefaleia, mialgia, náuseas ou vômitos, anorexia e perda de peso. Tais manifestações são muito semelhantes às observadas na febre maculosa das Montanhas Rochosas, porém sem exantema. *E. chaffeensis* com frequência causa doença grave ou fatal, enquanto *A. phagocytophilum* o faz com menor frequência. Complicações da HME incluem meningoencefalite, miocardite, falência renal e respiratória e choque. Os estudos de soroprevalência sugerem a ocorrência frequente de ehrlichiose subclínica.

Exames laboratoriais

Alterações laboratoriais presentes na HME e na HGA incluem leucopenia, linfopenia, trombocitopenia e alterações nas enzimas hepáticas. O diagnóstico pode ser confirmado pela observação de mórulas típicas nos leucócitos (granulócitos na HGA e na doença por *E. ewingii*, ou células mononucleares na HME). A sensibilidade do diagnóstico por microscopia para detecção das mórulas é maior durante a primeira semana de infecção, com taxa de 25% a 75%. Pode-se utilizar também o teste do anticorpo fluorescente indireto para se confirmar o diagnóstico. Os anticorpos são medidos contra a *E. chaffeensis* e *A. phagocytophilum*. *E. chaffeensis* também é utilizada como substrato para *E. ewingii*, visto que as duas espécies compartilham antígenos. A soroconversão de menos de 1:64 para 1:128 ou mais ou uma elevação de 4 vezes ou mais nos títulos estabelecem o diagnóstico sorológico de HME em um paciente com doença clinicamente compatível.

Foram descritos vários métodos para detecção dos microrganismos por reação em cadeia da polimerase (PCR, na sigla em inglês) em amostra de sangue não coagulado por EDTA. Além disso, pode-se efetuar uma cultura utilizando uma variedade de linhagens celulares. Tanto a PCR quanto a cultura são realizadas em laboratórios de referência e em um pequeno número de laboratórios comerciais.

Tratamento

As tetraciclina, em geral a doxiciclina, são eficazes contra a *Ehrlichiae* e constituem o tratamento de escolha sendo administradas de 5 a 14 dias. As rifamicinas também atuam ao

destruir esses microrganismos. Dados limitados sugerem que as fluoroquinolonas e o cloranfenicol não são recomendados para o tratamento das ehrlichioses.

Epidemiologia e prevenção

A incidência das ehrlichioses humanas não está bem definida. *E. chaffeensis* tem sido encontrada no interior de carrapatos, em pelo menos 14 Estados das regiões Sudeste, Centro-Sul e Meio-Atlântico dos EUA. Além disso, casos de HME foram reportados em mais de 30 Estados. Essas áreas correspondem a de distribuição do carrapato-da-estrela-solitária, *Amblyomma americanum*. Casos registrados de ehrlichiose monocitotrópica humana no oeste dos EUA, bem como na Europa e na África sugerem outros carrapatos vetores, como o *Dermacentor variabilis*. Em Oklahoma, que apresenta a maior incidência de febre maculosa das Montanhas Rochosas, a ehrlichiose monocitotrópica humana é, ao menos, conhecida. Mais de 90% dos casos são observados entre abril e outubro e mais de 80% acometem os homens. Na maioria dos pacientes, observa-se história de exposição a carrapatos no mês anterior ao início da doença. São observados casos de ehrlichiose granulocitotrópica humana no Meio-Oeste e nos Estados da Costa Leste, bem como nos Estados da Costa Oeste dos EUA, áreas que correspondem a distribuição dos carrapatos vetores *Ixodes scapularis* e *Ixodes pacificus*, respectivamente.

Verificação de conceitos

- Os patógenos que causam a ehrlichiose humana incluem *E. chaffeensis* (agente etiológico da HME), *E. ewingii* (agente etiológico da ehrlichiose Ewingii) e *A. phagocytophilum* (agente etiológico da HGA).
- O grupo *Ehrlichia* consiste em bactérias intracelulares obrigatórias transmitidas por carrapatos.
- As espécies de *Ehrlichia* e *Anaplasma* infectam leucócitos circulantes, em que se multiplicam no interior de vacúolos fagocíticos, formando agregados denominados **mórulas**.
- As manifestações clínicas das ehrlichioses são inespecíficas incluindo febre, calafrios, cefaleia, mialgia, náuseas, vômitos, anorexia e perda ponderal.
- O diagnóstico é realizado pela demonstração da mórula no interior dos leucócitos, por sorologia ou por PCR.
- A doxiciclina é o fármaco de escolha terapêutica.

COXIELLA BURNETII

Características

Coxiella burnetii é um microrganismo pequeno que apresenta uma parede semelhante a das bactérias gram-negativas. Contudo, não se coram pelo método convencional de Gram, mas pela coloração de Gimenez. *C. burnetii*, que é o agente etiológico da febre Q, sobrevive a pasteurização a 60° C por 30 minutos, ou por meses em leite ou fezes secas. Essa resistência pode ser explicada pela formação de estruturas semelhantes a endósporos por *C. burnetii*. Esse microrganismo cresce somente no interior de vacúolos citoplasmáticos.

Antígenos e variação antigênica

Quando crescida em cultura celular, *C. burnetii* exibe várias fases. A fase I é a forma virulenta encontrada em indivíduos com febre Q, ou em animais vertebrados infectados. Essa é a forma infecciosa do microrganismo, sendo a expressão do lipopolissacarídeo um fator de virulência chave em sua patogênese. A fase II não é infecciosa e ocorre somente após passagens seriadas do microrganismo em cultura de células. Pacientes com sintomatologia clínica apresentam anticorpos tanto para antígenos de fase I quanto de fase II.

Epidemiologia

C. burnetii é encontrada em carrapatos que transmitem o agente para carneiros, cabras e gado bovino, porém a transmissão para seres humanos é incomum. As pessoas que trabalham em matadouros e fábricas de processamento de lã e pele de gado bovino contraem a doença em decorrência da manipulação dos tecidos de animais infectados. A transmissão de *C. burnetii* é maior pela via respiratória, do que através da pele. Pode ocorrer infecção crônica do úbere das vacas. Nesses casos, as riquetsias são excretadas no leite e raramente podem ser transmitidas aos seres humanos pela ingestão de leite não pasteurizado.

Os carneiros infectados podem excretar *C. burnetii* nas fezes e na urina, com a contaminação maciça de sua pele e da lã. A placenta de vacas, ovelhas, cabras e gatas contém riquetsias e o parto produz aerossóis infectantes. O solo pode ser intensamente contaminado por uma dessas fontes e a inalação de poeira infectada resulta em infecção de seres humanos e animais de criação. Foi sugerido que os endósporos formados por *C. burnetii* contribuam para sua persistência e sua disseminação. Na atualidade, a infecção por *Coxiella* está disseminada entre o gado bovino e o ovino nos EUA. *Coxiella* pode provocar endocardite (com a elevação dos títulos de anticorpos contra *C. burnetii*, fase I), além de pneumonite e hepatite.

Manifestações clínicas

A. Febre Q

A doença é disseminada mundialmente e ocorre primariamente em indivíduos que estão em contato com cabras, carneiros, vacas leiteiras ou gatas em trabalho de parto. Essa doença tem chamado a atenção de veterinários por surtos em centros médicos, onde um grande número de indivíduos foram expostos a animais infectados com espécies de *coxiella*. Essa doença pode ser aguda ou crônica. A doença aguda assemelha-se mais a pneumonia provocada pelo vírus *influenza* e a hepatite. Observa-se uma elevação dos títulos de anticorpos específicos contra antígenos de fase II de *C. burnetii*. A transmissão resulta da inalação de poeira contaminada com riquetsias provenientes da placenta, de fezes secas, urina ou leite, ou de aerossóis em abatedouros. Já na doença crônica, que pode se prolongar por mais de seis meses, o desenvolvimento de uma endocardite infecciosa é comum. As hemoculturas para bactérias são negativas e ocorrem títulos elevados de anticorpos contra *C. burnetii*, fase I. Praticamente, todos os pacientes apresentam anormalidades valvares preexistentes, ou apresentam algum comprometimento imunológico.

Exames laboratoriais

C. burnetii pode ser cultivada em cultura de células, porém esse procedimento deve ser somente realizado em laboratórios de nível III de segurança. A sorologia é usada para o diagnóstico, em que a imunofluorescência indireta é o método de escolha. O PCR também é útil no diagnóstico de endocardites com culturas negativas causadas por *C. burnetii*.

Tratamento

Doxiciclina é o fármaco de escolha terapêutico para a fase aguda da doença. Novos macrolídeos também têm sido efetivos no tratamento da pneumonia aguda provocada por esse microrganismo. A manifestação crônica requer tratamento prolongado por 18 meses ou mais, com associação de doxiciclina e hidroxicloroquina, sendo determinado pela avaliação dos níveis de anticorpos contra antígenos da fase I. Na endocardite infecciosa, a combinação terapêutica é necessária para prevenção de recidiva e ocasionalmente a troca de valva é necessária.

Prevenção

As condições atualmente recomendadas de pasteurização em “altas temperaturas de curta duração”, a 71,5°C, durante 15 segundos, são adequadas para destruir a *Coxiella* viável. Para *C. burnetii*, uma vacina produzida a partir de saco vitelino de ovos embrionados está disponível comercialmente apenas na Austrália, e é administrada em indivíduos que trabalham em laboratórios onde esse microrganismo é manipulado.

Verificação de conceitos

- *C. burnetii* é um microrganismo pequeno que apresenta parede celular semelhante a das bactérias gram-negativas, não se corando pelo método convencional de Gram. Esse microrganismo se multiplica no interior de vacúolos citoplasmáticos e causa a febre Q.
- *C. burnetii* apresenta duas formas antigênicas denominadas fase I e fase II. A fase I é a forma virulenta e infecciosa, enquanto a fase II é a forma avirulenta.
- *C. burnetii* é encontrada em cabras, ovelhas, vacas e em vários outros animais, que em geral são assintomáticos. A transmissão no ser humano ocorre por inalação de poeira contaminada com o microrganismo proveniente da placenta, de fezes secas, urina ou leite, ou de aerossóis em abatedouros.
- A febre Q é caracterizada por uma infecção aguda ou crônica. A pneumonia aguda e a hepatite estão associadas a anticorpos contra antígenos de fase II e a endocardite infecciosa (a manifestação clínica mais comum da infecção crônica) está associada a anticorpos contra antígenos de fase I.
- O diagnóstico clínico é confirmado com testes sorológicos, ou por PCR realizados em laboratórios de referência.
- A doxiciclina é o fármaco de escolha terapêutica nas infecções agudas e crônicas. Nas infecções crônicas, ela está associada a hidroxicloroquina.

QUESTÕES DE REVISÃO

- As mórulas (inclusões intracelulares em leucócitos) são características de qual das seguintes doenças?
 - Malária decorrente de infecção por *Plasmodium falciparum*, mas não por *Plasmodium malariae*
 - Dengue
 - Infecção por *Babesia* (babesiose)
 - Infecção por *Ehrlichiae* (ehrlichiose)
 - Loa loa
- Qual das seguintes afirmativas sobre o tifo epidêmico (*Rickettsia prowazekii*) é a mais correta?
 - A doença ocorre principalmente na África Subsaariana
 - É transmitido por carrapatos
 - Os camundongos são reservatórios da bactéria
 - Historicamente, a doença ocorre em períodos de prosperidade
 - O recrudescimento da doença pode ocorrer muitos anos após a infecção inicial
- O fármaco de maior utilidade para tratar ehrlichiose é:
 - Doxicilina
 - Penicilina G
 - Sulfametoxazol-trimetoprima
 - Gentamicina
 - Nitrofurantoína
- Uma doença caracterizada por mal-estar, cefaleia e febre desenvolveu-se em membros de diversas famílias que vivem em uma casa não aquecida, danificada pela guerra, em um país do Leste Europeu. Exantemas eritematosos de 2 a 6 mm maculosos avermelhados apareceram nas pessoas na região do tronco e, posteriormente, nas extremidades. Algumas pessoas apresentaram tosse. Uma pessoa idosa, embora doente, apresentou-se com menos sintomas que os demais adultos. As pessoas ficavam muito próximas para se aquecerem, e a presença de piolhos era comum. Qual das seguintes afirmativas é a mais correta?
 - A doença que essas pessoas tiveram é comum nos EUA, nos Estados das Montanhas Rochosas
 - A pessoa idosa pode ter tido um quadro agudo de tifo epidêmico muitos anos atrás e tifo recrudescente agora
 - As pulgas de roedores presentes na casa disseminaram *Rickettsia typhi*
 - O hospedeiro primário dos piolhos que infectaram as pessoas é o rato
 - O tifo epidêmico pode ser prevenido por uma vacina
- Qual das seguintes afirmativas sobre *Ehrlichiae* e ehrlichiose é a mais correta?
 - Os cães e camundongos são considerados reservatórios
 - Os mosquitos são vetores
 - O tratamento de escolha é o uso de ampicilina
 - A cultura é o melhor método para se confirmar o diagnóstico
 - As ehrlichiae são encontradas tipicamente nos linfócitos
- Um grupo de adolescentes urbanos visita um rancho de criação de ovelhas em um grande Estado do Oeste dos EUA, por um período de duas semanas. Nesse período, muitas ovelhas prenhes deram à luz, para deleite dos jovens observadores. Cerca de 10 dias mais tarde, três dos adolescentes desenvolveram um quadro semelhante ao da gripe, caracterizado por mal-estar, tosse e febre. Um deles apresentou uma infiltração ao exame de raios X, indicando pneumonia. Os três adolescentes visitaram diferentes médicos, os quais solicitaram coleta de sangue e enviaram à unidade de saúde para a realização de testes sorológicos. As três amostras deram resultado positivo para febre Q. Os pesquisadores de saúde pública observaram que os três adolescentes haviam estado no rancho de criação de ovelhas. Quando contataram o rancho, foram informados de que não houvera qualquer caso de febre Q e que nenhuma das pessoas que viviam no rancho apresentara a doença. A explicação mais provável para a doença nos adolescentes e o fato de nenhuma das pessoas do rancho ter contraído a doença é:
 - Não houve febre Q no rancho, tendo eles adquirido a doença em outro lugar
 - As pessoas do rancho estavam previamente imunizadas contra a febre Q
 - Os adolescentes contraíram febre Q no rancho, e as pessoas que viviam no rancho tiveram febre Q anteriormente, estando imunes à doença
 - Os adolescentes tiveram outras doenças, e o diagnóstico de febre Q foi mal relatado
 - O laboratório de saúde pública cometeu um erro nos testes diagnósticos de febre Q
- Um esportista de meia-idade, residente em área rural no Estado de Oklahoma, EUA, fez uma caminhada por uma floresta de madeira de corte próxima a sua casa. Na manhã seguinte, observou e retirou um carrapato grande (> 1 cm) de seu antebraço. Cerca de uma semana depois, apresentou um início gradual de febre e mal-estar. Procurou atendimento médico porque estava preocupado com a possibilidade de infecção transmitida por carrapatos. Qual das seguintes doenças é a mais provável de ser adquirida de carrapatos?
 - Dengue
 - Febre maculosa das Montanhas Rochosas
 - Tifo
 - Febre amarela
 - Malária
- Qual dos seguintes fármacos *não* deve ser empregado para tratar febre maculosa das Montanhas Rochosas (infecção por *Rickettsia rickettsii*)?
 - Sulfametoxazol-trimetoprima
 - Cloranfenicol
 - Doxiciclina
- Qual das seguintes alternativas deve ser usada para prevenir febre maculosa das Montanhas Rochosas (infecção por *Rickettsia rickettsii*)?
 - Vacina atenuada de *Rickettsia rickettsii*
 - Doxicilina profilática
 - Prevenção de picadas de carrapato com o uso de roupas apropriadas
 - Despiolhamento com inseticida
- Uma semana após uma caçada a veados em uma floresta, um homem de 33 anos de idade desenvolveu febre de 39° C com cefaleia e mal-estar. Nas 24 h subsequentes, desenvolveu náuseas, vômitos, dores abdominais e diarreia. No quarto dia, surgiu exantema, inicialmente nos punhos e tornozelos, que evoluiu progressivamente, atingindo os braços, o tronco, as palmas das mãos e plantas dos pés. De início, o exantema era macular, mas evoluiu de forma rápida para maculopápulas, algumas com petéquias centrais. Foi diagnosticada febre maculosa das Montanhas Rochosas, causada por *Rickettsia rickettsii*. Qual das seguintes afirmativas sobre a febre maculosa das Montanhas Rochosas está correta?
 - Não houve febre Q no rancho, tendo eles adquirido a doença em outro lugar
 - As pessoas do rancho estavam previamente imunizadas contra a febre Q
 - Os adolescentes contraíram febre Q no rancho, e as pessoas que viviam no rancho tiveram febre Q anteriormente, estando imunes à doença
 - Os adolescentes tiveram outras doenças, e o diagnóstico de febre Q foi mal relatado
 - O laboratório de saúde pública cometeu um erro nos testes diagnósticos de febre Q

- (A) Os vetores da *Rickettsia rickettsii* são os carrapatos do gênero *Ixodes*
- (B) Um exantema característico surge no quarto dia após a infecção
- (C) A *Rickettsia rickettsii* forma inclusões em monócitos
- (D) A resposta humoral do paciente pode não ocorrer até a segunda semana de doença
- (E) Nos EUA, a incidência mais alta da doença ocorre nos Estados das Montanhas Rochosas
11. O tratamento para endocardite observada na febre Q é:
- (A) Cirurgia de emergência; antibióticos não são efetivos no tratamento
- (B) Levofloxacino por seis semanas
- (C) Dezoito meses em terapia combinada com doxiciclina e hidroxicloroquina
- (D) Penicilina mais gentamicina, usando títulos de IgG para determinação da duração da terapia
12. A *Coxiella burnetii* pode ser transmitida pelo leite de animais, tais como cabras e vacas infectadas. Atualmente, se recomenda o processo de pasteurização de curta duração com temperatura elevada, visando a destruição do microrganismo viável.
- (A) Verdadeiro
- (B) Falso
13. A principal característica histopatológica da infecção causada por *Rickettsia rickettsii* é
- (A) Mórula com granulócitos
- (B) Mórula com monócitos
- (C) Vacúolos intracelulares
- (D) Inflamação granulomatosa
- (E) Linfócitos perivasculares
14. Todas as seguintes afirmações sobre a riquetsiose variceliforme são corretas, *exceto*:
- (A) A causa da doença é a *R. akari*
- (B) O carrapato do gênero *Amblyomma* é considerado o vetor
- (C) A doença é mais comum na área urbana do que na rural
- (D) É uma doença branda
15. As razões pelas quais *C. burnetii* é considerada um agente potencial para bioterrorismo incluem
- (A) É adquirida por inalação
- (B) É extremamente infecciosa
- (C) Pode ser difícil de ser tratada, dependendo da fase de infecção
- (D) A pneumonia pode ser grave
- (E) Todas as afirmações anteriores

Respostas

- | | | | |
|------|------|-------|-------|
| 1. D | 5. A | 9. C | 13. E |
| 2. E | 6. C | 10. D | 14. B |
| 3. A | 7. B | 11. C | 15. E |
| 4. B | 8. A | 12. A | |

REFERÊNCIAS

- Gikas A, Kokkini S, Tsioutis C: Q fever: Clinical manifestations and treatment. *Expert Rev Anti Infect Ther* 2010;8:529–539.
- Graves SR, Massung RF. *Coxiella*. In Versalovic J, Carroll KC, Funke G et al. (editors). *Manual of Clinical Microbiology*, 10th ed. ASM Press, 2011.
- Reller ME, Dumler JS: *Ehrlichia*, *Anaplasma*, and related intracellular bacteria. In Versalovic J, Carroll KC, Funke G et al. (editors). *Manual of Clinical Microbiology*, 10th ed. ASM Press, 2011.
- Rickettsioses, Ehrlichioses and Anaplasmosis. Vol 2, Part III, Section E. In Mandell GL, Bennett JE, Dolin R et al. (editors). *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*, 7th ed. Elsevier, 2010.
- Thomas RJ, Dumler JS, Carlyon JA: Current management of human granulocytic anaplasmosis, human monocytic ehrlichiosis, and *Ehrlichia ewingii* ehrlichiosis. *Expert Rev Anti Infect Ther* 2009;7:709–722.
- Walker DH, Bouyer DH. *Rickettsia* and *Orientia*. In Versalovic J, Carroll KC, Funke G et al. (editors). *Manual of Clinical Microbiology*, 10th ed. ASM Press, 2011.

Chlamydia spp.

As clamídias que infectam os seres humanos são divididas em três espécies: *Chlamydia trachomatis*, *Chlamydia (Chlamydophila) pneumoniae* e *Chlamydia (Chlamydophila) psittaci*, com base na composição antigênica, na presença de inclusões intracelulares, na suscetibilidade a sulfonamidas e na produção de doença. A separação do gênero *Chlamydia* em gêneros *Chlamydia* e *Chlamydophila* é controversa; neste capítulo, as três clamídias que são patógenos para seres humanos são consideradas como gênero *Chlamydia*. Outras clamídias infectam animais, mas raramente ou nunca infectam os seres humanos. Todas as clamídias exibem características morfológicas semelhantes, têm em comum um antígeno de grupo e multiplicam-se no citoplasma das células do hospedeiro por um ciclo de desenvolvimento distinto. As clamídias podem ser consideradas bactérias gram-negativas que carecem de mecanismos para a produção de energia metabólica e que, portanto, são incapazes de sintetizar adenosina trifosfato (ATP). Isso as restringe a uma existência intracelular, em que a célula do hospedeiro fornece intermediários ricos em energia. Por conseguinte, as clamídias são **parasitos intracelulares obrigatórios**.

Ciclo de desenvolvimento

Todas as clamídias compartilham um único ciclo de desenvolvimento bifásico. A partícula infecciosa estável no meio ambiente consiste em uma pequena célula chamada **corpo elementar (CE)**. As clamídias têm cerca de 0,3 μm de diâmetro (Fig. 27.1), com nucleóide eletrondenso. As proteínas da membrana do CE possuem acentuada ligação cruzada. Os CEs têm alta afinidade com as células epiteliais do hospedeiro, penetrando nelas rapidamente. Parecem múltiplas adesinas, receptores e mecanismos de entrada. Os proteoglicanos semelhantes ao sulfato de heparan, presentes na superfície da *C. trachomatis*, provavelmente constituem os elementos para mediar pelo menos a interação inicial entre os CEs e as células hospedeiras. Outras adesinas potenciais são a proteína de membrana externa principal (*major outer membrane protein* [MOMP]), MOMP glicosilada e outras proteínas de superfície. Os mecanismos que se acredita possam mediar à entrada dos microrganismos na célula hospedeira também são variados. Em geral, os CEs fixam-se próximo à base das microvilosidades, onde são subsequentemente ingeridos pela célula hospedeira. Mais de um mecanismo parece funcional: endocitose em depressões recobertas por clatrina, mediada por receptores, e pinocitose através de depressões não recobertas. A fusão dos lisossomos é inibida, criando-se um ambiente protegido, delimitado por

membrana, em torno das clamídias. Pouco depois da entrada dos microrganismos na célula hospedeira, as ligações dissulfeto das proteínas de membrana do CE não exibem mais ligação cruzada e o CE reorganiza-se em uma grande estrutura, denominada **corpo reticulado (CR)**, de cerca de 0,5 a 1 μm (Fig. 27.1), desprovido de nucleóide eletrondenso. No interior do vacúolo delimitado por membrana, o CR aumenta de tamanho e divide-se repetidamente por divisão binária. Posteriormente, todo o vacúolo fica preenchido com CE provenientes dos corpúsculos reticulados, formando uma inclusão citoplasmática. Os CEs recém-formados podem ser liberados da célula hospedeira, infectando novas células. O ciclo de desenvolvimento dura 24 a 48 horas.

Estrutura e composição química

Nas clamídias, a **parede celular** externa assemelha-se a das bactérias gram-negativas, com conteúdo relativamente alto de lipídeos. É rígida, mas não contém um peptidoglicano bacteriano típico; entretanto, o genoma clamidial contém os genes necessários à síntese do peptidoglicano. As proteínas de ligação às penicilinas existem nas clamídias, e a formação da parede celular desses microrganismos é inibida por penicilinas e outros fármacos que inibem a transpeptidação do peptidoglicano bacteriano. A lisozima não tem efeito sobre as paredes celulares das clamídias. Parece não haver o ácido *N*-acetilmurâmico nas paredes celulares das clamídias. Tanto o DNA quanto o RNA são encontrados nos CEs e nos CRs. Os CRs contêm cerca de quatro vezes mais RNA do que DNA, enquanto os CEs apresentam quantidades aproximadamente iguais de RNA e DNA. Nos CEs, a maior parte do DNA concentra-se no nucleóide central eletrondenso. A maior parte do RNA é encontrada nos ribossomos. O genoma circular das clamídias é de 1 a 1,3 megabases de extensão, sendo semelhante aos cromossomos de algumas bactérias.

Diversos genomas de clamídias foram sequenciados, fornecendo informações sobre a biologia básica desses microrganismos. Por exemplo, as clamídias possuem o sistema de secreção tipo III, que lhes permite injetar proteínas efetoras no interior das células hospedeiras como parte do processo infeccioso.

Propriedades tintoriais

As clamídias exibem propriedades tintoriais distintas (semelhantes às das riquetsias). Os CEs coram-se de púrpura pelo método de Giemsa — diferente da cor azul do citoplasma da

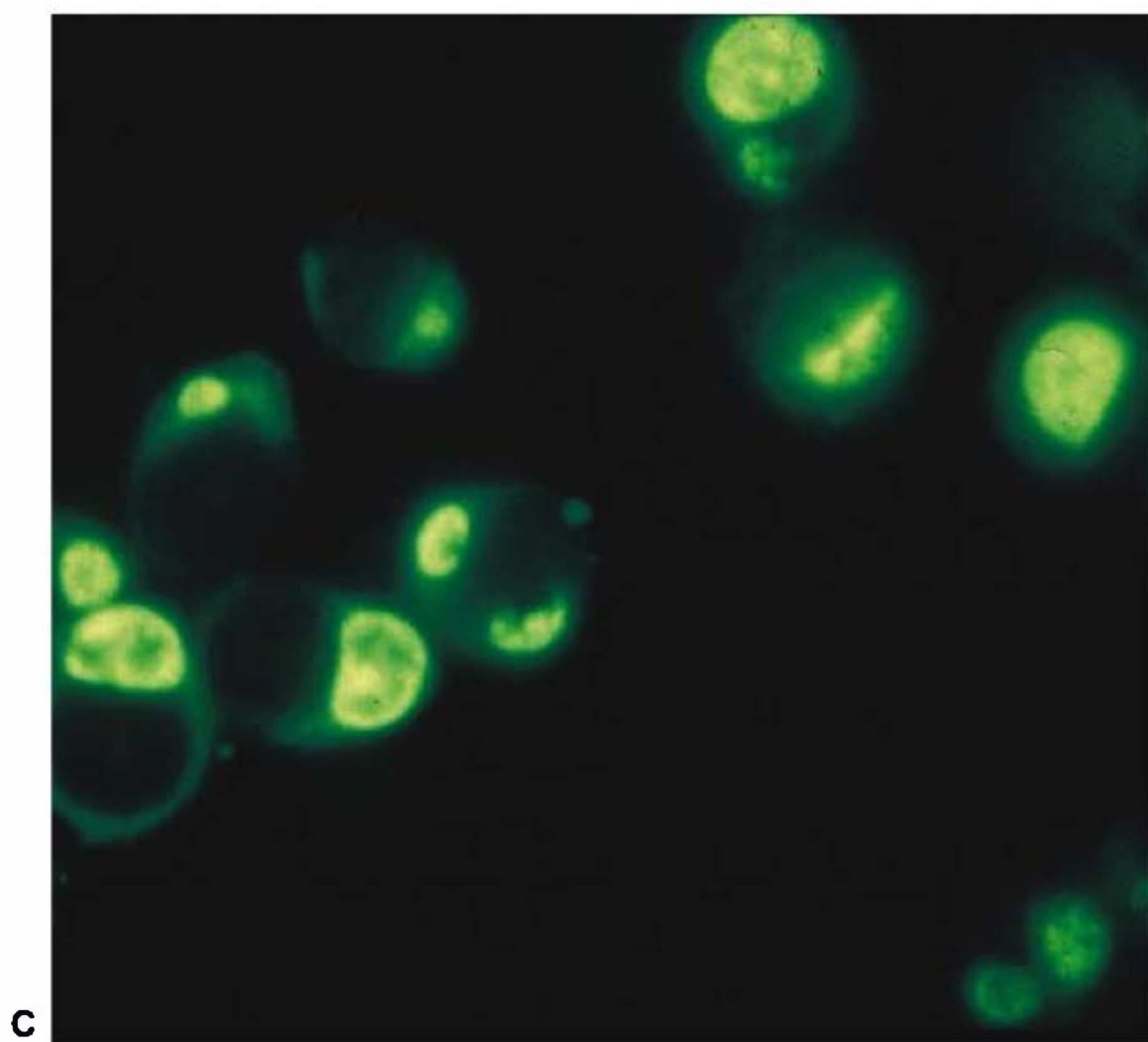
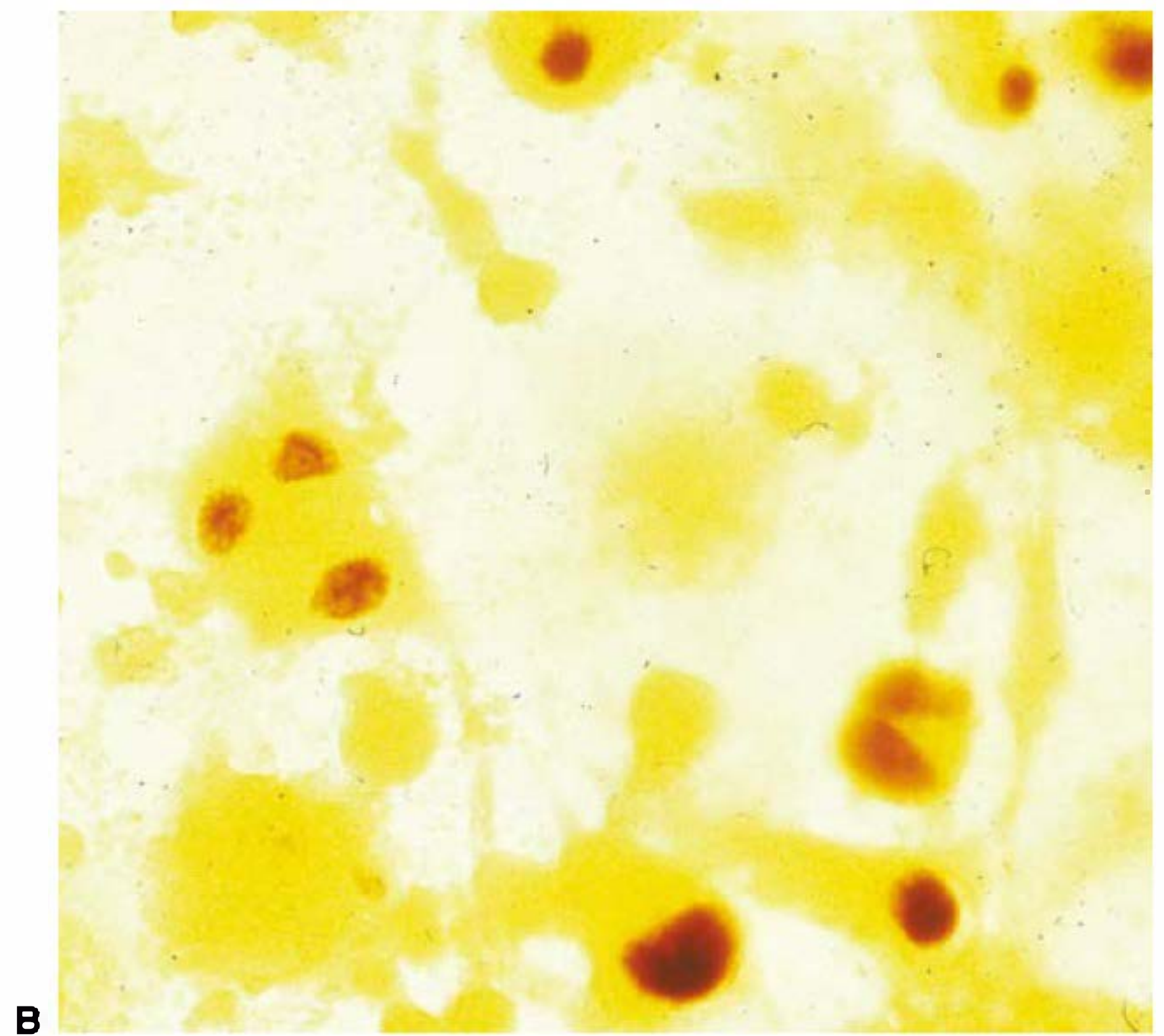
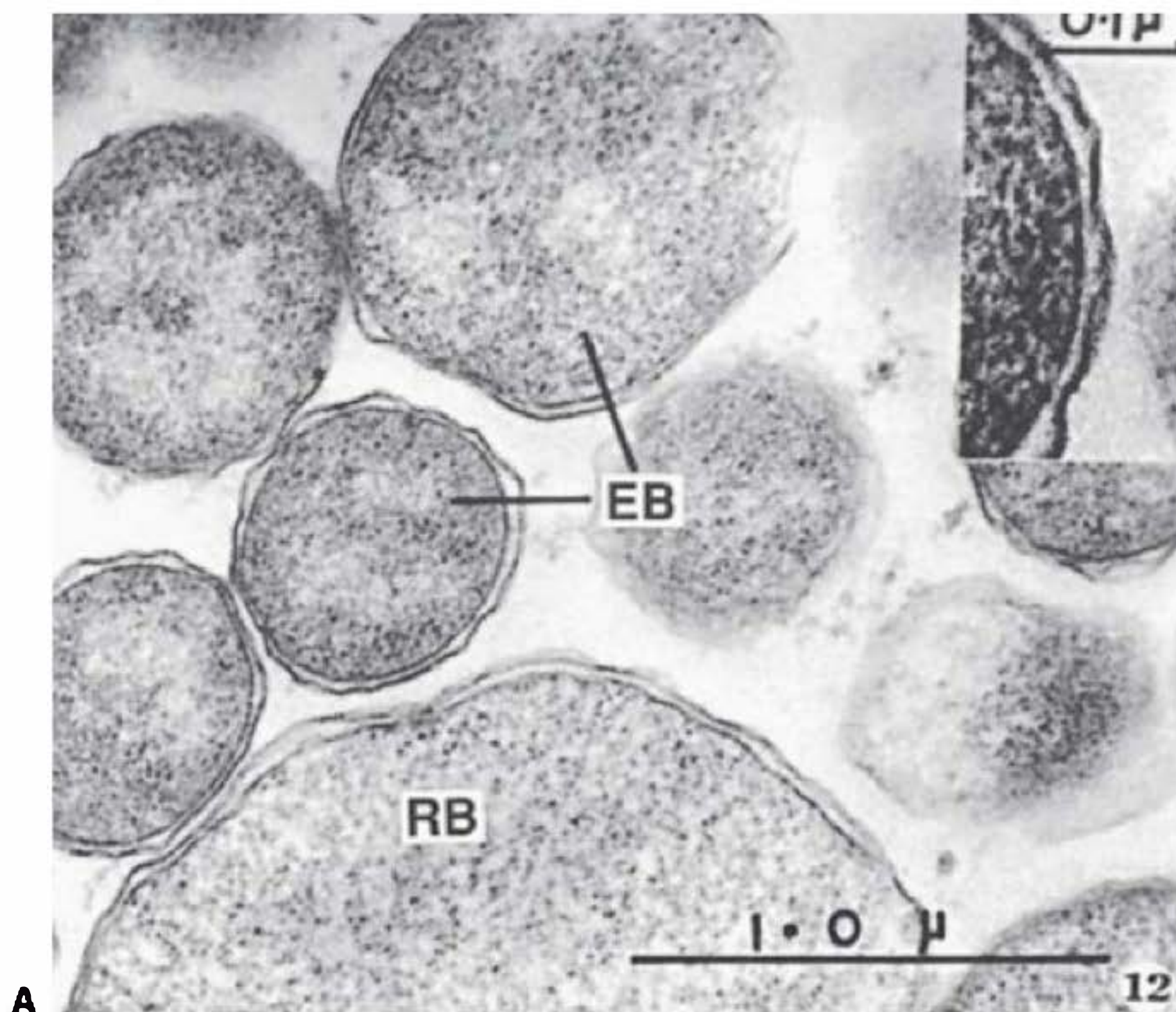


FIGURA 27.1 Clamídias. (A) Microscopia eletrônica de clamídia em vários estágios de desenvolvimento. (CE, partículas de corpos elementares com paredes celulares [inserção]; CR, corpo reticulado.) (B) *Chlamydia trachomatis* crescida em células McCoy e coradas com iodo. As células de McCoy coram-se em amarelo-fraco ao fundo. As inclusões intracitoplasmáticas ricas em glicogênio de *C. trachomatis* estão coradas em marrom-escuro. (C) Crescimento similar de *C. trachomatis* em células McCoy coradas com um anticorpo marcado com fluoresceína contra antígenos de espécies de *C. trachomatis*. As inclusões intracitoplasmáticas de *Chlamydia trachomatis* estão coradas de amarelo-esverdeado brilhante. Os contornos das células de McCoy estão visíveis. (Cortesia de J. Schachter.)

célula hospedeira. Os CRs maiores e não infecciosos coram-se de azul pelo método de Giemsa. A reação de Gram das clamídias é negativa ou variável, não sendo útil para a identificação desses agentes. As partículas das clamídias e suas inclusões coram-se intensamente por imunofluorescência, com anticorpos específicos do grupo, da espécie ou da sorovariante.

As inclusões intracelulares maduras e totalmente formadas de *C. trachomatis* consistem em massas compactas localizadas próximo ao núcleo, que se coram de púrpura-escuro pelo método de Giemsa devido às partículas maduras densamente agrupadas. Se forem coradas com solução de iodo de Lugol diluída, algumas das inclusões de *C. trachomatis* (mas não de *C. pneumoniae* nem de *C. psittaci*) exibirão coloração castanha devido à matriz de glicogênio que circunda as partículas (ver Fig. 27.1). As inclusões de *C. psittaci* consistem em agregados intracitoplasmáticos difusos.

Antígenos

As clamídias compartilham **antígenos de grupo específicos (do gênero)**. Trata-se de lipopolissacarídeos termoestáveis, cujo componente imunodominante é o ácido 2-ceto-3-desoxioctanoico. É possível detectar a presença de anticorpos dirigidos contra esses antígenos específicos do gênero por **fixação do complemento (FC)** e imunofluorescência. Os antígenos **específicos da espécie** ou **específicos da sorovariante** consistem principalmente em proteínas da membrana externa. Os antígenos específicos podem ser melhor detectados por **imunofluorescência**, particularmente quando são utilizados anticorpos monoclonais. Os antígenos específicos são compartilhados apenas por um número limitado de clamídias; entretanto, um determinado microrganismo pode conter vários antígenos específicos. Existem ao menos 18 **sorotipos** de *C. trachomatis*,

tais como os sorotipos A, B, Ba, C e K e L1 a L3. Vários sorotipos de *C. psittaci* podem ser demonstrados por testes de FC e **microimunofluorescência**. Foi descrito apenas um sorotipo de *C. pneumoniae*.

Crescimento e metabolismo

As clamídias necessitam de um *habitat* intracelular, visto que são incapazes de sintetizar ATP e dependem da célula hospedeira para suprir suas necessidades de energia. Crescem em culturas de uma variedade de linhagens celulares eucarióticas. Células de McCoy tratadas com cicloeximida costumam ser utilizadas para isolar clamídias; a *C. pneumoniae* cresce melhor em células HL ou HEp-2. Todos os tipos de clamídia proliferam em ovos embrionados, particularmente no saco vitelino.

Algumas clamídias apresentam metabolismo endógeno semelhante ao de outras bactérias, sendo capazes de liberar CO₂ a partir de glicose, piruvato e glutamato; além disso, contêm desidrogenases. Todavia, necessitam de intermediários ricos em energia, produzidos pela célula hospedeira para efetuar suas atividades de biossíntese.

A replicação das clamídias pode ser inibida por inúmeros antibacterianos. Os inibidores da parede celular, como as penicilinas e as cefalosporinas, resultam na produção de formas morfológicamente defeituosas, mas não são eficazes no sentido de causar doenças clínicas. Os inibidores da síntese proteica (tetraciclinas, eritromicinas) mostram-se eficazes na maioria das infecções clínicas. As cepas da *C. trachomatis* sintetizam folatos e são suscetíveis à inibição por sulfonamidas. Os aminoglicosídeos não são inibitórios.

Características da relação hospedeiro-parasito

O aspecto biológico notável da infecção por clamídias consiste no equilíbrio com frequência atingido entre o hospedeiro e o parasito, resultando em persistência prolongada da infecção. A infecção subclínica é a regra — a doença franca é uma exceção — nos hospedeiros naturais desses microrganismos. A disseminação de uma espécie para outra (p. ex., das aves para os seres

humanos, como na psitacose) resulta com mais frequência em doença. O hospedeiro infectado produz regularmente anticorpos dirigidos contra vários antígenos de clamídias. Esses anticorpos exercem pouco efeito protetor contra uma reinfecção. Em geral, o agente infeccioso persiste na presença de títulos elevados de anticorpos. O tratamento com antimicrobianos eficazes (p. ex., tetraciclinas) durante períodos prolongados pode eliminar as clamídias do hospedeiro infectado. Em uma fase muito precoce, o tratamento intensivo pode suprimir a formação de anticorpos. O tratamento tardio com antimicrobianos em doses moderadas pode suprimir a doença, mas propicia a persistência do agente infectante nos tecidos.

Singularmente, a imunização dos seres humanos não tem sido bem-sucedida em termos de proteção contra a reinfecção. Infecção ou imunização anteriores tendem, quando muito, a resultar em doença mais leve em caso de reinfecção, mas às vezes a hipersensibilização concomitante agrava a inflamação e o processo de cicatrização (p. ex., no tracoma).

Classificação

As clamídias são classificadas de acordo com seu potencial patogênico, com a quantidade de hospedeiros, diferenças antigênicas e outros métodos. Três espécies que infectam os seres humanos foram caracterizadas (Quadro 27.1).

A. *Chlamydia trachomatis*

Estas espécies produzem inclusões intracitoplasmáticas compactas que contêm glicogênio. Comumente, são inibidas pelas sulfonamidas. Constituem agentes de vários distúrbios em seres humanos, como o tracoma, a conjuntivite de inclusão, a uretrite não gonocócica, salpingite, cervicite, pneumonite de lactentes e linfogranuloma venéreo (*lymphogranuloma venereum* [LGV]).

B. *Chlamydia (Chlamydophila) pneumoniae*

Produzem inclusões intracitoplasmáticas que carecem de glicogênio. Em geral, são resistentes às sulfonamidas. Causam infecções das vias respiratórias em seres humanos.

QUADRO 27.1 Características das clamídias

	<i>Chlamydia trachomatis</i>	<i>Chlamydophila pneumoniae</i>	<i>Chlamydia psittaci</i>
Morfologia das inclusões	Redondas, vacuolares	Redondas, densas	Grandes, formas variáveis, densas
Glicogênio nas inclusões	Sim	Não	Não
Morfologia dos corpos elementares	Redondos	Piriformes, redondos	Redondos
Sensíveis a sulfonamidas	Sim	Não	Não
Plasmídeo	Sim	Não	Sim
Sorotipos	15	1	≥ 4
Hospedeiro natural	Seres humanos	Seres humanos	Aves
Modo de transmissão	Pessoa para pessoa, mãe para filho	Pelo ar, de pessoa para pessoa	Pelo ar, excrementos de aves para seres humanos
Principais doenças	Tracoma, DSTs, pneumonia infantil, linfogranuloma venéreo	Pneumonia, bronquite, faringite, sinusite	Psitacose, pneumonia, febre de origem inexplicada

C. *Chlamydia (Chlamydophila) psittaci*

Produzem inclusões intracitoplasmáticas difusas que carecem de glicogênio. Em geral, mostram-se resistentes às sulfonamidas. Consistem em agentes da psitacose nos seres humanos, da ornitose em aves, da pneumonite em felinos e de outras doenças em animais.

CHLAMYDIA TRACHOMATIS: INFECÇÕES OCULARES, GENITAIS E RESPIRATÓRIAS

Os seres humanos são os hospedeiros naturais de *C. trachomatis*. Os macacos e chimpanzés podem ser infectados nos olhos e no trato genital. *C. trachomatis* também se multiplica em células em cultura de tecido. *C. trachomatis* de diferentes sorotipos multiplicam-se de modo diferente. Os microrganismos isolados do tracoma não crescem tão bem quanto os do LGV, ou os das infecções genitais. A replicação intracitoplasmática resulta na formação de inclusões compactas com matriz de glicogênio, na qual estão mergulhados os CE.

Os antissoros específicos do imunotipo permitem a tipagem dos microrganismos isolados, fornecendo resultados análogos aos obtidos com tipagem por microimunofluorescência. As sorovariantes especificamente associadas ao tracoma endêmico são A, B, Ba e C; as associadas a doenças sexualmente transmissíveis são D a K; e as que causam o LGV são L1, L2 e L3.

TRACOMA

O tracoma é uma doença ocular antiga, bem descrita no Papiro de Ebers, escrito no Egito há 3.800 anos. Trata-se de uma ceratoconjuntivite crônica que começa com alterações inflamatórias agudas na conjuntiva e na córnea, progredindo para a formação de cicatrizes e cegueira. Os sorotipos de *C. trachomatis* A, B, Ba e C estão associados ao tracoma clínico.

Manifestações clínicas

Nas infecções humanas experimentais, o período de incubação da infecção da conjuntiva por clamídias é de 3 a 10 dias. Nas áreas endêmicas, ocorre infecção inicial no início da infância, e a instalação da consequência a longo prazo, o tracoma, é insidiosa. A infecção por clamídias está frequentemente associada a conjuntivite bacteriana nas áreas endêmicas, e as duas infecções juntas produzem o quadro clínico. Os primeiros sintomas de tracoma consistem em lacrimejamento, secreção mucopurulenta, hiperemia conjuntival e hipertrofia folicular. O exame microscópico da córnea revela ceratite epitelial, infiltrados subepiteliais e extensão dos vasos límbicos na córnea (pano). À medida que o pano se estende para baixo, através da córnea, ocorrem cicatrizações da conjuntiva, deformidades das pálpebras (entrópio, triquíase) e outras lesões provocadas pelos cílios movendo-se através da córnea. Na presença de infecção bacteriana secundária, a perda da visão avança no decorrer de alguns anos. Entretanto, não há sinais nem sintomas sistêmicos de infecção.

Diagnóstico laboratorial

O diagnóstico laboratorial das infecções por clamídias é discutido também no Capítulo 47.

A. Cultura

Inclusões citoplasmáticas típicas são encontradas em células epiteliais de raspados da conjuntiva corados com anticorpo fluorescente ou pelo método de Giemsa. Essas inclusões são observadas com mais frequência nos estágios iniciais da doença, na conjuntiva tarsal superior.

A inoculação de raspados da conjuntiva em culturas de células de McCoy tratadas com ciclo-heximida favorece o crescimento da *C. trachomatis*, se o número de partículas infecciosas virais for suficientemente grande. A centrifugação do inóculo nas células aumenta a sensibilidade do método. Algumas vezes, é possível estabelecer o diagnóstico na primeira passagem depois de 2 a 3 dias de incubação, pesquisando a presença de inclusões por imunofluorescência, coloração por iodo ou pelo método de Giemsa.

B. Sorologia

Os indivíduos infectados com frequência desenvolvem anticorpos específicos do grupo bem como da sorovariante no soro e nas secreções oculares. A imunofluorescência constitui o método mais sensível para sua detecção. Nem os anticorpos oculares e os anticorpos séricos conferem resistência significativa à reinfecção.

C. Métodos moleculares

Em países em desenvolvimento, onde o tracoma é endêmico, em geral não existem recursos para aplicar a reação em cadeia da polimerase (PCR) ou outros métodos moleculares no diagnóstico das infecções oculares causadas por *C. trachomatis*. Nos países desenvolvidos, há relativamente poucos casos e pouca necessidade de empregar esses métodos. Assim, os testes moleculares foram desenvolvidos para o diagnóstico de infecções genitais. Somente projetos de pesquisa utilizam a PCR em estudos sobre o tracoma.

Tratamento

Testes clínicos realizados em povoados onde o tracoma era endêmico, como o emprego do tratamento com azitromicina em massa, mostraram que as infecções e a doença clínica diminuíram bastante 6 a 12 meses após a terapia, mesmo com o emprego da terapia em dose única. Desse modo, a azitromicina substituiu o tratamento com eritromicina e doxicilina no tratamento em massa do tracoma epidêmico. A terapia tópica tem pouco valor clínico.

Epidemiologia e controle

Acredita-se que mais de 400 milhões de indivíduos em todo o mundo estejam infectados com tracoma e que 20 milhões tenham cegueira em razão disso. A doença é predominante na África, Ásia e bacia do Mediterrâneo, onde as condições higiênicas são precárias e a água é escassa. Nessas áreas hiperendêmicas, a infecção infantil pode ser universal, sendo comum a

ocorrência grave que causa cegueira (em consequência de superinfecção bacteriana frequente). Nos EUA, o tracoma ocorre de modo esporádico em algumas regiões, verificando-se a persistência de focos endêmicos.

A OMS iniciou o programa S-A-F-E para eliminar a cegueira causada pelo tracoma e ao menos reduzir significativamente a doença clinicamente ativa. O programa S-A-F-E consiste nas seguintes etapas: **S** (*surgery* — cirurgia) para deformidades oculares; **A** (Azitromicina, terapia periódica); **F** (*Face*, lavagem e higiene da face; melhoramento do meio ambiente (*Environmental*) com a construção de latrinas e diminuição do número de moscas que se alimentam de exsudatos conjuntivais. Fica claro que a melhora das condições socioeconômicas reforça o desaparecimento do tracoma endêmico.

INFECÇÕES GENITAIS E CONJUNTIVITE DE INCLUSÃO POR *CHLAMYDIA TRACHOMATIS*

C. trachomatis das sorovariantes D a K provoca doenças sexualmente transmissíveis — particularmente nos países desenvolvidos — e pode causar infecção ocular (conjuntivite de inclusão). Em homens sexualmente ativos, *C. trachomatis* causa **uretrite não gonocócica** e, em certas ocasiões, **epididimite**. Em mulheres, *C. trachomatis* provoca **uretrite**, **cervicite** e **doença inflamatória pélvica**, que pode resultar em **esterilidade** e predispor a **gravidez ectópica**. Proctite e proctocolite podem ocorrer no homem e na mulher, embora tais infecções aparentem ser mais comuns em homens que praticam sexo com homens. Qualquer um desses locais anatômicos de infecção pode dar origem a sinais e sintomas, ou a infecção pode permanecer assintomática, porém contagiosa para os parceiros sexuais. Até 50% dos casos de uretrite não gonocócica (em homens) ou de síndrome uretral (em mulheres) são atribuídos a clamídias, ocasionando disúria, secreção não purulenta e frequência urinária. As secreções genitais em adultos infectados podem ser autoinoculadas na conjuntiva, com a consequente conjuntivite de inclusão, uma infecção ocular muito semelhante ao tracoma agudo.

O recém-nascido adquire a infecção durante a passagem pelo canal do parto infectado. Provavelmente, 20 a 60% dos lactentes de mães infectadas adquirem a infecção, e 15 a 20% dos lactentes infectados apresentam sintomas oculares, enquanto 10 a 40% exibem comprometimento do trato respiratório. A **conjuntivite de inclusão do recém-nascido** manifesta-se inicialmente em forma de conjuntivite mucopurulenta 7 a 12 dias após o parto, tendendo a desaparecer mediante tratamento com eritromicina ou tetraciclina, ou de forma espontânea depois de várias semanas ou meses. Em certas ocasiões, a conjuntivite de inclusão persiste em forma de infecção crônica por clamídias, com quadro clínico indistinguível daquele observado no tracoma infantil, subagudo ou crônico, em áreas não endêmicas; em geral, não está associada a conjuntivite bacteriana.

Diagnóstico laboratorial

A. Coleta de amostras

A correta coleta de amostras é a chave do diagnóstico laboratorial das infecções por clamídia. Pelo fato de as clamídias serem bactérias intracelulares obrigatórias, é importante que a

amostra contenha células humanas infectadas, bem como material extracelular no qual podem também estar presentes. São obtidas amostras endocervicais após a remoção do corrimento e das secreções do colo uterino. Utilizam-se um *swab* ou uma escova de citologia para obter raspados de células epiteliais de 1 a 2 cm de profundidade na endocérvice. Para a coleta da amostra, deve-se utilizar uma haste de plástico com dácron, algodão, raiom ou alginato de cálcio, visto que alguns outros materiais de *swab* ou hastes de madeira são tóxicos para as clamídias. Um método similar é usado para coletar amostras da vagina, da uretra ou da conjuntiva. Os testes de diagnóstico comerciais não cultiváveis para clamídia não requerem microrganismos viáveis. Em geral, esses testes incluem *swabs* para a coleta de amostra e tubos de transporte que se mostraram adequados para os testes específicos. Para o cultivo, as amostras obtidas com *swab* devem ser colocadas em meio de transporte para clamídias e mantidas à temperatura do refrigerador antes de serem transportadas para o laboratório.

A urina pode ser testada para a presença de ácidos nucleicos de clamídias. Somente os primeiros 20 mL devem ser coletados, pois um volume maior de urina diluiria a urina inicial que passa pela uretra; isso pode resultar em resultados negativos devido a diluição da amostra.

B. Detecção de ácidos nucleicos

Ensaio de hibridização — Nos testes de hibridização de ácidos nucleicos, uma sonda de DNA hibridiza com uma sequência do RNAr 16S específica da espécie de clamídia; as clamídias possuem até 10^4 cópias do RNAr 16S. Uma vez formados, os híbridos são absorvidos em pérolas de vidro, e em seguida a quantidade de híbridos é detectada por quimioluminescência. Outro ensaio de hibridização emprega sondas RNA para detecção de sequências do DNA de clamídias. Em geral, a sensibilidade e a especificidade desses testes são boas, mas não melhores que as dos testes de amplificação de ácidos nucleicos (*Nucleic acid amplification tests* [NAATs]). Entretanto, os testes de hibridização são mais baratos que os NAATs.

Testes de amplificação de ácidos nucleicos — Os NAATs são os testes de escolha para o diagnóstico das infecções genitais por *C. trachomatis*. Existem vários ensaios aprovados pela Food and Drug Administration (FDA) disponíveis no mercado americano. Eles usam uma variedade de métodos moleculares, incluindo PCR, amplificação por deslocamento de cadeia (*strand displacement amplification* [SDA]) e amplificação mediada por transcrição (*transcription-mediated amplification* [TMA]). Esses testes estão se tornando amplamente difundidos e vêm substituindo os ensaios de hibridização. Contudo, apesar de serem altamente sensíveis e específicos, não são perfeitos. Novos ensaios para o diagnóstico das infecções por clamídias podem ser comparados para combinação de dois NAATs como padrão de referência. Os espécimes clínicos que podem ser usados para os NAATs incluem urina de primeiro jato para homens e *swab* vaginal, cervical e uretral para mulheres. Plataformas para o uso de espécimes extragenitais, como amostras retais, da conjuntiva e da orofaringe, estão em processo de validação, até o momento.

Alguns testes de detecção de ácidos nucleicos foram adaptados para detectar simultaneamente *Neisseria gonorrhoeae*.

Entretanto, deve-se tomar cuidado quando se tem resultados positivos para *N. gonorrhoeae* por esses testes de rastreamento; quando o teste para detectar *N. gonorrhoeae* tem 99% de sensibilidade e 99% de especificidade e a prevalência de infecção é de 0,5 a 1%, o valor preditivo positivo para um teste é menor que 50%. Nesse tipo de ensaio, um resultado positivo deve ser confirmado por cultivo ou por um segundo método de detecção de ácidos nucleicos.

C. Exame citológico direto (anticorpo fluorescente direto ou AFD) e imunoensaio ligado a enzima

Os testes comercialmente disponíveis de anticorpo fluorescente direto (AFD) e de imunoensaio ligado à enzima (Elisa) para detectar *C. trachomatis* continuam a ser utilizados por vários laboratórios. O teste AFD usa anticorpos monoclonais direcionados contra um antígeno específico da espécie na MOMP clamidial. Os testes Elisa detectam a presença de antígenos específicos do gênero extraídos dos CEs da espécie. Os testes AFD continuam úteis na detecção de microrganismo em amostras extragenitais, como *swab* da conjuntiva. Contudo, por apresentarem baixa sensibilidade estão sendo desconsiderados como testes aceitáveis para rastreamento, tanto de infecções clamidiais quanto gonocócicas.

D. Cultura

A cultura de *C. trachomatis* tem sido utilizada historicamente para o diagnóstico das infecções por clamídia. A cultura, entretanto, é custosa e árdua. Os resultados são muito demorados quando comparados com os NAATs e outros testes. Em geral, a cultura é muito menos sensível do que NAATs; o grau de (baixa) sensibilidade é largamente dependente do método de cultivo empregado. Atualmente, o cultivo é feito em um número limitado de laboratórios de referência. As células de McCoy são cultivadas em monocamadas em garrafas ou frascos de cultivo de células. Alguns laboratórios utilizam placas de fundo chato, com poços de microdiluição, mas o cultivo por este método não é tão sensível como aquele obtido quando se empregam frascos de cultivo. As células de McCoy são tratadas com ciclo-heximidina para inibir o metabolismo e aumentar a sensibilidade de isolamento das clamídias. O inóculo da amostra contida no *swab* é centrifugado em monocamada e incubado a 35 a 37°C por 48 a 72 horas. Uma segunda monocamada pode ser inoculada e, após a incubação, pode ser sonicada e passada para outra monocamada, para realçar a sensibilidade. As monocamadas são examinadas por imunofluorescência direta para se visualizarem as inclusões citoplasmáticas. O cultivo de clamídias por este método tem 80% de sensibilidade e 100% de especificidade.

E. Sorologia

Em virtude da massa antigênica relativamente grande de clamídias nas infecções do trato genital, os anticorpos séricos ocorrem com muito mais frequência do que no tracoma e aparecem em títulos mais elevados. Verifica-se uma elevação dos títulos durante e após a infecção aguda por clamídias. Em algumas sociedades, em virtude da alta prevalência de infecções do trato genital por clamídias, observa-se a existência de anticorpos contra as clamídias na população; as provas sorológicas para se estabelecer o diagnóstico de infecção do trato genital por clamídias em geral não são úteis.

Nas secreções genitais (p. ex., cervicais), os anticorpos podem ser detectados durante a infecção ativa e são dirigidos contra o imunotipo infectante (sorovariante).

Tratamento

É essencial que as infecções por clamídias sejam tratadas simultaneamente em ambos os parceiros sexuais e na progênie para evitar a ocorrência de reinfeção. As tetraciclinas (p. ex., doxiciclina) são comumente utilizadas na uretrite não gonocócica e em mulheres infectadas não grávidas. A azitromicina mostrou-se eficaz, podendo ser administrada a mulheres grávidas. A tetraciclina ou a eritromicina para uso tópico são utilizadas para infecções neonatais por *N. gonorrhoeae*, mas podem não ser eficazes na prevenção de infecção neonatal por *C. trachomatis*. A terapia sistêmica deve ser usada na conjuntivite de inclusão como terapia tópica, mas pode não curar as infecções nos olhos nem prevenir doença respiratória.

Epidemiologia e controle

A infecção genital e a conjuntivite por inclusão de clamídias são doenças sexualmente transmissíveis que se disseminam por contato com parceiros sexuais infectados. A conjuntivite de inclusão neonatal origina-se no trato genital infectado da mãe. A prevenção de doença ocular neonatal depende do diagnóstico e do tratamento da gestante e do seu parceiro sexual. Como em todas as doenças sexualmente transmissíveis, deve-se considerar a presença de vários agentes etiológicos (gonococos, treponemas, tricômonas, herpes, etc.). A instilação de eritromicina ou tetraciclina nos olhos do recém-nascido não impede o desenvolvimento de conjuntivite por clamídias. O controle final dessa e de todas as doenças sexualmente transmissíveis depende de práticas sexuais seguras e de diagnóstico e tratamento precoces dos indivíduos infectados. Assim, os Centers for Disease Control and Prevention (CDCs) recomendam o rastreamento anual de todas as mulheres sexualmente ativas, com idades entre 25 anos ou mais jovens.

CHLAMYDIA TRACHOMATIS E PNEUMONIA NEONATAL

Entre os recém-nascidos infectados pela mãe, 10 a 20% podem desenvolver comprometimento das vias respiratórias duas a 12 semanas após o nascimento, culminando em pneumonia. A *C. trachomatis* pode constituir a causa mais comum de pneumonia neonatal. Os neonatos apresentam taquipneia, tosse paroxística característica, ausência de febre e eosinofilia. Nas radiografias, podem-se observar consolidação dos pulmões e hiperinflação. Deve-se suspeitar do diagnóstico se houver desenvolvimento de pneumonite em recém-nascido que apresente conjuntivite de inclusão. O diagnóstico pode ser estabelecido por isolamento de *C. trachomatis* das secreções respiratórias. Na pneumonia neonatal, a observação de títulos de 1:32 ou mais de anticorpo IgM contra a *C. trachomatis* é considerada diagnóstica. A eritromicina oral por 14 dias é o antibiótico recomendado. Já a eritromicina sistêmica proporciona um tratamento eficaz para os casos graves.

LINFOGRANULOMA VENÉREO

O linfogranuloma venéreo é uma doença sexualmente transmissível, causada por *C. trachomatis* e caracterizada por adenite inguinal supurativa. A doença é mais comum nos climas tropicais.

Propriedades do agente

As partículas contêm antígenos de grupo termoestáveis fixadores do complemento, compartilhados com todas as outras clamídias. Além disso, contêm um dos três antígenos sorovariantes (L1 a L3), que podem ser identificados por imunofluorescência.

Manifestações clínicas

Vários dias e semanas após a exposição, surge uma pequena pápula ou vesícula evanescente em qualquer parte da genitália externa, do ânus, do reto ou em outro local. A lesão pode sofrer ulceração, mas costuma passar despercebida, cicatrizando em poucos dias. Em pouco tempo, os linfonodos regionais aumentam de tamanho, tendendo a tornar-se opalescentes e dolorosos. Em homens, os linfonodos inguinais são mais comumente acometidos tanto acima quanto abaixo do ligamento de Poupart, e a pele sobrejacente com frequência adquire uma tonalidade púrpura à medida que os linfonodos supuram e, por fim, liberam pus através de vários tratos sinusais. Em mulheres e homens homossexuais, os linfonodos perirretais ficam proeminentemente acometidos, com proctite e corrimento anal mucopurulento e sanguinolento. A linfadenite pode ser mais acentuada nas cadeias cervicais.

Durante o estágio de linfadenite ativa, surgem frequentemente sintomas sistêmicos pronunciados, inclusive febre, cefaleia, meningismo, conjuntivite, exantema, náuseas, vômitos e artralgias. De forma rara ocorrem meningite, artrite e pericardite. A não ser que seja instituído um tratamento eficaz com antimicrobianos nesse estágio, o processo inflamatório crônico evolui para fibrose, obstrução linfática e estenose retal. A obstrução linfática pode resultar em elefantíase do pênis, do escroto ou da vulva. A proctite crônica de mulheres ou homens homossexuais pode resultar em estenose retal progressiva, obstrução retossigmoide e formação de fístulas.

Diagnóstico laboratorial

A. Esfregaços

O pus, os bubões ou o material de biópsia podem ser corados, mas as partículas raramente são identificadas.

B. Cultura

O material sob suspeita deve ser inoculado em culturas de células de McCoy. O inóculo pode ser tratado com aminoglicosídeo (mas não com penicilina), para se reduzir a contaminação bacteriana. O agente é identificado com base na sua morfologia e em testes sorológicos.

C. Sorologia

Os anticorpos são demonstrados pela reação de FC. O teste torna-se positivo duas a quatro semanas após o início da doença.

Em um caso clinicamente compatível, a elevação dos níveis de anticorpos ou a obtenção de um único título > 1:64 fornecem boa evidência de infecção ativa. Quando o tratamento erradica o LGV, observa-se uma queda nos títulos de anticorpos FC. O diagnóstico sorológico do LGV pode basear-se na imunofluorescência, mas os anticorpos exibem ampla reatividade contra muitos antígenos de clamídias.

Imunidade

As infecções não tratadas tendem a ser crônicas, com persistência do agente durante muitos anos. Pouco se sabe a respeito da imunidade ativa. A coexistência de infecção latente, anticorpos e reações mediadas por células é típica de muitas infecções por clamídias.

Tratamento

Foram utilizadas sulfonamidas e tetraciclinas com bons resultados, em particular nos estágios iniciais. Em alguns indivíduos tratados com esses fármacos, observa-se um acentuado declínio dos anticorpos fixadores do complemento, o que pode indicar a eliminação do agente infeccioso do organismo. Os estágios avançados exigem cirurgia.

Epidemiologia e controle

Embora a maior incidência de LGV tenha sido registrada em áreas subtropicais e tropicais, a infecção é observada em todo o mundo. Com maior frequência, a doença é transmitida por contato sexual, porém não de modo exclusivo. Às vezes, a porta de entrada pode ser o olho (conjuntivite com síndrome oculoglandular). O trato genital e o reto de indivíduos cronicamente infectados (porém às vezes assintomáticos) atuam como reservatórios da infecção. Os funcionários de laboratórios expostos a aerossóis de *C. trachomatis* das sorovariantes L1 a L3 podem desenvolver pneumonite por clamídia com adenopatia mediastínica e hilar. Se a infecção for reconhecida, o tratamento com tetraciclina ou eritromicina irá mostrar-se eficaz.

As medidas empregadas para o controle de outras doenças sexualmente transmissíveis também se aplicam ao controle do LGV. O achado do primeiro caso bem como o tratamento precoce e o controle das pessoas infectadas são essenciais.

CHLAMYDIA PNEUMONIAE E INFECÇÕES RESPIRATÓRIAS

A primeira cepa de *C. pneumoniae* foi obtida na década de 1960 em cultura de saco vitelino de embrião de pinto. Após o desenvolvimento de métodos de cultura celular, essa cepa inicial foi considerada membro da espécie *C. psittaci*. Posteriormente, *C. pneumoniae* foi definitivamente estabelecida como nova espécie causadora de doença respiratória. Os seres humanos constituem o único hospedeiro conhecido.

Propriedades do agente

A *C. pneumoniae* produz inclusões redondas, densas e sem glicogênio que se mostram resistentes às sulfonamidas, de modo

muito semelhante à *C. psittaci* (Quadro 27.1). Algumas vezes, os CEs exibem aspecto piriforme. A relação genética das *C. pneumoniae* isoladas é superior a 95%. Foi demonstrada apenas uma sorovariante.

Manifestações clínicas

A maioria das infecções causadas por *C. pneumoniae* é assintomática ou associada à doença discreta, embora existam relatos da ocorrência de doença grave. Não há sinais nem sintomas capazes de diferenciar especificamente as infecções por *C. pneumoniae* daquelas causadas por muitos outros agentes. Ocorre doença das vias respiratórias tanto superiores quanto inferiores. É comum haver faringite. Podem ocorrer sinusite e otite média, acompanhadas de doença das vias respiratórias inferiores. A doença primária reconhecida consiste em pneumonia atípica, semelhante a causada pelo *Mycoplasma pneumoniae*. Acredita-se que 5 a 15% dos casos de pneumonia adquirida na comunidade em indivíduos jovens sejam causados por *C. pneumoniae*.

Diagnóstico laboratorial

A. Esfregaços

A detecção direta de CE em amostras clínicas com o uso de técnicas de anticorpo fluorescente não é sensível. Outros corantes tampouco comprovam efetivamente a presença do microrganismo.

B. Cultura

As amostras de *swab* da faringe podem ser colocadas em meio de transporte para clamídias e mantidas a 4°C; *C. pneumoniae* é rapidamente inativada à temperatura ambiente; cresce inadequadamente em cultura de células, formando inclusões menores do que as observadas com outras clamídias; cresce melhor em células HL e HEp-2 do que em células HeLa 229 ou de McCoy. As células de McCoy são amplamente utilizadas para cultura de *C. trachomatis*. Aumenta-se a sensibilidade da cultura incorporando-se ciclo-heximidina ao meio de cultura para inibir o metabolismo das células eucarióticas e por centrifugação do inóculo na camada celular. O crescimento é melhor a 35°C do que a 37°C. Depois de três dias de incubação, as células são fixadas, e as inclusões detectadas por anticorpo fluorescente com anticorpo específico do gênero ou da espécie, ou, de preferência, anticorpo monoclonal específico de *C. pneumoniae* conjugado com fluoresceína. A coloração pelo método de Giemsa não é sensível, e as inclusões negativas para glicogênio não se coram com iodo. O crescimento de *C. pneumoniae* é de certo modo difícil, conforme evidencia o número de microrganismos isolados descritos em comparação com a incidência de infecção.

C. Sorologia

A sorologia que utiliza um teste de microimunofluorescência constitui o método mais sensível para o diagnóstico de infecção por *C. pneumoniae*. O teste, específico da espécie, pode detectar a presença de anticorpos IgG ou IgM ao utilizar os reagentes apropriados. Os indivíduos com infecção primária produzem anticorpos IgM depois de cerca de três semanas, seguidos de anticorpos IgG em 6 a 8 semanas. Em caso de reinfeção, a resposta dos anticorpos IgM pode estar ausente ou

mínima, enquanto ocorre a resposta dos anticorpos IgG em 1 a 2 semanas. Foram sugeridos os seguintes critérios para o diagnóstico sorológico de infecção por *C. pneumoniae*: título isolado de IgM \geq 1:16; título isolado de IgG \geq 1:512; e elevação de quatro vezes nos títulos de IgM ou IgG.

Pode-se fazer o teste de fixação do complemento (FC), mas este reage de acordo com o grupo, não diferencia a infecção por *C. pneumoniae* da psitacose, nem do LGV e é menos sensível que o teste de microimunofluorescência.

D. Métodos de amplificação do ácido nucleico

Embora, muitos laboratórios de pesquisa e de referência tenham tentado desenvolver ensaios moleculares baseados na detecção do RNAr 16S e no gene *ompA*, entre outros, esse progresso tem sido prejudicado, pela falta de um padrão-ouro. Tais testes são necessários de modo que a contribuição real da *C. pneumoniae* a doenças clínicas possa ser completamente determinada.

Imunidade

Pouco se sabe acerca da imunidade ativa ou potencialmente protetora. Podem ocorrer infecções prolongadas por *C. pneumoniae*, e os portadores assintomáticos podem ser comuns.

Tratamento

A *C. pneumoniae* mostra-se suscetível aos macrolídeos e tetraciclina, bem como a algumas fluoroquinolonas. O tratamento com doxiciclina, azitromicina ou claritromicina parece beneficiar de forma significativa os pacientes com infecção por *C. pneumoniae*, mas os dados sobre a eficácia da antibioticoterapia são limitados. Os relatos indicam que os sintomas podem continuar ou sofrer recidiva após cursos rotineiros de terapia com eritromicina, doxiciclina ou tetraciclina, devendo esses fármacos ser administrados durante 10 a 14 dias.

Epidemiologia

A infecção por *C. pneumoniae* é comum. Em todo o mundo, 30 a 50% dos indivíduos apresentam anticorpos dirigidos contra *C. pneumoniae*. Um número pequeno de crianças de pouca idade apresenta anticorpos, mas depois dos 6 a 8 anos a prevalência dos anticorpos aumenta até a idade adulta. A infecção é tanto endêmica quanto epidêmica, e vários surtos foram atribuídos a *C. pneumoniae*. Não existe reservatório animal conhecido, e acredita-se que a transmissão ocorra de uma pessoa para outra, predominantemente por via respiratória.

As evidências sugerindo que *C. pneumoniae* está associada à coronariopatia aterosclerótica e doença vascular cerebral consistem em estudos soropidemiológicos, detecção de *C. pneumoniae* em tecidos ateroscleróticos, culturas de células, modelos animais e estudos clínicos de prevenção com antibióticos. Entretanto, outros estudos não mostraram associação. A possível ligação entre infecção por *C. pneumoniae* e doença arterial coronariana permanece controversa.

CHLAMYDIA PSITTACI E PSITACOSE

O termo psitacose é utilizado para descrever a doença humana por *C. psittaci*, adquirida em decorrência do contato do indivíduo com aves, bem como a infecção de aves psitacéias (p. ex.,

papagaios, periquitos e cacatuas). O termo ornitose é aplicado para descrever a infecção por agentes semelhantes em todos os tipos de ave doméstica (p. ex., pombos, galinhas, patos, gansos e perus) e em pássaros de vida livre (p. ex., gaiivotas, garças e petréis). Nos seres humanos, *C. psittaci* produz um espectro de manifestações clínicas que inclui desde pneumonia grave e sepse com elevada taxa de mortalidade até infecções leves e inaparentes.

Propriedades do agente

C. psittaci pode propagar-se em ovos embrionados, camundongos e outros animais, bem como em algumas culturas de células. O antígeno FC reativo do grupo e termoestável mostra-se resistente às enzimas proteolíticas e parece consistir em um lipopolissacarídeo. O tratamento da infecção por *C. psittaci* com desoxicolato e tripsina produz extratos que contêm antígenos FC reativos do grupo, enquanto as paredes celulares retêm o antígeno específico da espécie. Os anticorpos dirigidos contra o antígeno específico da espécie têm a capacidade de neutralizar a toxicidade e a infecciosidade. Pode-se demonstrar a existência de sorovariantes específicas e características de determinadas espécies de mamíferos e aves pela tipagem por imunofluorescência. A neutralização da infecciosidade do agente por anticorpos específicos ou por proteção cruzada de animais imunizados também pode ser utilizada para sorotipagem, e os resultados obtidos são semelhantes aos da tipagem por imunofluorescência.

Patogênese e patologia

O agente, que penetra através das vias respiratórias, é encontrado no sangue durante as primeiras duas semanas de doença, podendo ser detectado também no escarro quando ocorre comprometimento pulmonar.

A psitacose causa inflamação focal dos pulmões com acentuada demarcação das áreas de consolidação. Os exsudatos são predominantemente mononucleares. Verifica-se apenas a ocorrência de alterações mínimas nos bronquíolos maiores e nos brônquios. As lesões assemelham-se àquelas observadas na pneumonite causada por alguns vírus e por micoplasmas. Com frequência, o fígado, o baço, o coração e os rins mostram-se aumentados e congestionados.

Manifestações clínicas

A psitacose é sugerida por início súbito de doença, que assume a forma de *influenza* ou pneumonia não bacteriana em pessoa exposta a aves. O período de incubação é, em média, de 10 dias. Em geral, o início é súbito, com mal-estar, febre, anorexia, faringite, fotofobia e cefaleia intensa. A doença pode não evoluir, e o paciente pode melhorar em poucos dias. Nos casos graves, os sinais e sintomas de broncopneumonia aparecem no final da primeira semana de doença. Com frequência, o quadro clínico assemelha-se ao da *influenza*, da pneumonia não bacteriana ou da febre tifoide. A taxa de mortalidade pode atingir 20% nos casos sem tratamento, em particular no indivíduo idoso.

Diagnóstico laboratorial

A. Cultura

A cultura de *C. psittaci* pode ser perigosa, devendo-se preferir a identificação do microrganismo por ensaios imunoenzimáticos

ou PCR. Se houver necessidade, *C. psittaci* poderá ser cultivada a partir de amostra de sangue ou escarro, ou de tecido pulmonar em células de cultura tecidual, ovos embrionados ou camundongos. O isolamento de *C. psittaci* pode ser confirmado por transmissão seriada do microrganismo, sua detecção ao microscópio e identificação sorológica.

B. Detecção de *C. psittaci*

A detecção do antígeno por AFD, imunoensaio ou diagnóstico molecular por PCR deve ser efetuada em laboratórios de referência ou de pesquisa.

C. Sorologia

Em geral, o diagnóstico de psitacose é confirmado pela demonstração de anticorpos fixadores do complemento ou microimunofluorescentes em amostras de soro. Um caso confirmado caracteriza-se por cultura positiva ou presença de doença clínica compatível, juntamente com uma alteração de quatro vezes ou mais nos títulos de anticorpos para pelo menos 1:32 ou título de IgM por microimunofluorescência de pelo menos 1:16. Um caso provável está associado à presença de doença compatível associada epidemiologicamente a um caso confirmado ou a um título de pelo menos 1:32 em uma única amostra. O teste de FC exhibe reatividade cruzada com *C. trachomatis* e *C. pneumoniae*. O teste de microimunofluorescência (MIF) é mais sensível e específico que o teste de FC, mas ocorrem reações cruzadas. O teste de MIF possibilita a detecção de IgM e IgG. Embora os anticorpos sejam habitualmente produzidos em 10 dias, o uso de antibióticos pode retardar seu aparecimento para 20 a 40 dias ou suprimi-los por completo.

Em aves, a infecção é sugerida por um teste de FC positivo e pelo aumento de tamanho do baço ou do fígado. O diagnóstico pode ser confirmado pela demonstração de partículas em esfregaços ou cortes de órgãos, ou pela passagem do agente infeccioso em camundongos e ovos.

D. Métodos moleculares

Diversos testes de PCR foram desenvolvidos para detectar *C. psittaci* em amostras de trato respiratório, tecidos vasculares, soro e células mononucleares do sangue periférico. Esses testes são realizados em laboratórios de pesquisa ou de referência.

Imunidade

A imunidade em animais e seres humanos é incompleta. O estado de portador em seres humanos pode persistir por 10 anos após a recuperação. Durante esse período, o agente pode ser excretado no escarro.

As vacinas vivas ou inativadas só induzem resistência parcial nos animais, não tendo sido utilizadas em seres humanos.

Tratamento

Devido à dificuldade de se obter confirmação laboratorial de infecções por *C. psittaci*, a maioria das infecções é tratada com base somente no diagnóstico clínico. A informação sobre a eficácia terapêutica provém de diversos ensaios clínicos. Azitromicina, claritromicina e eritromicina (bem como doxiciclina

para adultos) funcionam na maioria das infecções respiratórias por *C. psittaci*. Todos os pacientes apresentam melhora clínica, mesmo aqueles com infecção persistente.

Epidemiologia e controle

Podem ocorrer surtos de doença humana toda vez que houver contato próximo ou contínuo entre seres humanos e aves infectadas que excretem ou eliminem grandes quantidades do agente infeccioso. Com frequência, as aves adquirem a infecção ainda no ninho, podem desenvolver doença diarreica ou não desenvolver doença, e costumam tornar-se portadoras do agente infeccioso durante seu ciclo de vida normal. Quando submetidos a estresse (p. ex., desnutrição, migração), as aves podem adoecer e morrer. O agente é encontrado nos tecidos (p. ex., baço), sendo frequentemente excretado nas fezes de aves saudáveis. A inalação de fezes ressecadas e infectadas de aves constitui uma forma comum de infecção humana. Outra fonte de infecção consiste na manipulação de tecidos infectados (p. ex., aviários e abatedores) e inalação de aerossóis infectados.

As aves de estimação continuam sendo uma importante fonte de infecção humana. Entre eles, destacam-se muitas aves psitacídeas importadas. Com frequência, as infecções latentes sofrem exacerbação nessas aves durante o transporte e sua aglomeração, e as aves doentes excretam quantidades extremamente grandes do agente infeccioso. O controle do embarque de aves, a quarentena, a pesquisa de psitacose nas aves importadas e o uso profilático de tetraciclina nas rações para aves ajudam a controlar essa fonte. Os pombos criados para fins esportivos ou como animais de estimação ou para alimentação também são importantes fontes de infecção. Os pombos que vivem em edifícios e vias públicas de muitas cidades, quando infectados, eliminam quantidades relativamente pequenas do agente.

RESUMO DO CAPÍTULO

- As clamídias são microrganismos pequenos que se multiplicam no citoplasma das células hospedeiras, usando um ciclo de desenvolvimento bifásico.
- O CE é a partícula infectante e estável. Já o CR é a forma metabolicamente ativa que se divide por fissão binária dentro do vacúolo.
- Há três espécies de *Chlamydia* que causam infecções humanas: *C. trachomatis*, *C. pneumoniae* e *C. psittaci*.
- *C. trachomatis* é responsável por infecções sexualmente transmissíveis, tais como cervicite, doença inflamatória pélvica, uretrite, epididimite, LGV e proctite. Quando transmitida para neonatos a partir de parturientes infectadas, pode provocar conjuntivite e pneumonia eosinofílica.
- O diagnóstico das infecções urogenitais provocadas por *C. trachomatis* é realizado por NAATs. Cultura ou AFD são utilizados para as síndromes pediátricas. O tratamento requer a administração de doxiciclina ou azitromicina.
- *C. pneumoniae* causa uma variedade de infecções do trato respiratório superior e inferior. A faringite é comum e a pneumonia atípica assemelha-se a provocada por *M. pneumoniae* e é responsável por 5 a 15% dos casos de pneumonias comunitárias.
- A sorologia usando MIF é o teste mais sensível para o diagnóstico das infecções por *C. pneumoniae*. NAATs estão disponíveis apenas em laboratórios de pesquisa e de referência, porém apresentam graus variáveis de sensibilidade.
- *C. psittaci* é transmitida pelo contato com aves infectadas, tais como papagaios, pinguins e várias aves de criação.
- A psitacose pode se manifestar por um quadro clínico assintomático, brando ou por pneumonia grave associada à sepsis, que resulta em alta taxa de mortalidade.
- O diagnóstico é realizado por sorologia. Macrolídeos e doxiciclina são usados para o tratamento.

QUESTÕES DE REVISÃO

- Qual das seguintes afirmativas sobre antígenos de clamídia é a mais correta?
 - As clamídias compartilham um grupo ou antígenos específicos do gênero
 - Não existem reações cruzadas entre os antígenos de *Chlamydia trachomatis* e *Chlamydochloa pneumoniae*
 - Existem múltiplos sorotipos de *Chlamydochloa pneumoniae*, inclusive três que causam uma doença sistêmica
 - Um sorotipo de *Chlamydia trachomatis* causa infecções oculares, e um segundo sorotipo causa infecções genitais
- As seguintes alternativas são parte do controle de *Chlamydia psittaci* e psitacose em aves, exceto:
 - Quarentena de aves psitacídeas importadas pelos EUA
 - Permitir a venda somente de aves psitacídeas criadas nos EUA
 - Testar as aves para infecção por *C. psittaci*
 - Controlar a venda de aves psitacídeas
 - Adicionar tetraciclina à alimentação de aves psitacídeas
- Todas as afirmativas a seguir sobre infecção perinatal por *Chlamydia trachomatis* estão corretas, exceto:
 - Das crianças nascidas de mães infectadas, 15 a 40% desenvolvem conjuntivite de inclusão
 - Das crianças nascidas de mães infectadas, 10 a 20% desenvolvem pneumonia infantil
 - O período de incubação para a conjuntivite de inclusão por *C. trachomatis* é de 1 a 2 dias
 - O período de incubação para a pneumonia infantil é, tipicamente, de 2 a 12 semanas
 - A profilaxia ocular com eritromicina ou tetraciclina para infecção neonatal por *Neisseria gonorrhoeae* em geral não é eficaz contra a infecção neonatal por *C. trachomatis*
 - A pneumonia infantil por *Chlamydia trachomatis* com frequência apresenta tosse *staccato* (interrupta e destacada)
- Uma adolescente procura uma clínica por causa de um corrimento vaginal novo e incomum. Ela tornou-se sexualmente ativa recentemente e teve dois parceiros no mês anterior. Ao exame pélvico, foi visto um corrimento purulento na abertura do canal endocervical. Qual das seguintes afirmativas sobre este caso é a mais correta?
 - O teste sorológico para sífilis não é indicado, pois os sintomas da adolescente não são de sífilis
 - Uma coloração pelo método de Gram de amostra endocervical pode mostrar *Chlamydia trachomatis* no interior das células polimorfonucleares

- (C) O diagnóstico diferencial inclui infecção com *Neisseria gonorrhoeae*, *Chlamydia trachomatis* ou ambos
- (D) A amostra de endocérvice deve ser analisada para herpes simples
- (E) O tratamento inicial é com ampicilina
5. As seguintes afirmativas sobre o tracoma estão corretas, *exceto*:
- (A) É seguida por uma infecção crônica ou recorrente com *Chlamydia trachomatis*
- (B) Milhões de pessoas no mundo têm tracoma
- (C) O tracoma é facilmente prevenido por uma vacina contra clamídia
- (D) A progressão do tracoma pode ser retardada por tratamento intermitente com azitromicina
- (E) O tracoma envolve a formação de cicatrizes na conjuntiva, deformidades nos olhos e agressão à córnea
6. A eliminação da cegueira por tracoma envolve todas as alternativas a seguir, *exceto*:
- (A) Administração periódica de azitromicina
- (B) Lavagem e higiene do rosto
- (C) Rastreamento por cultura periódica de *swabs* da conjuntiva para *C. trachomatis*
- (D) Melhorias ambientais e tratamento de esgotos para diminuição do número de moscas
- (E) Cirurgia em pálpebras deformadas
7. Qual das seguintes afirmativas sobre *Chlamydophila pneumoniae* é a mais correta?
- (A) A transmissão de pessoa para pessoa se dá pelo ar
- (B) Produzem inclusões ricas em glicogênio que se coram com iodo
- (C) Existem vários sorotipos, inclusive três que causam uma doença sistêmica
- (D) São resistentes aos macrolídeos
- (E) O reservatório são os gatos domésticos
8. Os sorotipos de *Chlamydia trachomatis* geralmente podem ser divididos em grupos representando suas infecções clínicas/locais anatômicos infectados. Qual das seguintes afirmativas sobre os sorotipos de *Chlamydia trachomatis* é a mais correta?
- (A) Não existe reação imunológica cruzada entre os sorotipos A, B, Ba e D de *C. trachomatis* e o sorotipo de *C. pneumoniae*
- (B) Os sorotipos L1, L2 e L3 estão associados a linfogranuloma venéreo
- (C) Os mesmos sorotipos de *Chlamydia trachomatis* estão associados à cegueira por tracoma e infecções sexualmente transmissíveis
- (D) O título de anticorpos começa a aumentar cerca de 6 a 8 anos após infecções com *Chlamydia trachomatis*, sorotipos D a K
9. Nos EUA, há muito se sabe que a soroprevalência positiva para infecções por *Chlamydia trachomatis* aumenta consideravelmente durante os anos de ensino fundamental (6 a 10 anos). A provável explicação para isto é:
- (A) Infecções frequentes por adenovírus
- (B) Incidência aumentada de infecções por *Chlamydia trachomatis*
- (C) Reação cruzada de anticorpos com a proteína M de estreptococos do grupo A (*Streptococcus pyogenes*)
- (D) Crianças têm psitacose com frequência
- (E) Infecções frequentes com *Chlamydophila pneumoniae*
10. Todas as afirmativas a seguir sobre linfogranuloma venéreo (LGV) estão corretas, *exceto*:
- (A) A proctite crônica por LGV pode levar à formação de estreitamento retal e fístula
- (B) A doença é mais comum nos países ao norte da linha do Equador
- (C) Pode ser marcado por sintomas sistêmicos, inclusive febre, náusea, vômitos, cefaleia e meningismo
- (D) Inflamação crônica com LGV pode produzir obstrução linfática
- (E) Linfonodos inguinais podem tornar-se dilatados e entrelaçados, drenando pus direto para a pele
- (F) Poucos dias ou semanas após a exposição, a doença manifesta-se como pápula ou vesícula genital
11. Quais dos seguintes métodos são considerados testes de escolha para o diagnóstico das infecções causadas por *Chlamydia trachomatis*?
- (A) Sorologia usando teste de fixação de complemento
- (B) Cultura de célula usando células McCoy mais ciclo-heximida
- (C) Teste de detecção direta de anticorpos fluorescentes a partir de amostras uretrais e cervicais
- (D) Métodos de amplificação do ácido nucleico
- (E) Testes imunoenzimáticos a partir de espécimes urogenitais
12. Os testes de amplificação do ácido nucleico, atualmente disponíveis nos EUA para o diagnóstico das infecções clamidiais, são aprovados a partir dos seguintes espécimes clínicos, *exceto*:
- (A) *Swab* vaginal
- (B) Amostras de urina de primeiro jato em homens
- (C) *Swab* retal obtido de crianças com 12 anos ou menos
- (D) *Swab* uretral obtido de homens adultos
- (E) *Swab* cervical obtido de mulheres adolescentes
13. A pneumonia provocada por *Chlamydia pneumoniae* é semelhante à pneumonia provocada por qual microrganismo?
- (A) *Streptococcus pneumoniae*
- (B) *Mycoplasma pneumoniae*
- (C) *Haemophilus influenzae*
- (D) *Chlamydia trachomatis*
- (E) Rinovírus
14. A conjuntivite no neonato
- (A) É uma conjuntivite mucopurulenta que ocorre 7 a 12 dias após a infecção
- (B) É causada por *C. psittaci*
- (C) É o resultado do contato com aves de estimação
- (D) O seu tratamento é com penicilina sistêmica e pode evoluir para pneumonia
- (E) Nenhuma das alternativas anteriores
15. O diagnóstico de escolha para pneumonia provocada por *C. trachomatis* em neonatos é:
- (A) Teste de amplificação do ácido nucleico que têm como alvo o gene *ompA*
- (B) Cultura das secreções respiratórias em células McCoy
- (C) Testes imunoenzimáticos a partir de secreções respiratórias
- (D) Detecção de anticorpos IgG por fixação do complemento

Respostas

- | | | | |
|------|------|-------|-------|
| 1. A | 5. C | 9. E | 13. B |
| 2. B | 6. C | 10. B | 14. A |
| 3. C | 7. A | 11. D | 15. B |
| 4. C | 8. B | 12. C | |

REFERÊNCIAS

Chlamydial diseases. Vol 2, Part III, Section C. In Mandell GL, Bennett JE, Dolin R et al. (editors). *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*, 7th ed. Mandell Elsevier, 2010.

Gaydos C, Essig A: *Chlamydiaceae*. In Versalovic J, Carroll KC, Funke G et al. (editors). *Manual of Clinical Microbiology*, 10th ed. ASM Press, 2011.

Quimioterapia antimicrobiana

O uso de fármacos para o tratamento de doenças infecciosas vem sendo feito desde o século XVII (p. ex., a quinina para malária, a emetina para amebíase); todavia, a quimioterapia como ciência só teve início na primeira década do século XX, com o conhecimento dos princípios da toxicidade seletiva, das relações químicas específicas entre patógenos microbianos e fármacos, do desenvolvimento de resistência aos fármacos e do papel da terapia combinada. Experimentos levaram ao uso das arsfenaminas para o tratamento da sífilis, constituindo a primeira quimioterapia planejada.

A era atual da quimioterapia antimicrobiana começou em 1935, com a descoberta das sulfonamidas. Em 1940, demonstrou-se que a penicilina, descoberta em 1929, poderia ser uma substância terapêutica eficaz. Durante os 25 anos seguintes, as pesquisas de agentes quimioterápicos concentraram-se, em grande parte, em substâncias de origem microbiana, denominadas antibióticos. O isolamento, a concentração, a purificação e produção da penicilina em grande escala foram acompanhados pelo desenvolvimento da estreptomomicina, das tetraciclina, do cloranfenicol e de muitos outros agentes. Essas substâncias foram originalmente isoladas de filtrados dos meios de cultura de seus respectivos bolores. A modificação sintética dos fármacos descobertos passou a ser proeminente na elaboração de novos agentes antimicrobianos.

Os antimicrobianos comumente utilizados no tratamento das infecções bacterianas são apresentados neste capítulo. A quimioterapia dos vírus, fungos e parasitos será discutida nos Capítulos 30, 45 e 46, respectivamente. O Capítulo 47 traz mais comentários sobre os testes de sensibilidade antimicrobiana para bactérias.

MECANISMOS DE AÇÃO DOS ANTIMICROBIANOS

Os antimicrobianos atuam em uma ou várias vias: por toxicidade seletiva, inibição da síntese da membrana celular e de sua função, inibição da síntese proteica ou da síntese dos ácidos nucleicos.

TOXICIDADE SELETIVA

Um agente antimicrobiano ideal deve exibir toxicidade seletiva. Essa expressão significa que o fármaco deve ser prejudicial

para o patógeno, mas não para o hospedeiro. Com frequência, a toxicidade seletiva é mais relativa que absoluta, significando um fármaco, em uma concentração tolerada pelo hospedeiro, pode lesar um microrganismo infectante.

A toxicidade seletiva pode ser função de um receptor específico necessário para a ligação do fármaco ou depender da inibição dos eventos bioquímicos essenciais para o patógeno, mas não para o hospedeiro. Os mecanismos de ação dos antimicrobianos podem ser discutidos sob quatro categorias:

1. Inibição da síntese da parede celular;
2. Inibição da função da membrana celular;
3. Inibição da síntese das proteínas (i. e., inibição da tradução e transcrição do material genético);
4. Inibição da síntese dos ácidos nucleicos.

INIBIÇÃO DA SÍNTESE DA PAREDE CELULAR

As bactérias têm uma camada externa rígida, denominada parede celular, a qual mantém a forma e o tamanho do microrganismo, que possui elevada pressão osmótica interna. A lesão da parede celular (p. ex., pela lisozima) ou inibição de sua formação podem levar a lise da célula. Em um ambiente hipertônico (p. ex., sacarose a 20%), o comprometimento da formação da parede celular leva ao aparecimento de “protoplastos” bacterianos específicos nos microrganismos gram-positivos ou “esferoplastos” nos microrganismos gram-negativos, formas delimitadas pela frágil membrana citoplasmática. Se esses **protoplastos** ou **esferoplastos** forem colocados em meio de tonicidade normal, irão rapidamente absorver líquido e intumescer, podendo sofrer ruptura. Amostras obtidas de pacientes em tratamento com antibióticos que atuam na parede celular mostram com frequência bactérias degradadas ou disformes.

A parede celular contém um polímero complexo e quimicamente distinto, o “mucopeptídeo” (“peptidoglicano”), que consiste em polissacarídeos e em um polipeptídeo com grande número de ligações cruzadas. Os polissacarídeos contêm regularmente os aminoácidos *N*-acetilglicosamina e ácido acetilmurâmico, o último encontrado apenas em bactérias. Os aminoácidos ligam-se a cadeias peptídicas curtas. A rigidez final da parede celular é conferida pela ligação cruzada das cadeias peptídicas (p. ex., através das ligações de pentaglicina) em consequência das reações de transpeptidação efetuadas por diversas enzimas. A camada de peptidoglicano é muito mais

espessa na parede celular das bactérias gram-positivas do que na das gram-negativas.

Todos os fármacos betalactâmicos são inibidores seletivos da síntese da parede celular bacteriana e, portanto, mostram-se ativos contra as bactérias em crescimento. Tal inibição constitui apenas uma das várias atividades distintas desses fármacos, porém é a mais compreendida de todas. A etapa inicial na ação farmacológica consiste na ligação do fármaco a receptores celulares (**proteínas de ligação da penicilina** (*penicillin-binding proteins* [PBP])). Existem 3 a 6 PBPs (massa molecular [MM]40-120 kilodaltons [kD]), sendo algumas delas enzimas de transpeptidação. Diferentes receptores possuem afinidades diversas por um fármaco, e cada qual pode mediar um efeito distinto. Assim, por exemplo, a ligação da penicilina a uma PBP pode resultar principalmente em alongamento anormal da célula, enquanto a ligação a outra PBP pode levar a um defeito na periferia da parede celular com a consequente lise celular. As PBPs estão sob controle cromossômico, e a ocorrência de mutações pode alterar seu número ou a sua afinidade por agentes betalactâmicos.

Após a ligação de um fármaco β -lactâmico a um ou mais receptores, a reação da transpeptidação é inibida, e ocorre bloqueio na síntese do peptidoglicano. A etapa seguinte envolve provavelmente a remoção ou inativação de um inibidor das enzimas autolíticas na parede celular, o que ativará a enzima lítica e resultará em lise se o ambiente for isotônico. Em um ambiente acentuadamente hipertônico, os micróbios transformam-se em protoplastos ou esferoplastos, envolvidos apenas pela frágil membrana celular. Nessas células, a síntese das proteínas e dos ácidos nucleicos pode prosseguir por algum tempo.

A inibição das enzimas de transpeptidação pelas penicilinas e cefalosporinas pode decorrer de uma semelhança estrutural desses fármacos com a acil-D-alanil-D-alanina. A reação de transpeptidação envolve a perda de uma D-alanina do pentapeptídeo.

A notável ausência de toxicidade dos fármacos betalactâmicos para as células de mamíferos deve ser atribuída à ausência, nas células animais, de uma parede celular do tipo bacteriano com seu peptidoglicano. A diferença na suscetibilidade das bactérias gram-positivas e gram-negativas às várias penicilinas ou cefalosporinas provavelmente depende de diferenças estruturais nas paredes celulares (p. ex., quantidade de peptidoglicano, presença de receptores e lipídeos, natureza da ligação cruzada, atividade das enzimas autolíticas) que determinam a penetração, a ligação e a atividade dos fármacos.

A resistência às penicilinas pode ser determinada pela produção de enzimas pelo microrganismo que destroem as penicilinas (β -lactamases). As β -lactamases rompem o anel β -lactâmico das penicilinas e cefalosporinas, anulando, assim, sua atividade antimicrobiana. Foram descritas diversas β -lactamases em muitas espécies de bactérias gram-positivas e gram-negativas. Algumas β -lactamases são mediadas por plasmídeos (p. ex., a penicilinase do *Staphylococcus aureus*), enquanto outras o são por cromossomos (p. ex., muitas espécies de bactérias gram-negativas). Todas as β -lactamases mediadas por plasmídeos, cujo número ultrapassa 30, são produzidas constitutivamente e exibem alta propensão a passar de uma espécie de bactéria para outra (p. ex., *Neisseria gonorrhoeae*, *Haemophilus influenzae* e enterococos). As β -lactamases mediadas por cromossomos também podem ser produzidas constitutivamente (p. ex., *Bacteroides*, *Acinetobacter*) ou podem ser induzíveis (p. ex., *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Pseudomonas*).

Existe um grupo de betalactamases que, em certas ocasiões, é encontrado em determinadas espécies de bacilos gram-negativos, em geral *Klebsiella pneumoniae* e *Escherichia coli*. Essas enzimas são denominadas **β -lactamases de espectro ampliado** (*extended-spectrum β -lactamases* [ESBL]), uma vez que conferem às bactérias a capacidade adicional de hidrolisar os anéis β -lactâmicos da cefotaxima, da ceftazidima ou do aztreonam.

QUADRO 28.1 Classificação de betalactamases

Sistema Grupo Bush-Jacoby e Medeiros	Tipo de enzima	Inibição por clavulanato	Sistema de Ambler	Principais atributos
1	Cefalosporinase	NÃO	C	Cromossômica; resistente a todos os β -lactâmicos, exceto carbapenêmicos
2a	Penicilinase	SIM	A (serina)	Penicilinase estafilocócica
2b	Largo espectro	SIM	A	TEM-1, TEM-2, SHV-1
2be	Espectro estendido	SIM	A	TEM-3-160, SHV2-101
2br	Resistente ao inibidor	Diminuída	A	TEM resistente a inibidores
2c	Carbenicilinase	SIM	A	Hidrolisante da carbenicilina
2d	Cloxacilinase	SIM	Dou A	Hidrolisante da cloxacilina (OXA)
2e	Cefalosporinase	SIM	A	Cefalosporinases
2f	Carbapenemase	SIM	A	Carbapenemases inibidas por clavulanato (p. ex., IMP-1)
3a, 3b, 3c	Metaloenzimas	NÃO	B	Carbapenemases dependentes de zinco
4	Penicilinase	NÃO	Não classificada	Várias enzimas

IMP, imipenem; SHV, sulfidril variável

Reproduzido, com autorização, de Opal SM, Pop-Vicas A: Molecular mechanisms of antibiotic resistance in bacteria. In Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (editors). *Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*, 7th ed, pp 282-283, 2010 and Rice LB, Bonomo RA. Copyright Elsevier. Mechanisms of resistance to antibacterial agents. In Versalovic J, Carroll KC, Funke G et al. (editors). *Manual of Clinical Microbiology*, 10th ed. p 1093, Washington, DC: ASM Press.

A classificação das β -lactamases é complexa e baseia-se na genética, em propriedades bioquímicas e na afinidade de substrato por um inibidor da β -lactamase (ácido clavulânico) (ver Quadro 28.1 para os dois principais sistemas de classificação). O ácido clavulânico, o sulbactam e o tazobactam são inibidores das β -lactamases que têm alta afinidade com algumas dessas enzimas e ligam-se irreversivelmente a elas (p. ex., penicilinase do *S. aureus*), mas sem sofrer hidrólise. Tais inibidores protegem simultaneamente da destruição as penicilinas hidrolisáveis presentes (p. ex., ampicilina, amoxicilina e ticarcilina). Certas penicilinas (p. ex., cloxacilina) também exibem alta afinidade pelas β -lactamases.

Logo após a sua primeira descrição quase três décadas atrás, as ESBLs mais comuns eram as da classe A: TEM e SHV (mediada por plasmídeo) (ver Quadro 28.1). Hoje, na maior parte do mundo as enzimas CTX-M têm se tornado mais prevalentes. Essas enzimas são mais ativas contra a cefotaxima e a ceftriaxona do que a ceftazidima. Além disso, parecem mais inibidas pelo tazobactam, entre os outros inibidores de β -lactamases. A principal preocupação é a emergência de *Klebsiella pneumoniae* com carbapenemases (KPC), que são enzimas tipo ESBL que conferem resistência a cefalosporinas de terceira e quarta gerações e aos carbapenêmicos. Esse mecanismo de resistência é mediado por plasmídeos e têm se disseminado nosocomialmente entre muitos hospitais nos EUA e em outros países. Embora, elas tenham sido descobertas por volta de 1960, a disseminação dos genes que codificam metalo- β -lactamases favoreceu a propagação dessas enzimas entre diferentes patógenos gram-negativos. Isso marcou uma era de ampla propagação de enterobactérias resistentes a carbapenemas e produtoras de carbapenemases do tipo VIM e do tipo NDM (Nova Deli metalo- β -lactamase). As enzimas do tipo VIM foram primeiramente detectadas em amostras de *Pseudomonas aeruginosa* e de *Acinetobacter baumannii*, porém nas últimas décadas se disseminaram para as enterobactérias. Existem mais de 20 enzimas desse tipo, sendo prevalentes na Europa, Oriente Médio e Ásia. A NDM foi descrita pela primeira vez em uma amostra de *Klebsiella pneumoniae* isolada na Suécia, a partir de um paciente que havia viajado para Nova Deli na Índia. Esse tipo de metalo- β -lactamase também tem sido detectada em amostras de *A. baumannii*. Uma vez que esse microrganismo frequentemente já expressa vários genes que codificam para resistência a diferentes classes de antimicrobianos (tais como, fluoroquinolonas e aminoglicosídeos), as opções para o tratamento são limitadas, como o uso de colistina. Assim, esses pacientes com frequência são colocados em isolamento de contato, para evitar a transmissão desse microrganismo para outros pacientes em ambientes hospitalares.

Existem dois outros tipos de mecanismo de resistência. Um deles é devido à ausência de algumas PBPs e ocorre em consequência de mutação cromossômica; o outro decorre da incapacidade do fármaco β -lactâmico de ativar as enzimas autolíticas na parede celular. Em consequência, o microrganismo é inibido, mas não é destruído. Essa **tolerância** foi observada particularmente nos estafilococos e em certos estreptococos.

São exemplos de fármacos que atuam por inibição da síntese da parede celular as penicilinas, cefalosporinas, vancomicina e ciclosserina. Vários outros fármacos, como a bacitracina, teicoplanina, vancomicina, ristocetina e novobiocina, inibem as etapas iniciais na biossíntese do peptidoglicano. Como os estágios iniciais da síntese ocorrem no interior da membrana

citoplasmática, esses fármacos precisam penetrar na membrana para serem eficazes.

INIBIÇÃO DA FUNÇÃO DA MEMBRANA CELULAR

O citoplasma de todas as células vivas é delimitado pela membrana citoplasmática, que atua como barreira de permeabilidade seletiva, desempenhando funções de transporte ativo e controlando, assim, a composição interna da célula. Se a integridade funcional da membrana citoplasmática for rompida, as macromoléculas e os íons escaparão da célula, com as consequentes lesão e morte celular. A membrana citoplasmática das bactérias e dos fungos tem uma estrutura diferente daquela das células animais, podendo ser mais facilmente rompida por determinados agentes. Em consequência, é possível usar uma quimioterapia seletiva.

Os detergentes, que contêm grupamentos hidrofílicos e lipofílicos, rompem as membranas citoplasmáticas e matam a célula (Cap. 4). Uma classe de antibióticos, as polimixinas, consiste em peptídeos cíclicos com atividade detergente que danificam seletivamente as membranas que contenham fosfatidiletanolamina, um dos principais componentes das membranas bacterianas. Alguns antibióticos interferem seletivamente nas funções biossintéticas das membranas citoplasmáticas (p. ex., o ácido nalidíxico e a novobiocina inibem a síntese do DNA e a novobiocina inibe também a síntese do ácido teicoico).

Uma terceira classe de agentes que atuam na membrana é constituída pelos ionóforos, compostos que permitem a rápida difusão de cátions específicos através da membrana. A valinomicina, por exemplo, regula especificamente a passagem dos íons potássio. Alguns ionóforos atuam pela formação de poros hidrofílicos na membrana; outros atuam como carreadores iônicos solúveis de lipídeo, fazendo uma espécie de ponte para o interior da membrana. Os ionóforos podem matar células por descarga do potencial de membrana, essencial para a fosforilação oxidativa, bem como para outros processos associados à membrana; eles não são seletivos para as bactérias, podendo atuar em membranas de todas as células.

A daptomicina é um novo antibiótico lipopeptídeo, rapidamente bactericida por ligar-se à membrana celular de modo dependente de cálcio, causando a despolarização do potencial de membrana bacteriano, o que leva a um extravasamento intracelular de potássio. Este agente foi aprovado para uso no tratamento de infecções sistêmicas por *S. aureus* e das infecções da pele e dos tecidos superficiais causadas por bactérias gram-positivas, especialmente por microrganismos altamente resistentes aos betalactâmicos e à vancomicina.

Outros exemplos de agentes que atuam por inibição da função da membrana celular são a anfotericina B, a colistina, os imidazóis e os triazóis.

INIBIÇÃO DA SÍNTESE PROTEICA

É sabido que os macrolídeos, as lincosamidas, as tetraciclinas, as glicilciclinas, os aminoclicosídeos e o cloranfenicol podem inibir a síntese proteica na bactéria. Entretanto, os mecanismos precisos de ação desses fármacos diferem entre si.

As bactérias possuem ribossomos 70S, enquanto as células dos mamíferos apresentam ribossomos 80S. As subunidades de

cada tipo de ribossomo, sua composição química e suas especificidades funcionais são suficientemente diferentes para explicar por que os antimicrobianos são capazes de inibir a síntese das proteínas nos ribossomos bacterianos sem exercer efeito significativo sobre os ribossomos dos mamíferos.

Na síntese normal das proteínas microbianas, a mensagem do RNAm é “lida” simultaneamente por vários ribossomos ao longo do filamento do RNAm, denominados **polissomos**.

Aminoglicosídeos

O modo de ação da estreptomicina foi mais extensamente estudado, do que o dos outros aminoglicosídeos, mas todos provavelmente atuam de forma semelhante. A primeira etapa consiste na ligação do aminoglicosídeo a uma proteína receptora específica (P 12 no caso da estreptomicina), localizada na subunidade 30S do ribossomo microbiano. Na segunda etapa, o aminoglicosídeo bloqueia a atividade normal do “complexo de iniciação” para a formação de peptídeos (RNAm + formilmetionina + RNAt). Na terceira etapa, a mensagem do RNAm é lida de maneira equivocada na “região de reconhecimento” do ribossomo; em consequência, ocorre a inserção de um aminoácido incorreto no peptídeo com a consequente formação de uma proteína não funcional. Na quarta etapa, a ligação do aminoglicosídeo resulta em quebra dos polissomos e sua separação em **monossomos** incapazes de sintetizar proteína. Essas atividades ocorrem de modo mais ou menos simultâneo, e o efeito global em geral consiste em um evento irreversível: a morte da bactéria.

A resistência cromossômica dos micróbios aos aminoglicosídeos depende principalmente da ausência de um receptor proteico específico na subunidade 30S do ribossomo (modificação do sítio-alvo causada por mutações). A resistência dependente de plasmídeo dos aminoglicosídeos depende da produção pelos microrganismos das enzimas de adenilação, fosforilação ou acetilação que destroem os fármacos. Um terceiro tipo de resistência consiste em um “defeito de permeabilidade”, isto é, uma modificação na membrana externa que reduz o transporte ativo do aminoglicosídeo para o interior da célula, de modo que o fármaco fica incapaz de alcançar o ribossomo. Com frequência, essa resistência é mediada por plasmídeos.

Macrolídeos, azalídeos e cetolídeos

Estes fármacos (eritromicinas, azitromicina, claritromicina, roxitromicina e o cetolídeo [telitromicina])* ligam-se à subunidade 50S ribossômica, e o local de ligação é o RNAr 23S. Eles podem interferir na formação dos complexos de iniciação para a síntese da cadeia peptídica ou podem interferir nas reações

* N. de R.T. Telitromicina é um antibiótico originalmente aprovado pela FDA em 2004 e manufaturado pelo laboratório Sanofi Aventis. É um antibiótico derivado da classe dos macrolídeos, pela inclusão de um radical keto em sua estrutura química, transformando-o em uma subclasse, a dos cetolídeos. Contudo, após pouco mais de dois anos de utilização plena, o fármaco, em 2007, sofreu sérias restrições ao uso, ficando indicado apenas para o tratamento de pneumonia adquirida na comunidade (de leve a moderada gravidade), causada pelo *S. pneumoniae* (inclusive contra as amostras multirresistentes), pelo *H. influenzae*, pela *M. catarrhalis* e, ainda, pelas amostras atípicas de *Chlamydoiphila pneumoniae* e de *Mycoplasma pneumoniae*, para pacientes com ou mais de 18 anos. A restrição ocorre devido aos sérios efeitos colaterais, tais como distúrbios visuais, perda da consciência, insuficiência hepática aguda e doença hepática grave.

de translocação de aminoacil. Algumas bactérias resistentes aos macrolídeos perdem o receptor no ribossomo (através de metilação do RNAr 23S). O gene *erm B*, que codifica esse mecanismo, pode estar sob controle plasmidial ou cromossômico. Outro mecanismo menos comum de resistência inclui produção de enzimas inativadoras ou por bomba de efluxo codificada pelos genes *mef* e *msr*. A resistência mediada por bomba de efluxo não induz resistência aos cetolídeos.

Lincomidas

A clindamicina e a lincomicina ligam-se à subunidade 50S do ribossomo microbiano e assemelha-se aos macrolídeos quanto ao local de ligação, à atividade antibacteriana e ao modo de ação. Mutantes cromossômicos são resistentes devido à perda do local de ligação na subunidade 50S.

Tetraciclinas

As tetraciclinas ligam-se à subunidade 30S dos ribossomos microbianos, inibindo a síntese de proteínas ao bloquear a ligação do aminoacil-RNAt carregado. Por conseguinte, esses fármacos impedem a introdução de novos aminoácidos na cadeia peptídica em crescimento. Em geral, a ação é inibitória e reversível com a suspensão do fármaco. A resistência à tetraciclina ocorre por três mecanismos — efluxo, proteção ribossômica e modificação química. Os dois primeiros são os mais importantes e ocorrem da seguinte forma: bombas de efluxo, localizadas na membrana citoplasmática da célula bacteriana, são responsáveis pelo bombeamento do fármaco para fora da célula. Os produtos do gene *Tet* são responsáveis pela proteção do ribossomo, provavelmente por meio de mecanismos que induzem mudanças conformacionais. Essas mudanças também previnem a ligação das tetraciclinas ou causam sua dissociação do ribossomo. Esses mecanismos são controlados na maior parte por plasmídeos. Células de mamíferos não concentram ativamente as tetraciclinas.

Gliciliclinas

As gliciliclinas são análogos sintéticos das tetraciclinas. O agente disponível para uso nos EUA e na Europa é a tigeciclina, um derivado da minociclina. As gliciliclinas inibem a síntese proteica de modo similar ao das tetraciclinas; entretanto, são bactericidas, provavelmente devido a sua maior afeição por ligação com o ribossomo. A tigeciclina é ativa contra uma ampla variedade de bactérias gram-positivas e gram-negativas, inclusive as cepas resistentes às tetraciclinas convencionais. A atividade clínica deste fármaco ainda está sob investigação, mas atualmente seu maior uso parece ser no tratamento das infecções da pele e dos tecidos superficiais, bem como em infecções intra-abdominais, especialmente as causadas por patógenos bacterianos resistentes a vários outros agentes antimicrobianos. Além disso, esse fármaco tem sido amplamente usado no tratamento de infecções nosocomiais multirresistentes (exceto *P. aeruginosa*).

Cloranfenicol

O cloranfenicol liga-se à subunidade 50S do ribossomo, interferindo na ligação de novos aminoácidos à cadeia peptídica em formação, devido em grande parte à inibição da peptidil-transferase pelo fármaco. O cloranfenicol é principalmente bacteriostático, e o crescimento dos microrganismos recomeça

quando se interrompe sua administração. Os microrganismos resistentes ao cloranfenicol produzem a enzima cloranfenicol acetiltransferase, que inibe a atividade do fármaco. A produção dessa enzima encontra-se em geral sob o controle de um plasmídeo (gene *cat*, cloranfenicol acetiltransferase).

Estreptograminas

Quinupristina/dalfopristina é uma combinação de dois derivados da pristinamicina. Para apresentar atividade bactericida contra as bactérias gram-positivas, estes dois agentes atuam em sinergia, não sendo verificada a mesma ação com apenas um dos agentes. O mecanismo de ação parece ser a ligação irreversível a diferentes sítios da subunidade 50S do ribossomo bacteriano 70S.

Oxazolidinonas

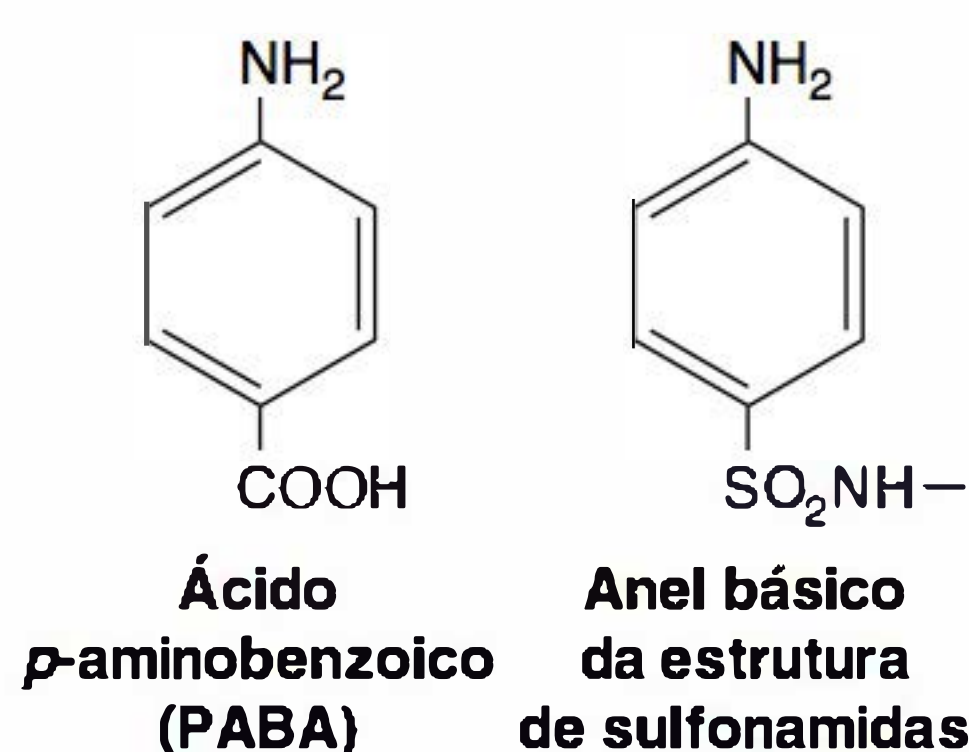
As oxazolidinonas possuem um mecanismo peculiar de inibição da síntese proteica, principalmente nas bactérias gram-positivas. Esses compostos interferem na tradução por inibição da formação de *N*-formilmetionil-RNA^t, o complexo de iniciação no ribossomo 23S. A linezolida é o agente comercialmente disponível no momento.

INIBIÇÃO DA SÍNTESE DOS ÁCIDOS NUCLEICOS

Entre os exemplos de fármacos que atuam por inibição da síntese dos ácidos nucleicos estão as quinolonas, pirimetamina, rifampicina, sulfonamidas, trimetoprima e trimetoxato. A rifampicina inibe o crescimento bacteriano devido à sua forte ligação ao RNA dependente de polimerase do DNA das bactérias. Por conseguinte, inibe a síntese do RNA bacteriano. A resistência à rifampicina resulta de uma alteração na RNA polimerase devido à mutação cromossômica que ocorre com a alta frequência. O mecanismo de ação da rifampicina sobre os vírus é diferente. Com efeito, o fármaco bloqueia um estágio tardio na organização dos poxvírus.

Todas as quinolonas e fluoroquinolonas inibem a síntese do DNA microbiano ao bloquearem as enzimas DNA girase e topoisomerase, que exercem um papel-chave na replicação e no reparo do DNA.

Para muitos microrganismos, o ácido *p*-aminobenzoico (PABA) é um metabólito essencial, cujo modo específico de ação envolve uma condensação dependente da adenosina trifosfato (ATP) de uma pteridina com o PABA, produzindo o ácido di-hidropteroico, subsequentemente convertido em ácido fólico. O PABA está envolvido na síntese do ácido fólico, um importante precursor na síntese dos ácidos nucleicos. As sulfonamidas são análogos estruturais do PABA e inibem a di-hidropteroato sintetase.



As sulfonamidas podem entrar na reação em lugar do PABA e competir pelo centro ativo da enzima. Em consequência, formam-se análogos não funcionais do ácido fólico, impedindo o crescimento da célula bacteriana. A ação inibitória das sulfonamidas sobre o crescimento bacteriano pode ser contrabalançada por um excesso de PABA no ambiente (inibição competitiva). As células animais são incapazes de sintetizar o ácido fólico e, portanto, dependem de fontes exógenas. Algumas bactérias, a exemplo das células animais, não são inibidas pelas sulfonamidas. Todavia, muitas outras bactérias sintetizam o ácido fólico, conforme foi mencionado anteriormente e, em consequência, são suscetíveis à ação das sulfonamidas.

A trimetoprima (3,4,5-trimetoxibenzilpirimidina) inibe a ácido di-hidrofolico redutase com eficácia 50.000 vezes maior nas bactérias do que nas células dos mamíferos. Essa enzima reduz o ácido di-hidrofolico a ácido tetraidrofolico, uma etapa na sequência que leva à síntese das purinas e, por fim, do DNA. As sulfonamidas e a trimetoprima podem ser utilizadas isoladamente para inibir o crescimento bacteriano. Quando administradas em combinação, provocam bloqueio sequencial, resultando em acentuado aumento (sinergia) da atividade. Essas associações de sulfonamida (cinco partes) mais trimetoprima (uma parte) têm sido utilizadas no tratamento da pneumonia por *Pneumocystis*, malária, enterite por shigela, infecções sistêmicas por salmonela, infecções do trato urinário e muitas outras.

A pirimetamina também inibe a di-hidrofolato redutase, porém é mais ativa contra a enzima encontrada nas células dos mamíferos, sendo, por isso, mais tóxica que a trimetoprima. Associada a sulfonamida ou clindamicina, constitui o tratamento atual de escolha da toxoplasmose e algumas outras infecções causadas por protozoários.

RESISTÊNCIA AOS ANTIMICROBIANOS

Existem vários mecanismos pelos quais os microrganismos podem exibir resistência aos fármacos.

- Os microrganismos produzem enzimas que destroem o fármaco ativo. **Exemplos:** os estafilococos resistentes à penicilina G produzem uma betalactamase que destrói o fármaco. Outras betalactamases são produzidas por bastonetes gram-negativos. As bactérias gram-negativas resistentes aos aminoglicosídeos (devido a um plasmídeo) produzem enzimas de adenilação, fosforilação ou acetilação que destroem o fármaco.
- Os microrganismos modificam sua permeabilidade ao fármaco. **Exemplos:** as tetraciclina acumulam-se em bactérias suscetíveis, mas não em bactérias resistentes. A resistência às polimixinas também está associada a uma alteração na permeabilidade aos fármacos. Os estreptococos possuem uma barreira natural de permeabilidade aos aminoglicosídeos, que em parte pode ser vencida pela presença simultânea de um fármaco ativo contra a parede celular, como, por exemplo, uma penicilina. A resistência à amicacina e a alguns outros aminoglicosídeos pode depender da ausência de permeabilidade a esses fármacos aparentemente devido a uma alteração da membrana externa que compromete o transporte ativo para o interior da célula.

- Os microrganismos desenvolvem um alvo estrutural alterado para o fármaco (ver também o item [5], adiante). **Exemplos:** os microrganismos resistentes à eritromicina possuem um receptor alterado na subunidade 50S do ribossomo, devido à metilação de um RNA ribossômico 23S. A resistência a algumas penicilinas e cefalosporinas pode constituir uma função da perda ou alteração das PBPs. A resistência de *Streptococcus pneumoniae* e dos enterococos é decorrente de uma alteração das PBP*.
- Os microrganismos desenvolvem uma via metabólica alterada que omite a reação inibida pelo fármaco. **Exemplo:** algumas bactérias resistentes às sulfonamidas não necessitam de PABA extracelular, mas são capazes de utilizar, como as células dos mamíferos, o ácido fólico pré-formado.
- Os microrganismos elaboram uma enzima alterada que ainda tem a capacidade de desempenhar sua função metabólica, mas é bem menos afetada pelo fármaco. **Exemplo:** nas bactérias resistentes à trimetoprima, a enzima di-hidrolato redutase é inibida com menos eficácia do que nas bactérias a ela suscetíveis.

ORIGEM DA RESISTÊNCIA AOS FÁRMACOS

Origem não genética da resistência aos fármacos

A replicação ativa das bactérias constitui um requisito para a maioria das ações dos fármacos antibacterianos. Em consequência, os microrganismos metabolicamente inativos (que não estão se multiplicando) podem ser fenotipicamente resistentes aos fármacos. Todavia, os descendentes são totalmente suscetíveis. **Exemplo:** as micobactérias com frequência sobrevivem nos tecidos durante muitos anos após a infecção, porém são contidas pelas defesas do hospedeiro e não se multiplicam. Esses microrganismos “persistentes” mostram-se resistentes ao tratamento, não podendo ser erradicados por fármacos. Contudo, se começarem a multiplicar-se (p. ex., após a supressão da imunidade celular no paciente), irão se tornar totalmente suscetíveis aos mesmos fármacos.

Os microrganismos podem perder a estrutura específica do alvo de um fármaco no decorrer de várias gerações, tornando-se, assim, resistentes. **Exemplo:** os microrganismos sensíveis à penicilina podem transformar-se em formas L deficientes de parede celular durante a administração de penicilina. Como essas formas não têm parede celular, mostram-se resistentes aos fármacos inibidores da parede celular (penicilinas, cefalosporinas), podendo permanecer assim por várias gerações. Quando tais microrganismos reverterem para suas formas bacterianas originais com o reinício da síntese da parede celular, tornam-se novamente sensíveis à penicilina.

Os microrganismos podem infectar o hospedeiro em locais onde os antimicrobianos são excluídos ou não são ativos. **Exemplos:** os aminoglicosídeos, como a gentamicina, não são eficazes no tratamento da febre entérica por *Salmonella*, por serem esses microrganismos intracelulares, e os aminoglicosídeos não penetram nas células. De modo semelhante, apenas os fármacos que penetram no interior das células são eficazes no tratamento da doença dos legionários, devido à localização intracelular da *Legionella pneumophila*.

* N. de R.T. A resistência à penicilina em enterococos é devido a presença da PBP5 – uma PBP de baixa afinidade pelos antibióticos β -lactâmicos.

Origem genética da resistência aos fármacos

Em sua maioria, os micróbios resistentes aos fármacos surgem em decorrência de alterações genéticas e processos subsequentes de seleção pelos antimicrobianos.

Resistência cromossômica

Desenvolve-se em consequência da mutação espontânea em determinado *locus* que controla a suscetibilidade a um determinado antimicrobiano. A presença do antimicrobiano atua como mecanismo seletivo, suprimindo os microrganismos sensíveis e favorecendo o crescimento de mutantes resistentes ao fármaco. Ocorre mutação espontânea em uma frequência de 10^{-12} a 10^{-7} , constituindo, portanto, uma causa pouco frequente de desenvolvimento de resistência clínica aos fármacos em determinado paciente. Todavia, os mutantes cromossômicos resistentes à rifampicina ocorrem com alta frequência (cerca de 10^{-7} a 10^5). Em consequência, o tratamento das infecções bacterianas com rifampicina como único fármaco frequentemente fracassa. Os mutantes cromossômicos são mais comumente resistentes devido a uma alteração no receptor estrutural de um fármaco. Assim, a proteína P 12, na subunidade 30S do ribossomo bacteriano, atua como receptor para a ligação da estreptomicina. A mutação do gene que controla tal proteína estrutural resulta em resistência à estreptomicina. Além disso, a mutação pode resultar em perda das PBPs, tornando os referidos mutantes resistentes aos fármacos β -lactâmicos.

Resistência extracromossômica

Com frequência, as bactérias contêm elementos genéticos extracromossômicos, denominados plasmídeos, cujas características são descritas no Capítulo 7.

Alguns plasmídeos transportam genes para a resistência a um e, com frequência, vários antimicrobianos. Os genes dos plasmídeos para resistência antimicrobiana com frequência controlam a formação de enzimas capazes de destruir os antimicrobianos. Por conseguinte, os plasmídeos determinam a resistência às penicilinas e cefalosporinas ao transportarem genes para a formação de betalactamases. Os plasmídeos codificam as enzimas que acetilam, adenilam ou fosforilam vários aminoglicosídeos; as enzimas que determinam o transporte ativo das tetraciclina através da membrana; e várias outras enzimas.

O material genético e os plasmídeos podem ser transferidos por transdução, transformação e conjugação. Esses processos são discutidos no Capítulo 7.

RESISTÊNCIA CRUZADA

Os microrganismos resistentes a determinado fármaco também podem exibir resistência a outros fármacos que compartilhem um mecanismo particular de ação. Essas relações são observadas principalmente entre agentes estreitamente relacionados do ponto de vista químico (p. ex., diferentes aminoglicosídeos) ou que exibam um modo de ligação ou ação semelhante (p. ex., macrolídeos-lincomicinas). Em certas classes de fármacos, o núcleo ativo da substância química é tão semelhante entre muitos congêneres (p. ex., tetraciclina) que se espera a ocorrência de extensa resistência cruzada.

LIMITAÇÃO DA RESISTÊNCIA AOS FÁRMACOS

O aparecimento da resistência aos fármacos nas infecções pode ser minimizado das seguintes maneiras: (1) pela manutenção de níveis elevados do fármaco nos tecidos o suficiente para inibir tanto a população original quanto os primeiros mutantes; (2) por administração simultânea de dois fármacos que não exibam resistência cruzada, atrasando cada um o aparecimento de mutantes resistentes ao outro fármaco (p. ex., rifampicina e isoniazida [INH] no tratamento da tuberculose); e (3) ao evitar-se a exposição dos microrganismos a um fármaco particularmente valioso, limitando-se sua administração, especialmente em hospitais.

IMPLICAÇÕES CLÍNICAS DA RESISTÊNCIA AOS FÁRMACOS

Alguns poucos exemplos irão ilustrar o impacto do aparecimento de microrganismos resistentes aos fármacos e sua seleção pelo uso disseminado de antimicrobianos.

Gonococos

Quando as sulfonamidas foram empregadas pela primeira vez, no final da década de 1930 para o tratamento da gonorreia, praticamente todos os gonococos isolados mostraram-se sensíveis, com a consequente cura da maioria das infecções. Alguns anos depois, a maioria das cepas tornou-se resistente às sulfonamidas, e a gonorreia raramente era curada com esses fármacos. A maioria dos gonococos ainda era altamente sensível à penicilina. Nas décadas seguintes, constatou-se um aumento gradual da resistência à penicilina, embora a administração de grandes doses desse fármaco ainda fosse curativa. Na década de 1970, surgiram gonococos produtores de β -lactamase, inicialmente nas Filipinas e na África Ocidental, e depois esses microrganismos propagaram-se, formando focos endêmicos no mundo inteiro. Tais infecções não podiam ser tratadas de maneira eficaz com penicilina, mas o eram com espectinomicina, até que também surgiu resistência à espectinomicina. Na atualidade, recomenda-se o uso de cefalosporinas de terceira geração ou quinolona para o tratamento da gonorreia. Entretanto, a emergência da resistência às quinolonas em algumas regiões limitou subsequentemente o seu uso, não sendo mais recomendadas como antibióticos de primeira linha. As cefalosporinas de terceira geração, administradas por via oral ou parentaral, continuam como agentes de escolha contra a gonorreia.

Meningococos

Até 1962, os meningococos eram uniformemente sensíveis às sulfonamidas, eficazes tanto para profilaxia quanto para tratamento. Em seguida, houve ampla disseminação dos meningococos resistentes às sulfonamidas, de modo que hoje esses fármacos perderam a utilidade contra as infecções meningocócicas. As penicilinas continuam sendo eficazes no tratamento e, até recentemente, a rifampicina era usada para profilaxia. Entretanto, surgiram meningococos resistentes à rifampicina (cerca de 27% dos isolados), os quais podem então causar infecções invasivas. As fluoroquinolonas vêm amplamente substituindo a rifampicina na profilaxia.

Estafilococos

Em 1944, a maioria dos estafilococos era sensível à penicilina G, embora se tenha observado o aparecimento de algumas cepas resistentes. Após o uso maciço da penicilina, 65 a 85% dos estafilococos isolados de hospitais em 1948 eram produtores de betalactamase e, portanto, resistentes à penicilina G. O advento das penicilinas resistentes à β -lactamase (p. ex., nafcilina, meticilina e oxacilina) proporcionou uma trégua temporária, mas na atualidade as infecções por *S. aureus* resistentes à meticilina (MRSA) são comuns. Hoje, os estafilococos resistentes à penicilina incluem não apenas os adquiridos em hospitais, como também 80 a 90% dos isolados na comunidade. Esses microrganismos também tendem a ser resistentes a outros fármacos (p. ex., as tetraciclinas). Da mesma forma, o MRSA são comuns tanto nas infecções comunitárias, mediadas por clones como o USA300 quanto em infecções hospitalares. Infecções hospitalares podem ser causadas por várias amostras comunitárias sensíveis ou por clones multirresistentes adquiridos no próprio ambiente hospitalar*. A vancomicina tem sido o principal fármaco prescrito para tratamento das infecções por MRSA. Porém, a recuperação de isolados com resistência intermediária à vancomicina e os relatos de diversos casos de alto nível de resistência à vancomicina têm estimulado a pesquisa de novos agentes. Alguns desses novos agentes, com atividade contra amostras de MRSA, incluem a daptomicina, a linezolida, a quinupristina-dalfopristina e a ceftarolina (uma nova cefalosporina).

Pneumococos

Até 1963, o *S. pneumoniae* era uniformemente sensível à penicilina G, quando foram encontradas cepas relativamente resistentes à penicilina na Nova Guiné. Subsequentemente, foram observados pneumococos resistentes à penicilina na África do Sul, no Japão, na Espanha e, mais tarde, no mundo inteiro. Nos EUA, aproximadamente 10% dos pneumococos mostram-se resistentes à penicilina G (concentração mínima inibitória [CIM] > 2 $\mu\text{g/mL}$), e, cerca de 18% são intermediários (CIM de 0,1 a 1 $\mu\text{g/mL}$). A resistência à penicilina é decorrente de uma alteração das PBPs. A resistência dos pneumococos à penicilina tende a ser clonal. Os pneumococos também são frequentemente resistentes à combinação de sulfametoxazol-trimetoprima, bem como à de eritromicina e tetraciclina. Estão começando a surgir isolados resistentes às quinolonas, devido a mutações no DNA topoisomerase IV ou nas subunidades GryA e GryB do DNA girase.

Enterococos

Os enterococos têm resistência intrínseca a inúmeros antimicrobianos: penicilina G e ampicilina com CIM elevada; cefalosporinas com CIM muito elevada; pouca resistência aos aminoglicosídeos; e resistência a sulfametoxazol-trimetoprima *in vivo*. Os enterococos também adquiriram resistência a quase todos os outros antimicrobianos da seguinte maneira: alteração das PBP e resistência aos β -lactâmicos; resistência de alto

* N. de R.T. Segundo os conceitos mais modernos de saúde pública, a rede hospitalar também pode ser organizada de forma hierarquizada, com hospitais de nível básico, secundário e terciário, refletindo a complexidade de cada hospital. Em um sistema organizado, com base nesse conceito, consultas básicas nunca deveriam ser feitas em hospitais, inclusive para reduzir o grau de contaminação cruzada.

nível aos aminoglicosídeos; e resistência a fluoroquinolonas, macrolídeos, azalídeos e tetraciclina. Alguns enterococos adquiriram um plasmídeo que codifica a β -lactamase, tornando-os totalmente resistentes a penicilina e ampicilina. De maior importância é o desenvolvimento de resistência à vancomicina, que se tornou comum na Europa e na América do Norte, embora haja variação geográfica na porcentagem de enterococos que se mostram resistentes à vancomicina. O *Enterococcus faecium* é a espécie mais comumente resistente à vancomicina. Em surtos de infecções causadas por enterococos resistentes à vancomicina (VRE), os microrganismos isolados podem ser clonais ou geneticamente diversos. Ocorre também resistência às estreptograminas (quinupristina-dalfopristina) nos enterococos. O aumento da resistência aos fármacos de escolha terapêutica, como a linezolida para o tratamento das infecções por VRE, é atualmente um grande motivo de preocupação.

Bactérias entéricas gram-negativas

A maior parte da resistência aos fármacos nas bactérias entéricas é atribuída à transmissão disseminada dos plasmídeos de resistência entre diferentes gêneros. Na atualidade, cerca de 50% das cepas das espécies de *Shigella*, em muitas partes do mundo, mostram-se resistentes a vários fármacos.

As salmonelas transportadas por animais também desenvolveram resistência, sobretudo aos fármacos (em particular, às tetraciclina) incorporados a rações dos animais. A prática de incorporar fármacos às rações faz que os animais de fazenda cresçam mais rapidamente; entretanto, essa prática está associada a um aumento no número de microrganismos entéricos resistentes aos fármacos na microbiota fecal das pessoas que trabalham em fazendas. Na Grã-Bretanha, a elevação concomitante das infecções por salmonela resistente aos fármacos levou à restrição do uso de suplementos antibióticos nas rações dos animais. Nos EUA, o uso contínuo de suplementos de tetraciclina nas rações dos animais pode contribuir para a disseminação dos plasmídeos de resistência e salmonelas resistentes aos fármacos. No final de 1990, um clone de *Salmonella enterica* sorotipo *Typhimurium* (fagotipo DT104) emergiu e se disseminou globalmente. Esse clone é particularmente resistente à ampicilina, cloranfenicol, estreptomina, sulfonamidas e a tetraciclina.

Existem plasmídeos que transportam genes resistentes aos fármacos em muitas bactérias gram-negativas da microbiota intestinal normal. O uso exagerado de antimicrobianos — particularmente em pacientes hospitalizados — leva à supressão dos microrganismos sensíveis aos fármacos na microbiota intestinal e favorece a persistência e o crescimento das bactérias resistentes aos fármacos, como a *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Pseudomonas* e *Serratia*, bem como fungos. Esses microrganismos representam um problema particularmente difícil em pacientes com granulocitopenia e nos imunocomprometidos. Os ambientes fechados dos hospitais favorecem a transmissão desses microrganismos resistentes por meio da equipe hospitalar e fômites, bem como por contato direto.

Mycobacterium tuberculosis

Ocorre resistência primária aos fármacos em cerca de 10% dos isolados de *M. tuberculosis*, mais comumente à INH ou à estreptomina. A resistência à rifampicina ou ao etambutol é menos comum. A INH e a rifampicina constituem os fármacos

primários utilizados na maioria dos esquemas-padrões de tratamento; os outros fármacos de primeira linha são a pirazinamida, o etambutol e a estreptomina. A obediência à INH e à rifampicina é considerada uma resistência a vários fármacos. Nos EUA, a resistência do *M. tuberculosis*, a vários fármacos, tem aumentado significativamente. Em nível mundial, as maiores taxas de tuberculose resistente a vários fármacos foram relatadas em países do Leste Europeu, especialmente entre os que formavam a antiga União Soviética. A observância inadequada dos pacientes ao tratamento farmacológico constitui um importante fator no desenvolvimento da resistência aos fármacos durante o tratamento. O controle da tuberculose resistente a vários fármacos constitui um problema significativo de âmbito mundial. Recentemente, amostras de *M. tuberculosis* extensivamente resistentes a antibióticos (*extensively drug resistant mycobacterium tuberculosis* [TB-XDR]) têm se mostrado um desafio global no controle da tuberculose. Em adição à resistência à INH e à rifampicina, esse microrganismo é também resistente a quinolonas e a antibióticos injetáveis, como aminoglicosídeos e capreomicina (agentes de segunda linha).

ATIVIDADE ANTIMICROBIANA IN VITRO

A atividade antimicrobiana é medida *in vitro* para se determinar (1) a potência de um agente antimicrobiano em solução; (2) a sua concentração nos líquidos ou tecidos corporais; e (3) a sensibilidade de determinado microrganismo a concentrações conhecidas do fármaco.

FATORES QUE AFETAM A ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

Entre os vários fatores que afetam a atividade antimicrobiana *in vitro*, é preciso considerar os seguintes aspectos, uma vez que influem significativamente nos resultados dos testes.

pH do ambiente

Alguns fármacos são mais ativos em pH ácido (p. ex., nitrofurantoína), enquanto outros exibem maior atividade em pH alcalino (p. ex., aminoglicosídeos, sulfonamidas).

Componentes do meio

O polianetossulfonato de sódio (em meio para hemocultivo) e outros detergentes aniônicos inibem os aminoglicosídeos. O PABA em extratos teciduais antagoniza as sulfonamidas. As proteínas séricas ligam-se às penicilinas em graus variáveis, de 40% para a metecilina até 98% para a dicloxacilina. A adição de NaCl ao meio de cultura melhora a detecção da resistência à metecilina no *S. aureus*.

Estabilidade do fármaco

À temperatura de incubação, vários antimicrobianos perdem a atividade. As penicilinas são inativadas lentamente, enquanto os aminoglicosídeos e o ciprofloxacino são muito estáveis por longos períodos.

Tamanho do inóculo

Em geral, quanto maior o inóculo bacteriano, menor a “sensibilidade” aparente do microrganismo. A inibição de grandes populações bacterianas é menos rápida e menos completa que a observada em pequenas populações. Além disso, é muito mais provável que surja um mutante resistente em grandes populações.

Tempo de incubação

Em muitos casos, os microrganismos não são destruídos, mas apenas inibidos após curta exposição a antimicrobianos. Quanto mais prolongada a incubação, maior a probabilidade de desenvolvimento de mutantes resistentes ou de multiplicação dos membros menos suscetíveis da população antimicrobiana à medida que o fármaco se deteriora.

Atividade metabólica dos microrganismos

Em geral, os microrganismos em crescimento ativo e rápido são mais sensíveis à ação farmacológica que os que se encontram na fase de repouso. Os microrganismos metabolicamente inativos que sobrevivem à exposição prolongada a determinado fármaco podem produzir uma progênie totalmente suscetível ao mesmo fármaco.

MEDIDA DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

A determinação da suscetibilidade de um patógeno bacteriano a antimicrobianos pode ser efetuada por um de dois métodos principais: diluição ou difusão. É importante utilizar um método padronizado para controlar todos os fatores que afetam a atividade antimicrobiana. Nos EUA, os testes são realizados de acordo com os métodos do Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)*. Esses testes também são discutidos no Capítulo 47.

Quando se utilizam um microrganismo-padrão apropriado para teste e uma amostra conhecida do fármaco para comparação, podem-se empregar esses métodos para estimar a potência do antibiótico na amostra ou a sensibilidade do microrganismo.

Método de diluição

Concentrações conhecidas de substâncias antimicrobianas são incorporadas a meios bacteriológicos líquidos ou sólidos. Comumente, utilizam-se as diluições em dobro (\log_2) das substâncias antimicrobianas. Em seguida, os meios são inoculados com bactérias do teste e incubados. O parâmetro final é considerado a quantidade de substância antimicrobiana necessária para inibir o crescimento das bactérias do teste ou destruí-las. Os testes de sensibilidade por diluição em ágar são demorados, e seu uso limita-se a circunstâncias especiais. Os testes de diluição em caldo eram trabalhosos e pouco utilizados devido à necessidade de se efetuarem diluições em tubo de ensaio; todavia, o advento das placas de microdiluição para as séries de

* N. de R.T. No Brasil, essa função é atribuída à Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa). As diretrizes são baseadas nas normas recomendadas pelo CLSI. Recentemente, a Anvisa comprou os direitos autorais, na Língua Portuguesa, do manual do CLSI e suas atualizações. Esse manual de padronização do instituto norte-americano é dividido em cinco módulos e mensura a sensibilidade de agentes (bactérias e microrganismos em geral) a diversos antimicrobianos.

diluições em caldo preparadas para vários fármacos diferentes melhorou e simplificou sobremaneira o método. A vantagem dos testes de diluição em caldo com microdiluição é que eles permitem a obtenção de resultados quantitativos, indicando a concentração de determinado fármaco necessária para inibir (ou destruir) os microrganismos testados.

Método de difusão

O método mais amplamente utilizado, em pequenos laboratórios, consiste no teste de difusão em disco. Um disco de papel de filtro contendo determinada concentração de fármaco é colocado sobre a superfície de um meio sólido cuja superfície foi inoculada com o microrganismo do teste. Após a incubação, o diâmetro da zona de inibição ao redor do disco é utilizado como medida do poder inibidor do fármaco contra o microrganismo testado. Esse método está sujeito a muitos fatores físicos e químicos, além da simples interação entre o fármaco e os microrganismos (p. ex., a natureza do meio de cultura e a capacidade de difusão, o tamanho molecular e a estabilidade do fármaco). Todavia, a padronização das condições permite que se determine a sensibilidade do microrganismo.

A interpretação dos resultados dos testes de difusão deve basear-se em comparações entre os métodos de diluição e difusão. Essas comparações levaram ao estabelecimento de padrões de referência. As linhas de regressão lineares podem expressar a relação entre o \log da concentração inibidora mínima nos testes de diluição e o diâmetro das zonas de inibição nos testes de difusão.

O uso de um único disco para cada antibiótico com a cuidadosa padronização das condições do teste permite que se estabeleça a suscetibilidade ou resistência de determinado microrganismo ao se comparar o tamanho da zona de inibição com um padrão do mesmo fármaco.

A inibição ao redor de um disco contendo determinada quantidade de antimicrobiano não indica sensibilidade à mesma concentração do fármaco por mililitro do meio de cultura, de sangue ou urina.

ATIVIDADE ANTIMICROBIANA IN VIVO

A análise da atividade dos antimicrobianos *in vivo* é muito mais complexa do que em circunstâncias *in vitro*. A atividade envolve não apenas o fármaco e o microrganismo, mas também um terceiro fator, o hospedeiro. As relações fármaco-patógeno e hospedeiro-patógeno são discutidas nos parágrafos que se seguem. As relações entre o hospedeiro e o fármaco (absorção, excreção, distribuição, metabolismo e toxicidade) são tratadas de modo pormenorizado em livros de farmacologia.

RELAÇÕES ENTRE FÁRMACO E PATÓGENO

Nas páginas anteriores, foram citadas várias interações importantes entre fármacos e patógenos. A seguir, são considerados outros fatores *in vivo* importantes.

Ambiente

No hospedeiro, existem influências ambientais variáveis que afetam os microrganismos localizados em diferentes tecidos e

partes do corpo — diversamente de um teste em tubo ou placa de Petri, onde o ambiente é constante para todos os membros de uma população microbiana. Por conseguinte, a resposta da população microbiana é muito menos uniforme no hospedeiro do que em um tubo de ensaio.

A. Estado de atividade metabólica

No corpo, o estado de atividade metabólica é diverso; sem dúvida, muitos microrganismos encontram-se embaixo nível de atividade de biossíntese e, portanto, são relativamente insensíveis à ação dos fármacos. Esses microrganismos “dormentes” com frequência sobrevivem à exposição a altas concentrações de fármacos e, subsequentemente, podem causar uma recidiva clínica da infecção.

B. Distribuição do fármaco

No corpo, o antimicrobiano exibe uma distribuição desigual nos tecidos e líquidos. Muitos fármacos não atingem efetivamente o sistema nervoso central (SNC). Com frequência, a concentração do fármaco na urina é muito maior do que a alcançada no sangue ou em outros tecidos. A resposta tecidual induzida pelo microrganismo pode protegê-lo do fármaco. O tecido necrótico ou o pus pode adsorver o fármaco, impedindo, assim, seu contato com as bactérias.

C. Localização dos microrganismos

No corpo, os microrganismos localizam-se com frequência no interior das células dos tecidos. Os fármacos penetram nas células a diferentes velocidades. Alguns (p. ex., as tetraciclinas) atingem aproximadamente a mesma concentração no interior dos monócitos e no líquido extracelular. No caso de outros fármacos (p. ex., gentamicina), é provável que o fármaco não penetre de modo algum nas células do hospedeiro, o que se diferencia do teste em tubo (*in vitro*), no qual os microrganismos ficam em contato direto com o fármaco.

D. Interferência de substâncias

O ambiente bioquímico dos microrganismos no corpo é muito complexo e resulta em interferência significativa na ação farmacológica. O fármaco pode ligar-se a proteínas ou fosfolípidos sanguíneos e teciduais; além disso, pode reagir com os ácidos nucleicos no pus e sofrer adsorção física a exsudatos, células e resíduos necróticos. No tecido necrótico, o pH pode estar altamente ácido e, portanto, desfavorável à ação do fármaco (p. ex., aminoglicosídeos).

Concentração

No corpo, os microrganismos não estão expostos a uma concentração constante do fármaco, ao passo que no teste em tubo (*in vitro*) esta situação ocorre.

A. Absorção

A absorção dos fármacos pelo trato intestinal (quando administrados por via oral) ou pelos tecidos (quando injetados) é irregular. Além disso, também ocorrem excreção contínua, bem como inativação do fármaco. Por conseguinte, os níveis

dos fármacos nos compartimentos corporais flutuam continuamente, e os microrganismos ficam expostos a concentrações variáveis do antimicrobiano.

B. Distribuição

A distribuição dos fármacos varia enormemente em diferentes tecidos. Alguns fármacos penetram inadequadamente em certos tecidos (p. ex., SNC, próstata). Por conseguinte, as concentrações dos fármacos após administração sistêmica podem ser inadequadas para um tratamento eficaz. Nas feridas de superfície ou nas membranas mucosas, tais como a conjuntiva, a aplicação local (tópica) de fármacos cuja absorção é deficiente permite a obtenção de concentrações locais altamente eficazes sem efeitos colaterais tóxicos. Alternativamente, alguns fármacos de aplicação tópica a feridas de superfície são bem absorvidos. As concentrações dos fármacos na urina costumam ser muito mais altas do que as alcançadas no sangue.

C. Variabilidade da concentração

É de suma importância manter uma concentração eficaz do fármaco no local de proliferação dos microrganismos. Esta concentração deve ser mantida por um período suficiente para erradicar os microrganismos. Como o fármaco é administrado de modo intermitente e sofre absorção e excreção de forma irregular, os níveis flutuam constantemente no local da infecção. Para manter concentrações suficientes do fármaco durante um tempo adequado, é necessário considerar a relação entre tempo e dose. Quanto maior a dose do fármaco, maior o intervalo permitido entre elas. Quanto menor a dose individual, menor o intervalo que irá garantir níveis adequados do fármaco.

D. Efeito pós-antibiótico

O efeito pós-antibiótico consiste em novo crescimento tardio de bactérias após exposição a antimicrobianos. Trata-se de uma propriedade da maioria dos fármacos antimicrobianos, à exceção da maioria dos β -lactâmicos que não exibem o efeito pós-antibiótico na presença de bacilos gram-negativos. Os carbapenens exercem efeito pós-antibiótico sobre os bacilos gram-negativos. Os aminoglicosídeos e as fluoroquinolonas têm um efeito pós-antibiótico *in vitro* prolongado (de até várias horas) contra bacilos gram-negativos.

RELAÇÕES ENTRE HOSPEDEIRO E PATÓGENO

As relações entre hospedeiro e patógeno podem ser alteradas de diversas maneiras pelos antimicrobianos.

Alteração da resposta tecidual

A resposta inflamatória do tecido a infecções poderá ser alterada se o fármaco suprimir a multiplicação dos microrganismos, mas não os erradica do corpo. Assim, um processo agudo pode ser transformado em um processo crônico. De maneira contrária, a supressão das reações inflamatórias nos tecidos em consequência da redução da imunidade celular em receptores de transplante de tecido ou na terapia antineoplásica, ou devido a

imunocomprometimento decorrente de doença (p. ex., Aids), provoca maior suscetibilidade a infecções e redução da capacidade de resposta aos antimicrobianos.

Alteração da resposta imunológica

Se uma infecção for modificada por algum antimicrobiano, a resposta imunológica do hospedeiro também poderá ser alterada. Um exemplo ilustra esse fenômeno: a infecção de faringe por estreptococos β -hemolíticos do grupo A é com frequência seguida do desenvolvimento de anticorpos antiestreptocócicos e, se houver uma resposta hiperimunológica, a infecção poderá ser seguida de febre reumática. Se for possível interromper o processo infeccioso no início e de forma completa com antimicrobianos, poderá ser evitado o desenvolvimento de resposta imunológica e febre reumática (presumivelmente devido à rápida eliminação do antígeno). Os fármacos e as doses que erradicam rapidamente os estreptococos infectantes (p. ex., penicilina) são mais eficazes na prevenção da febre reumática do que aqueles que apenas suprimem temporariamente os microrganismos (p. ex., tetraciclina).

Alteração da microbiota microbiana

Os antimicrobianos afetam não apenas os microrganismos que causam doença, como também os membros sensíveis da microbiota normal. Por conseguinte, cria-se um desequilíbrio que, por si só, pode resultar em doença. Seguem-se alguns exemplos de interesse.

1. Em pacientes hospitalizados que recebem antimicrobianos, ocorre a supressão da microbiota normal, criando uma perda parcial substituída pelos microrganismos mais prevalentes no ambiente, em particular bactérias aeróbias gram-negativas resistentes aos fármacos (p. ex., pseudomonas e estafilococos). Subsequentemente, esses microrganismos superinfectantes podem provocar graves infecções resistentes aos fármacos.
2. Em mulheres que tomam antibióticos por via oral, a microbiota vaginal normal pode ser suprimida, favorecendo o crescimento excessivo de *Candida*, situação que resulta em inflamação local (vulvovaginite) desagradável e prurido, de difícil controle.
3. Na presença de obstrução das vias urinárias, verifica-se alta tendência a infecções da bexiga. Quando a infecção das vias urinárias causada por microrganismo sensível (p. ex., *Escherichia coli*) é tratada com um fármaco apropriado, torna-se possível erradicar o microrganismo. Todavia, frequentemente ocorre, após a eliminação dos microrganismos sensíveis, reinfeção por outro bacilo gram-negativo resistente aos fármacos. Um processo semelhante é responsável pelas superinfecções das vias respiratórias em pacientes tratados com antimicrobianos para bronquite crônica.
4. Em indivíduos que recebem antimicrobianos durante vários dias, parte da microbiota intestinal normal pode ser suprimida. Em consequência, pode-se verificar o estabelecimento de grande quantidade de microrganismos resistentes aos fármacos no intestino, podendo provocar enterocolite grave (diarreia associada ao uso de antibióticos por *Clostridium difficile*).

USO CLÍNICO DOS ANTIBIÓTICOS

ESCOLHA DOS ANTIBIÓTICOS

A escolha racional dos antimicrobianos depende das considerações que se seguem.

Diagnóstico

É preciso estabelecer o diagnóstico etiológico específico, o que em geral pode ser feito com base nas impressões clínicas. Assim, na pneumonia lobar típica ou na infecção aguda do trato urinário, a relação entre o quadro clínico e o agente etiológico é suficientemente constante para permitir a escolha do antibiótico preferível, com base apenas na impressão clínica. Todavia, mesmo nesses casos, para evitar qualquer erro diagnóstico é melhor obter uma amostra representativa para estudo bacteriológico antes da administração de antimicrobianos.

Na maioria das infecções, a relação entre o agente causal e o quadro clínico não é constante. Por conseguinte, é importante obter amostras apropriadas para a identificação bacteriológica do agente etiológico. Logo após a coleta dessas amostras, pode-se iniciar a quimioterapia com base na “melhor suposição”. Identificado o agente etiológico por meio de exames laboratoriais, pode-se modificar o regime inicial, se necessário.

A “melhor suposição” do agente etiológico baseia-se nas seguintes considerações, entre outras: (1) o local da infecção (p. ex., pneumonia, infecção do trato urinário), (2) idade do paciente (p. ex., meningite neonatal, criança de pouca idade, adulto), (3) local em que a infecção foi contraída (hospital *versus* comunidade), (4) fatores mecânicos predisponentes (cateter intravascular, cateter urinário, ventilador, exposição ao vetor), e (5) fatores predisponentes do hospedeiro (imunodeficiência, uso de corticosteroides, transplante, quimioterapia para câncer, etc.).

Quando se conhece o agente etiológico de uma infecção clínica, o fármaco de escolha com frequência pode ser escolhido com base na experiência clínica atual. Em outras situações, é necessário recorrer a exames laboratoriais para determinar a sensibilidade aos antibióticos (ver adiante) a fim de se escolher o fármaco mais adequado.

Testes de sensibilidade

Os testes laboratoriais para a determinação da sensibilidade aos antibióticos são indicados nas seguintes circunstâncias: (1) quando o microrganismo recuperado é do tipo frequentemente resistente aos antimicrobianos (p. ex., bactérias entéricas gram-negativas); (2) quando o processo infeccioso tende a ser fatal, a não ser que seja tratado especificamente (p. ex., meningite, septicemia); e (3) em certas infecções nas quais a erradicação dos microrganismos infecciosos exige o uso de fármacos rapidamente bactericidas, e não apenas bacteriostáticos (p. ex., endocardite infecciosa). Os princípios básicos dos testes de sensibilidade aos antimicrobianos já foram apresentados anteriormente, neste capítulo. No Capítulo 47, constam outros aspectos laboratoriais dos testes de sensibilidade aos antimicrobianos.

PERIGOS DO USO INDISCRIMINADO

Às vezes, as indicações para administração de antibióticos precisam ser qualificadas pelas seguintes considerações:

1. Sensibilização generalizada da população, resultando em hipersensibilidade, anafilaxia, febre, distúrbios hematológicos, hepatite colestática e, talvez, doenças vasculares do colágeno.
2. Alterações da microbiota normal do corpo, com o desenvolvimento de doença em consequência de “superinfecção”, devido à proliferação exagerada de microrganismos resistentes aos fármacos.
3. Mascaramento de infecção grave sem erradicá-la. (p. ex., as manifestações clínicas de um abscesso podem ser suprimidas enquanto persiste o processo infeccioso).
4. Toxicidade direta do fármaco (p. ex., granulocitopenia ou trombocitopenia com o uso de cefalosporinas e penicilinas, bem como lesão renal ou lesão do nervo auditivo em decorrência do uso de aminoglicosídeos).
5. Desenvolvimento de resistência aos fármacos em populações microbianas, sobretudo pela eliminação dos microrganismos sensíveis aos fármacos dos ambientes saturados de antibióticos (p. ex., hospitais) e sua substituição por microrganismos resistentes.

ANTIMICROBIANOS USADOS EM ASSOCIAÇÃO

Indicações

Os principais motivos para o uso simultâneo de dois ou mais antimicrobianos em vez da administração de um único fármaco são as seguintes:

1. Tratar imediatamente os pacientes em estado crítico, sob suspeita de infecção microbiana grave. Deve-se estabelecer uma boa suposição, normalmente baseada nos dados disponíveis do antibiograma, acerca dos dois ou três patógenos mais prováveis, devendo os fármacos serem ativos contra esses microrganismos. Antes de se iniciar tal tipo de tratamento, é essencial obter amostras adequadas para a identificação laboratorial do agente etiológico. A suspeita de sepse por microrganismos gram-negativos ou estafilococos em pacientes imunocomprometidos, e de meningite bacteriana em crianças constitui a principal indicação nessa categoria.
2. Retardar o aparecimento de mutantes microbianos resistentes a um fármaco em infecções crônicas mediante o uso de um segundo ou terceiro fármaco sem reação cruzada. O exemplo mais proeminente é o da tuberculose ativa.
3. Tratar as infecções mistas, em particular as que ocorrem após traumatismo maciço ou afetam estruturas vasculares. Cada fármaco é dirigido contra um importante microrganismo patogênico.
4. Obter sinergia bactericida ou proporcionar uma ação bactericida (ver adiante). Em algumas infecções, como, por exemplo, sepse enterocócica, a combinação de fármacos tende mais a erradicar a infecção do que um fármaco administrado isoladamente. Essa sinergia é apenas parcialmente previsível, e a associação de dois fármacos pode ser sinérgica apenas para uma cepa microbiana. Em certas ocasiões, o uso simultâneo de dois fármacos permite uma redução significativa da dose, evitando-se, assim, a toxicidade e proporcionando, ao mesmo tempo, uma ação antimicrobiana satisfatória.

Desvantagens

As seguintes desvantagens no uso de antimicrobianos em combinações devem ser sempre consideradas:

1. O médico pode acreditar que, como vários fármacos já estão sendo administrados, tudo o que foi possível fazer pelo paciente já foi feito, resultando em relaxamento do empenho em estabelecer o diagnóstico específico, o que, além disso, pode proporcionar uma falsa sensação de segurança.
2. Quanto maior o número de fármacos administrados, maior a probabilidade de ocorrência de reações farmacológicas ou sensibilização do paciente aos fármacos.
3. O custo torna-se desnecessariamente elevado.
4. Em geral, as combinações de antimicrobianos não resultam em uma resposta melhor do que aquela obtida com a administração de um único fármaco eficaz.
5. Muito raramente, um fármaco pode antagonizar outro administrado concomitantemente (ver adiante).

Mecanismos

Quando dois antimicrobianos atuam simultaneamente em uma população microbiana homogênea, pode-se obter um dos seguintes efeitos: (1) indiferença, isto é, a ação combinada não se mostra superior à obtida quando o fármaco mais eficaz é administrado isoladamente; (2) adição, ou seja, a ação combinada é equivalente à soma das ações de cada fármaco quando utilizado isoladamente; (3) sinergia, ou seja, a ação combinada é significativamente superior à soma de ambos os efeitos; ou (4) antagonismo, ou seja, a ação combinada é inferior à ação do agente mais eficaz quando administrado isoladamente. Todos esses efeitos podem ser observados tanto *in vitro* (particularmente em termos de taxa bactericida) quanto *in vivo*.

Os efeitos que podem ser obtidos com combinações de antimicrobianos variam de acordo com diferentes associações e são específicos de cada cepa de microrganismo. Por conseguinte, nenhuma combinação é uniformemente sinérgica.

A terapia combinada não deve ser utilizada de modo indiscriminado; todos os esforços devem ser feitos para se utilizar um único antibiótico de primeira escolha. Nas infecções resistentes, os exames laboratoriais podem, algumas vezes, definir as combinações sinérgicas de fármacos que podem ser essenciais para a erradicação dos microrganismos.

Pode ocorrer **sinergismo antimicrobiano** em vários tipos de situação. As combinações sinérgicas de fármacos devem ser escolhidas mediante procedimentos laboratoriais complexos.

1. Dois fármacos podem bloquear sequencialmente uma via metabólica microbiana. As sulfonamidas inibem o uso do PABA extracelular por alguns micróbios para a síntese do ácido fólico. A trimetoprima ou a pirimetamina inibe a etapa metabólica seguinte, isto é, a redução do ácido di-hidrofólico a tetraidrofólico. O uso simultâneo de uma sulfonamida mais trimetoprima mostra-se eficaz em algumas infecções bacterianas (shigelose, salmonelose, infecção por espécies de *Serratia*) e outras (pneumocistose, malária). Utiliza-se a combinação de pirimetamina mais uma sulfonamida ou clindamicina na toxoplasmose.
2. Um fármaco como um agente inibidor da síntese de parede celular (uma penicilina ou cefalosporina) pode facilitar a entrada de um aminoglicosídeo nas bactérias, exercendo,

assim, efeitos sinérgicos. As penicilinas aumentam a captação de gentamicina ou estreptomicina pelos enterococos. Por conseguinte, a combinação de ampicilina com gentamicina pode ser essencial para a erradicação do *Enterococcus faecalis*, em particular na endocardite. De forma semelhante, a piperacilina combinada com a tobramicina pode ser sinérgica contra algumas cepas de *Pseudomonas*.

3. Um fármaco pode afetar a membrana celular e facilitar a penetração do segundo fármaco. O efeito combinado pode ser, então, superior à soma de suas partes. Assim, por exemplo, a anfotericina mostra-se sinérgica com a flucitosina contra determinados fungos (p. ex., *Cryptococcus*, *Candida*).
4. Um fármaco pode impedir a inativação de um segundo fármaco por enzimas microbianas. Assim, os inibidores da β -lactamase (p. ex., ácido clavulânico, sulbactam, tazobactam) podem proteger a amoxicilina, a ticarcilina ou a piperacilina da inativação pelas β -lactamases, circunstâncias em que ocorre uma forma de sinergismo.

O antagonismo antimicrobiano é nitidamente limitado por relações de tempo e dose e, por conseguinte, representa um evento raro na terapia antimicrobiana clínica. O antagonismo que resulta em maiores taxas de morbidade e mortalidade foi mais claramente demonstrado na meningite bacteriana. Ocorre quando um bacteriostático (que inibe a síntese das proteínas nas bactérias), como o cloranfenicol ou a tetraciclina, é administrado com um bactericida, como a penicilina ou um aminoglicosídeo. O antagonismo ocorre principalmente quando o bacteriostático atinge o local da infecção antes do bactericida; quando a destruição das bactérias é essencial para a cura; e se houver apenas doses eficazes mínimas de cada fármaco utilizado na combinação. Outro exemplo é dado pela combinação de agentes β -lactâmicos no tratamento das infecções por *P. aeruginosa* (p. ex., imipenem e piperacilina, em que o imipenem atua como potente indutor da β -lactamase e a β -lactamase degrada a piperacilina menos estável).

QUIMIOPROFILAXIA ANTIMICROBIANA

A quimioprofilaxia anti-infecciosa consiste na administração de antimicrobianos para evitar infecção. Em sentido mais amplo, inclui também o uso de antimicrobianos logo após a aquisição de microrganismos patogênicos (p. ex., após fratura composta), porém antes do aparecimento de sinais de infecção.

A utilidade da quimioprofilaxia limita-se à ação de um fármaco específico contra um microrganismo específico. O esforço para impedir que todos os tipos de microrganismo no ambiente se estabeleçam apenas seleciona os microrganismos mais resistentes aos fármacos como causa da infecção subsequente. Em todos os usos propostos de antimicrobianos profiláticos, o risco de o paciente contrair uma infecção deve ser avaliado com relação a toxicidade, custo, inconveniência e maior risco de superinfecção em decorrência do fármaco profilático.

Profilaxia em indivíduos com sensibilidade normal expostos a um patógeno específico

Nessa categoria, administra-se um fármaco específico para evitar o desenvolvimento de infecção específica. Alguns exemplos consistem em: injeção de penicilina G benzatina por via intramuscular, uma vez a cada 3 a 4 semanas, para evitar a

reinfecção por estreptococos hemolíticos do grupo A em pacientes reumáticos; prevenção da meningite por erradicação do estado de portador de meningococos com rifampicina ou ciprofloxacino; prevenção da sífilis com injeção de penicilina G benzatina; prevenção da peste pneumônica por administração oral de tetraciclina a indivíduos expostos a perdigotos infecciosos; prevenção de leptospirose com administração oral de doxiciclina em um ambiente hiperendêmico; e prevenção da malária em indivíduos em viagem por áreas endêmicas pela administração de fármacos, como a malarone*.

O tratamento precoce de uma infecção assintomática é, algumas vezes, denominado profilaxia. Por conseguinte, a administração de INH, 6 a 10 mg/kg/dia (máximo de 300 mg/dia) VO durante 6 meses, a um indivíduo assintomático que apresente conversão do teste tuberculínico negativo em positivo, pode evitar o desenvolvimento posterior de tuberculose clinicamente ativa.

Profilaxia em indivíduos com maior sensibilidade

A presença de certas anormalidades anatômicas ou funcionais predispõe a infecções graves. É possível prevenir ou evitar essas infecções com a administração de um fármaco específico durante um curto período. A seguir, são fornecidos alguns exemplos importantes.

A. Cardiopatia

Os indivíduos com anormalidades valvares cardíacas ou próteses valvares são inusitadamente suscetíveis à implantação de microrganismos que circulam na corrente sanguínea. Em alguns casos, essa endocardite infecciosa poderá ser evitada se for possível administrar o fármaco apropriado durante os períodos de bacteriemia. Grandes quantidades de estreptococos *viridans* são levadas para a circulação durante procedimentos dentários e cirurgias da boca ou garganta, circunstâncias em que o maior risco justifica o uso de um antimicrobiano profilático dirigido contra os estreptococos *viridans*. Por exemplo, a amoxicilina, administrada por via oral antes do procedimento e 2 horas depois, pode ser eficaz. Os indivíduos alérgicos à penicilina podem tomar eritromicina por via oral. Outros esquemas posológicos por via oral e parenteral podem ser eficazes.

Os enterococos são responsáveis por 5 a 15% dos casos de endocardite infecciosa, alcançando a corrente sanguínea a partir dos tratos urinário, gastrintestinal ou genital feminino. Durante procedimentos realizados nesses locais, se os pacientes estiverem infectados ou colonizados com enterococos, podem receber ampicilina associada a aminoglicosídeo (p. ex., gentamicina), sendo que ambos os fármacos devem ser administrados por vias intramuscular ou intravenosa 30 minutos antes do procedimento, para pessoas com anormalidades de válvulas cardíacas significativas e próteses valvares.

* N. de R.T. Malarone é uma associação, em dose fixa, de atovaquona e cloridrato de proguanilo, com ação esquizotônica no sangue e também com atividade contra as formas hepáticas do *Plasmodium falciparum*. Está indicada para profilaxia da malária por *Plasmodium falciparum* e tratamento da malária aguda por *Plasmodium falciparum*, não complicada. Malarone é eficaz contra o *P. falciparum*, sensível e resistente à terapêutica em áreas em que esse agente patogênico possa ser resistente a outros antimaláricos.

Durante e após o cateterismo cardíaco, as hemoculturas podem ser positivas em 10 a 20% dos pacientes. Muitos desses indivíduos também apresentam febre, porém poucos contraem endocardite. A administração profilática de antimicrobianos não parece influenciar tais eventos.

B. Doença das vias respiratórias

Utilizam-se sulfametoxazol-trimetoprima por via oral ou pentamidina em forma de aerossol para profilaxia contra pneumonia por *Pneumocystis jirovecii* em pacientes com Aids.

C. Infecção recorrente das vias urinárias

Para certas mulheres sujeitas a infecções frequentemente recidivantes das vias urinárias, a ingestão oral de nitrofurantoína ou sulfametoxazol-trimetoprima uma vez/dia ou três vezes/semana pode reduzir acentuadamente a frequência de recidivas sintomáticas durante longos períodos.

Algumas mulheres tendem a desenvolver sintomas de cistite após as relações sexuais. A ingestão de uma única dose de antimicrobiano (nitrofurantoína, sulfametoxazol-trimetoprima) pode evitar a cistite pós-coito, inibindo o crescimento das bactérias que, durante o ato sexual, se deslocam do introito para a uretra proximal ou para a bexiga.

D. Infecções oportunistas na presença de granulocitopenia grave

Os pacientes imunocomprometidos submetidos a transplante de órgãos ou quimioterapia antineoplásica frequentemente desenvolvem leucopenia profunda. Quando a contagem de neutrófilos cai para menos de 1.000/ μL , esses indivíduos tornam-se extremamente suscetíveis a infecções oportunistas, mais frequentemente sepse por microrganismos gram-negativos. Algumas vezes, tais indivíduos recebem fluoroquinolona ou cefalosporina ou uma combinação de fármacos (p. ex., vancomicina, gentamicina, cefalosporina) contra os patógenos oportunistas mais prevalentes ao primeiro sinal de infecção — ou mesmo na ausência de qualquer sinal clínico —, esquema mantido por vários dias até ocorrer novamente elevação da contagem de granulócitos. Vários estudos sugerem que esse procedimento é benéfico em terapia empírica. Dois casos clínicos — transplantes de fígado e medula óssea —, descritos no Capítulo 48, ilustram as infecções que ocorrem nesses pacientes e os antimicrobianos utilizados para profilaxia e tratamento.

Profilaxia em cirurgia

Uma porcentagem significativa dos antimicrobianos utilizados em hospitais é empregada por serviços cirúrgicos com o objetivo de profilaxia.

Várias características gerais da profilaxia cirúrgica merecem consideração:

1. Nos procedimentos cirúrgicos eletivos limpos (*i. e.*, intervenções durante as quais nenhum tecido com microbiota normal é invadido, a não ser a pele preparada), as desvantagens da profilaxia antibiótica “de rotina” (alergia, toxicidade, superinfecção) podem ser maiores que os possíveis benefícios, exceto quando se colocam peças metálicas (p. ex., articulação

do quadril artificial). Todavia, mesmo na herniografia “limpa”, uma única dose pré-operatória de uma cefalosporina de primeira geração resulta em notável benefício.

2. Em geral, a administração profilática de antibióticos só deverá ser considerada se a taxa esperada de complicações infecciosas for de 3 a 5%. Uma exceção a essa regra consiste na inserção eletiva de próteses (cardiovasculares, ortopédicas), visto que a possível ocorrência de infecção pode ter um efeito catastrófico.
3. As doses iniciais sistêmicas para a antibioticoprofilaxia devem ser administradas no momento da indução da anestesia. Uma exceção é a cirurgia eletiva de colo, na qual antibióticos devem ser administrados por via oral horas antes do procedimento.
4. A administração prolongada de antimicrobianos tende a alterar a microbiota normal dos órgãos, suprimindo os microrganismos suscetíveis e favorecendo a implantação de microrganismos resistentes aos fármacos. Assim, a profilaxia antimicrobiana em geral não deve ser mantida por mais de um dia após o procedimento, e o ideal é que seja administrada apenas no período intraoperatório.
5. Em geral, os níveis sistêmicos de antimicrobianos não impedem a ocorrência de infecção de ferida cirúrgica, pneumonia ou infecção das vias urinárias na presença de anormalidades fisiológicas ou de corpos estranhos.

Os antimicrobianos tópicos para profilaxia (no local de instalação de cateter intravenoso, drenagem urinária fechada, dentro de ferida cirúrgica, cimento ósseo acrílico, etc.) têm utilidade limitada.

Estudos recentes mostraram morbidade e mortalidade aumentadas com infecções de feridas pós-cirúrgicas por *S. aureus*, particularmente se a infecção for causada por MRSA. Muitos hospitais realizam triagens pré-cirúrgicas nas narinas para MRSA empregando tanto a cultura quanto métodos moleculares de detecção. Pacientes que estejam colonizados são tratados com mupirocina tópica nas narinas por 3 a 5 dias e banhos com clorexidina, na tentativa de eliminar a colonização prévia ao procedimento.

Desinfetantes

Os desinfetantes e antissépticos diferem dos antimicrobianos sistemicamente ativos pelo fato de apresentarem pouca toxicidade seletiva: são tóxicos não apenas para os patógenos microbianos, mas também para as células do hospedeiro. Por conseguinte, só podem ser utilizados para inativar microrganismos em ambiente inanimado ou, de modo limitado, na superfície cutânea, não podendo ser administrados por via sistêmica.

A ação antimicrobiana dos desinfetantes é determinada pela concentração, pelo tempo e pela temperatura, e a avaliação de seus efeitos pode ser complexa. O Quadro 28.2 traz alguns exemplos de desinfetantes utilizados em medicina ou em saúde pública.

ANTIMICROBIANOS PARA ADMINISTRAÇÃO SISTÊMICA

Consultar, no Quadro 28.3, a lista de microrganismos infectantes e as respectivas escolhas farmacológicas primárias e alternativas.

QUADRO 28.2 Desinfetantes químicos, antissépticos e agentes antimicrobianos tópicos

Desinfecção de ambientes inanimados	
Tampo de mesa, instrumentos	Lisol ou outros compostos fenólicos Formaldeído Glutaraldeído aquoso Compostos de amônio quaternário
Secreções, bandagens, comadres	Hipoclorito de sódio Lisol ou outros compostos fenólicos
Ar	Propilenoglicol aspergido ou aerossol Vapor de formaldeído
Instrumentos sensíveis ao calor	Óxido de etileno em gás (alquilatos de ácidos nucleicos; o gás residual precisa ser removido por aeração)
Desinfecção de pele ou feridas	
	Lavagem com água e sabão Sabão ou detergentes que contenham hexaclorofeno, triclorocarbanilida ou clorexidina Tintura de iodo Álcool etílico; álcool isopropílico Iodopovidona (hidrossolúvel) Peróxidos (peróxido de hidrogênio, ácido peracético) Nitrofurazona em gel ou solução
Fármacos tópicos para pele ou mucosas	
Na candidíase	Nistatina em creme Pomada de candicidina Miconazol em creme
Em queimaduras	Acetato de mafenida em creme Sulfadiazina de prata
Na dermatofitose	Ácido undecilênico em pó ou creme Tolnaftato em creme Azol em creme
Nas piодermites	Pomada de bacitracina-neomicina-polimixina Permanganato de potássio
Na pediculose	Loção de malation ou permetrina
Na descolonização nasal	Mupirocina
Aplicação tópica de fármacos nos olhos	
Para profilaxia da gonorreia	Eritromicina ou tetraciclina em pomada
Para conjuntivite bacteriana	Sulfacetamida em pomada Gentamicina ou tobramicina em pomada Ciprofloxacino em pomada Moxifloxacino, solução oftálmica Gatifloxacino em solução Levofloxacino em solução

PENICILINAS

As penicilinas derivam de bolores do gênero *Penicillium* (p. ex., *Penicillium notatum*) e são obtidas por extração de culturas em meios especiais. A penicilina natural mais amplamente utilizada é a penicilina G. A partir da fermentação de *Penicillium*, foi isolado o ácido 6-aminopenicilânico em larga escala. Isso possibilitou a síntese de uma variedade quase ilimitada de compostos de penicilina pela associação do grupo amino livre do ácido penicilânico a grupos carboxila livres de diferentes radicais.

Todas as penicilinas compartilham a mesma estrutura básica (ver o ácido 6-aminopenicilânico na Fig. 28.1). Um anel tiazolidina liga-se a um anel betalactâmico que transporta um grupo amino livre. Os radicais ácidos ligados ao grupo amino podem ser clivados por amidases bacterianas e outras amidases. A integridade estrutural do núcleo do ácido 6-aminopenicilânico é essencial para a atividade biológica dos compostos. Se o anel β -lactâmico for clivado enzimaticamente por β -lactamases (penicilinases), o produto resultante, o ácido peniciloico, carecerá de atividade antibacteriana. Entretanto, transportará um determinante antigênico das penicilinas e atuará como hapteno sensibilizante quando ligado a proteínas transportadoras.

As diferentes cadeias laterais ligadas ao ácido aminopenicilânico determinam as propriedades farmacológicas essenciais dos fármacos resultantes. As penicilinas clinicamente importantes são divididas em quatro grupos principais: (1) de maior atividade contra microrganismos gram-positivos, espiroquetas e alguns outros microrganismos, porém suscetíveis a hidrólise pelas betalactamases e pelos ácidos lábeis (p. ex., penicilina G); (2) de resistência relativa às β -lactamases, porém com menor atividade contra os microrganismos gram-positivos e inatividade contra os microrganismos gram-negativos (p. ex., nafcilina); (3) com atividade relativamente alta contra microrganismos gram-positivos e gram-negativos, porém destruídas pelas β -lactamases (p. ex., ampicilina, piperacilina); e (4) com estabilidade relativa ao ácido gástrico e apropriadas para administração oral (p. ex., penicilina V, cloxacilina, amoxicilina). A Figura 28.1 mostra alguns representantes. A maioria das penicilinas é apresentada em forma de sais de sódio ou potássio do ácido livre. A penicilina G potássica contém cerca de 1,7 mEq de K^+ por milhão de unidades (2,8 mEq/g). Os sais de procaína e os de benzatina de penicilina são formas de depósito para injeção intramuscular. Em forma de pó, as penicilinas são estáveis, porém as soluções perdem rapidamente a atividade, devendo ser preparadas no momento da administração.

Atividade antimicrobiana

A etapa inicial da ação da penicilina consiste na ligação do fármaco a receptores celulares, as PBPs. Pelo menos algumas dessas proteínas consistem em enzimas envolvidas em reações de transpeptidação. Pode-se verificar a presença de 3 a 6 (ou mais) PBPs por célula. Após a ligação das moléculas de penicilina aos receptores, a síntese do peptidoglicano é inibida devido ao bloqueio da transpeptidação final. Um evento bactericida final consiste em remoção ou inativação de um inibidor das enzimas autolíticas na parede celular. A ativação das enzimas autolíticas resulta em lise celular. Os microrganismos com deficiência da função de autolisina são inibidos, mas não destruídos, por fármacos β -lactâmicos, sendo, por isso, considerados “tolerantes”.

Como a síntese ativa da parede celular é necessária para a ação das penicilinas, os microrganismos metabolicamente inativos não são suscetíveis a esses fármacos.

Com frequência, a penicilina G e a penicilina V são medidas em unidades (1 milhão de unidades = 0,6 g), mas as penicilinas semissintéticas são medidas em gramas. Enquanto 0,002 a 1 μ g/mL de penicilina G são letais para a maioria dos microrganismos gram-positivos sensíveis, é necessária uma quantidade 10 a 100 vezes maior para destruir as bactérias gram-negativas (à exceção de neissérias).

QUADRO 28.3 Fármacos de escolha para patógenos microbianos sob suspeita ou comprovados

Agente etiológico sob suspeita ou comprovado	Fármaco(s) de primeira escolha	Fármaco(s) alternativo(s)
Cocos gram-negativos		
<i>Moraxella catarrhalis</i>	Cefuroxima, uma fluoroquinolona ^a	SMZ-TMP ^b , cefotaxima, ceftizoxima, cefpodoxima, eritromicina ^c , doxiciclina ^d , azitromicina, amoxicilina-ácido clavulânico, claritromicina
<i>Neisseria gonorrhoeae</i> (gonococo)	Ceftriaxona	Cefixima, cefotaxima, penicilina G
<i>Neisseria meningitidis</i> (meningococo)	Penicilina G ^e	Cefotaxima, ceftizoxima, ceftriaxona, cloranfenicol, fluoroquinolona
Cocos gram-positivos		
<i>Streptococcus pneumoniae</i> (pneumococo) ⁹	Penicilina G ^e ou V, amoxicilina	Uma eritromicina ^c , uma cefalosporina ^f , vancomicina, SMZ-TMP ^b , clindamicina, azitromicina, claritromicina, uma tetraciclina ^d , imipenem, meropenem, doripenem ou ertapenem, quinupristina-dalfopristina, certas fluoroquinolonas ^a , linezolida, televancina
<i>Streptococcus</i> , hemolíticos, grupos A, B, C e G	Penicilina G ^e ou V; ampicilina	Uma eritromicina ^c , uma cefalosporina ^f , vancomicina, clindamicina, azitromicina, claritromicina, linezolida, daptomicina, televancina
Estreptococos <i>viridans</i>	Penicilina G ^e ± gentamicina	Uma cefalosporina ^f , vancomicina, televancina
<i>Staphylococcus</i> , resistentes à meticilina (MRSA)	Vancomicina ± gentamicina ± rifampicina	SMZ+TMP ^b , doxiciclina, uma fluoroquinolona ^c , linezolida, quinupristina-dalfopristina, daptomicina, tigeciclina, ceftarolina
<i>Staphylococcus</i> , não produtor de penicilinase	Penicilina ^e	Uma cefalosporina ^f , vancomicina, imipenem, meropenem, uma fluoroquinolona ^a , clindamicina
<i>Staphylococcus</i> , produtor de penicilinase	Penicilina resistente a penicilinase ^h	Vancomicina, uma cefalosporina ^f , clindamicina, amoxicilina-ácido clavulânico, ampicilina-sulbactam, piperacilina-tazobactam, imipenem, meropenem, uma fluoroquinolona ^a , SMZ-TMP ^b , daptomicina, linezolida, televancina
<i>Enterococcus faecalis</i>	Ampicilina + gentamicina ^j	Vancomicina + gentamicina ou estreptomicina, linezolida, daptomicina, quinupristina-dalfopristina, televancina, tigeciclina
<i>Enterococcus faecium</i>	Vancomicina + gentamicina ^j	Quinupristina-dalfopristina, linezolida; daptomicina
Bacilos gram-negativos		
<i>Acinetobacter</i>	Imipenem ou meropenem	Doxiciclina, SMZ-TMP ^b , doxiciclina, aminoglicosídeos ^j , ceftazidima, uma fluoroquinolona ^a , piperacilina-tazobactam, ticarcilina-ác. clavulânico, sulbactam, colistina, tigeciclina
<i>Prevotella</i> , cepas de orofaringe	Clindamicina	Penicilina ^e , metronidazol, ceftaxima, cefotetana
<i>Bacteroides</i>	Metronidazol	Cloranfenicol, imipenem, meropenem, ertapenem, ticarcilina-ác. clavulânico, ampicilina-sulbactam, piperacilina-tazobactam; amoxicilina-ác. clavulânico
<i>Brucella</i>	Tetraciclina + rifampicina ^d	SMZ-TMP ^b ± gentamicina; cloranfenicol ± gentamicina; doxiciclina + gentamicina; ciprofloxacino + rifampicina
<i>Campylobacter jejuni</i>	Eritromicina ^c ou azitromicina	Tetraciclina ^d , uma fluoroquinolona ^a , gentamicina
<i>Enterobacter</i>	Imipenem, meropenem ou cefepima	Aminoglicosídeo, ciprofloxacino, piperacilina-tazobactam, SMZ-TMP ^b , cefalosporina de terceira geração, tigeciclina, aztreonam
<i>Escherichia coli</i> (sepsis)	Cefotaxima, ceftriaxona, ceftazidima, cefepima	Imipenem, meropenem ou ertapenem, aminoglicosídeos ^j , uma fluoroquinolona ^a , piperacilina-tazobactam
<i>Escherichia coli</i> (infecção urinária não complicada)	Fluoroquinolonas ^a , nitrofurantoína	SMZ-TMP ^b , cefalosporina oral, fosfomicina

(continua)

QUADRO 28.3 Fármacos de escolha para patógenos microbianos sob suspeita ou comprovados (*continuação*)

Agente etiológico sob suspeita ou comprovado	Fármaco(s) de primeira escolha	Fármaco(s) alternativo(s)
<i>Haemophilus</i> (meningite e outras infecções graves)	Cefotaxima, ceftriaxona	Cloranfenicol, meropenem
<i>Haemophilus</i> (infecções respiratórias, otite)	SMZ-TMP ^b	Ampicilina, amoxicilina, doxiciclina, azitromicina, claritromicina, cefotaxima, ceftizoxima, ceftriaxona, cefuroxima, cefuroxima axetil, uma fluoroquinolona, uma tetraciclina, amoxicilina-ác. clavulânico
<i>Helicobacter pylori</i>	Inibidor da bomba de próton + claritromicina + amoxicilina ou metronidazol	Subsalicilato de bismuto + metronidazol + tetraciclina HCl + inibidor da bomba de próton ou bloqueador de H ₂
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Cefotaxima, ceftriaxona, cefepima ou ceftazidima	SMZ-TMP ^b , aminoglicosídeo ^j , imipenem, meropenem ou ertapenem, uma fluoroquinolona ^a , piperacilina-tazobactam, aztreonam, ticarcilina-ác. clavulânico, tigeciclina
Espécies de <i>Legionella</i> (pneumonia)	Azitromicina ou fluoroquinolonas ^c ± rifampicina	SMZ-TMP ^b , doxiciclina ± rifampicina, eritromicina
<i>Proteus mirabilis</i>	Ampicilina	Um aminoglicosídeo ^j , SMZ-TMP ^b , uma fluoroquinolona ^a , uma cefalosporina ^f , imipenem, meropenem ou ertapenem, ticarcilina-ác. clavulânico, piperacilina-tazobactam, cloranfenicol
<i>Proteus vulgaris</i> e outras espécies (<i>Morganella</i> , <i>Providencia</i>)	Cefotaxima, ceftriaxona, ceftazidima, cefepima	Aminoglicosídeo ^j , SMZ-TMP ^b , uma fluoroquinolona ^c , imipenem, meropenem ou ertapenem, aztreonam, ticarcilina-ác. clavulânico, piperacilina-tazobactam, ampicilina-sulbactam, amoxicilina-ác. clavulânico
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Aminoglicosídeo ^j + penicilina antipseudomonas ^k	Ceftazidima ± aminoglicosídeo; imipenem ou meropenem ± aminoglicosídeo; aztreonam ± aminoglicosídeo; ciprofloxacino; cefepima
<i>Burkholderia pseudomallei</i> (melioidose)	Ceftazidima, imipenem	Cloranfenicol + tetraciclina ^d , SMZ-TMP ^b , amoxicilina-ác. clavulânico, meropenem
<i>Burkholderia mallei</i> (mormo)	Estreptomicina + tetraciclina ^d	Cloranfenicol + estreptomicina; imipenem
<i>Salmonella</i> (bacteriemia)	Cefotaxima, ceftriaxona ou uma fluoroquinolona ^a	SMZ-TMP ^b , ampicilina, cloranfenicol
<i>Serratia</i>	Imipenem ou meropenem	SMZ-TMP ^b , aminoglicosídeos ^j , uma fluoroquinolona ^a , ceftriaxona, cefotaxima, ceftizoxima, ceftazidima, cefepima
<i>Shigella</i>	Uma fluoroquinolona ^a	Ampicilina, SMZ-TMP ^b , ceftriaxona, azitromicina
<i>Vibrio cholerae</i> (cólera, sepse) <i>Yersinia enterocolitica</i>	Tetraciclina ^d , SMZ-TMP	SMZ-TMP ^b , uma fluoroquinolona ^c , um aminoglicosídeo ^j , cefoxitima
<i>Yersinia pestis</i> (peste)	Estreptomicina ± uma tetraciclina ^a	Cloranfenicol, SMZ-TMP ^b , ciprofloxacino, gentamicina
Bacilos gram-positivos		
<i>Actinomyces</i>	Penicilina ^e	Doxiciclina ^d , clindamicina, eritromicina
<i>Bacillus</i> (inclusive antraz)	Penicilina ^e (ciprofloxacino ou doxiciclina para o antraz)	Eritromicina ^c , tetraciclina ^d , uma fluoroquinolona ^a
<i>Bacillus anthracis</i>	Ciprofloxacino, uma tetraciclina	Penicilina G, amoxicilina, eritromicina, imipenem, clindamicina, levofloxacino
<i>Bacillus cereus</i> (<i>subtilis</i>)	Vancomicina	Imipenem ou meropenem, clindamicina
<i>Clostridium</i> (p. ex., gangrena gasosa, tétano)	Penicilina G ^e ; clindamicina	Metronidazol, cloranfenicol, imipenem, meropenem ou ertapenem
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	Eritromicina ^c	Penicilina G ^e
<i>Corynebacterium jeikeium</i>	Vancomicina	Penicilina G + gentamicina, eritromicina
<i>Listeria monocytogenes</i>	Ampicilina ± aminoglicosídeo ^j	SMZ-TMP ^b

(continua)

QUADRO 28.3 Fármacos de escolha para patógenos microbianos sob suspeita ou comprovados (*continuação*)

Agente etiológico sob suspeita ou comprovado	Fármaco(s) de primeira escolha	Fármaco(s) alternativo(s)
Bacilos álcool-acidorresistentes		
<i>Mycobacterium tuberculosis</i> ^l	INH + rifampicina + pirazinamida ± etambutol ou estreptomicina	Uma fluoroquinolona; cicloserina; capreomicina ou canamicina ou amicacina; etionamida; PAS
<i>Mycobacterium leprae</i>	Dapsona + rifampicina ± clofazimina	Minociclina; ofloxacino; claritromicina
<i>Mycobacterium kansasii</i>	INH + rifampicina ± etambutol ou estreptomicina	Etionamida; cicloserina; claritromicina ou azitromicina
Complexo <i>Mycobacterium avium</i>	Claritromicina ou azitromicina + um ou mais dos seguintes: etambutol ± rifabutina	Amicacina, ciprofloxacino
<i>Mycobacterium fortuitum-chelonae</i>	Amicacina + claritromicina	Cefoxitina, sulfonamida, doxiciclina, linezolida, rifampicina, etambutol
Nocardia	SMZ-TMP ^b	Imipenem ou meropenem, sulfisoxazol, linezolida, uma tetraciclina, amicacina; ceftriaxona; cicloserina
Espiroquetas		
<i>Borrelia burgdorferi</i> (doença de Lyme)	Doxiciclina, amoxicilina, axetilcefuroxima	Ceftriaxona, cefotaxima, penicilina G, azitromicina, claritromicina
<i>Borrelia recurrentis</i> (febre recorrente)	Doxiciclina ^d ou outra tetraciclina	Penicilina G ^e ; eritromicina
Leptospira	Penicilina G ^e	Doxiciclina ^d , ceftriaxona
<i>Treponema pallidum</i> (sífilis)	Penicilina G ^e	Doxiciclina ^d , ceftriaxona
<i>Treponema pertenue</i> (bouba)	Penicilina G ^e	Doxiciclina ^d
Micoplasmas	Eritromicina ^c ou doxiciclina ^d ; claritromicina; azitromicina	Uma fluoroquinolona ^a
Clamídias		
<i>Chlamydia psittaci</i>	Uma tetraciclina	Cloranfenicol
<i>Chlamydia trachomatis</i> (uretrite ou doença inflamatória pélvica)	Doxiciclina ^d ou azitromicina	Ofloxacino; eritromicina; amoxicilina
<i>Chlamydia pneumoniae</i>	Uma tetraciclina, eritromicina ^d , claritromicina, azitromicina	Uma fluoroquinolona ^{a, m}
Riquétsias	Doxiciclina	Cloranfenicol, uma fluoroquinolona ^a

^aAs fluoroquinolonas incluem ciprofloxacino, ofloxacino, levofloxacino, moxifloxacino, gatifloxacino e outros (ver o texto). Gatifloxacino, levofloxacino e moxifloxacino têm a melhor atividade contra microrganismos gram-positivos, inclusive *S. pneumoniae* resistente a penicilina e *Staphylococcus aureus* sensível à meticilina. A atividade contra enterococos e *S. epidermidis* é variável. O ciprofloxacino tem a melhor atividade contra *P. aeruginosa*.

^bSMZ-TMP é uma mistura de cinco partes de sulfametoxazol e uma parte de trimetoprima.

^cO estolato de eritromicina é melhor absorvido oralmente, porém apresenta como complicação importante a hepatite medicamentosa. A eritromicina também está disponível na forma de estearato de eritromicina e de etilsuccinato de eritromicina.

^dTodas as tetraciclinas têm atividade similar contra a maioria dos microrganismos. Minociclina (e seus derivados, como a tigeciclina) e doxiciclina têm atividade aumentada contra *S. aureus*. A dosagem é determinada pelas taxas de absorção e excreção de várias preparações. Esses fármacos não são recomendados para gestantes ou para crianças menores de 8 anos.

^eA penicilina G é preferida para injeção parenteral e a penicilina V, para administração oral — para ser usada somente no tratamento de infecções causadas por microrganismos altamente sensíveis.

^fA maioria das cefalosporinas intravenosas (com exceção da ceftazidima) têm boa atividade contra cocos gram-positivos.

^gResistência de alto nível e intermediária à penicilina foi descrita. As infecções causadas por cepas com resistência intermediária podem responder a altas doses de penicilina, cefotaxima ou ceftriaxona. Infecções causadas por cepas altamente resistentes devem ser tratadas com vancomicina ± rifampicina. Muitas cepas de pneumococos resistentes a penicilina são resistentes a eritromicina, macrolídeos, SMZ-TMP e cloranfenicol.

^hNafcilina ou oxacilina parenterais; dicloxacilina, cloxacilina ou oxacilina oral.

ⁱA adição de gentamicina é indicada somente para infecções graves por enterococos (p. ex., endocardites, meningite).

^jAminoglicosídeos — gentamicina, tobramicina, amicacina, netilmicina — devem ser escolhidos com base nos padrões locais de sensibilidade.

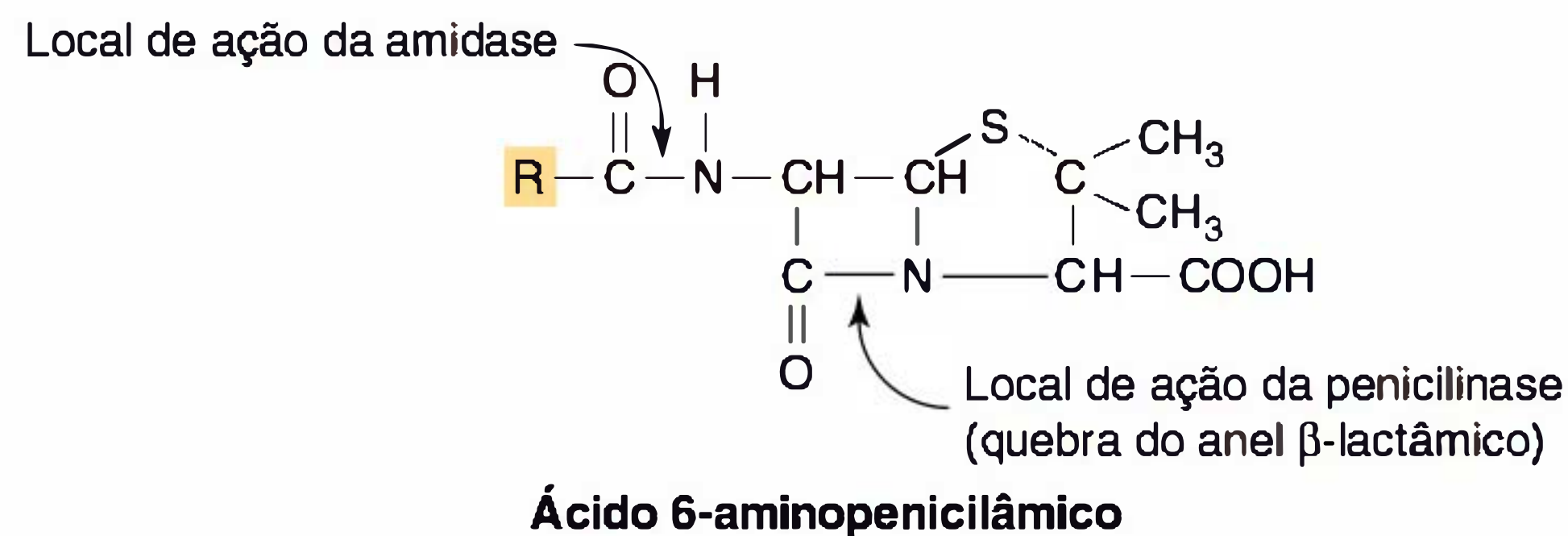
^kPenicilinas antipseudomonas: ticarcilina e piperacilina.

^lA resistência pode ser um problema e devem ser realizados testes de sensibilidade.

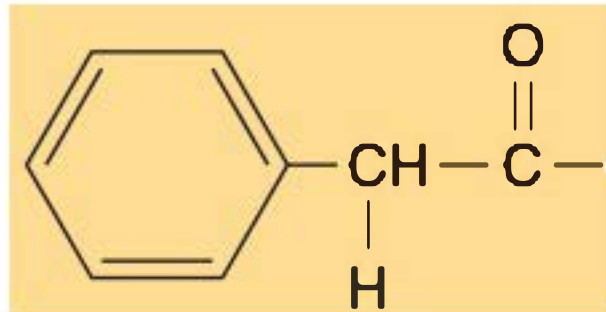
^mO ciprofloxacino tem uma atividade anticlamídia inferior a das novas fluoroquinolonas.

INH, isoniazida; PAS, ácido para-aminossalicílico; SMZ-TMP, sulfametoxazol-trimetoprima.

Reproduzido, com permissão, do *Treatment Guidelines from The Medical Letter*, 2010;8(94):43. www.medicalletter.org.

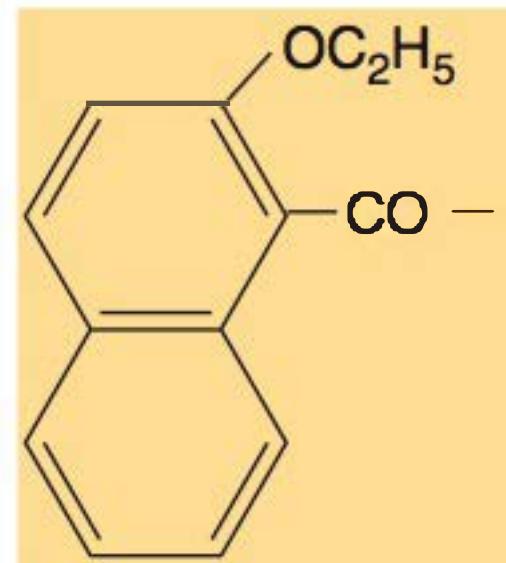


As estruturas a seguir podem ser substituídas em R para produzir uma nova penicilina.



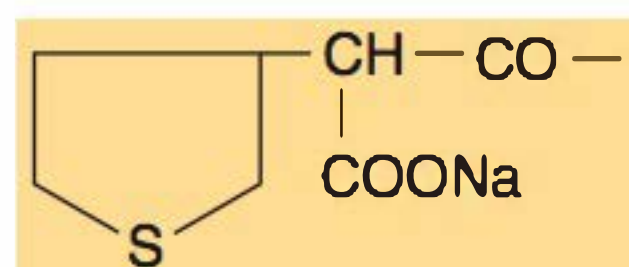
Penicilina G (benzilpenicilina):

Alta atividade contra bactérias gram-positivas
Baixa atividade contra bactérias gram-negativas
Acidolábil. Destruída por β -lactamases.
60% de ligação a proteínas.



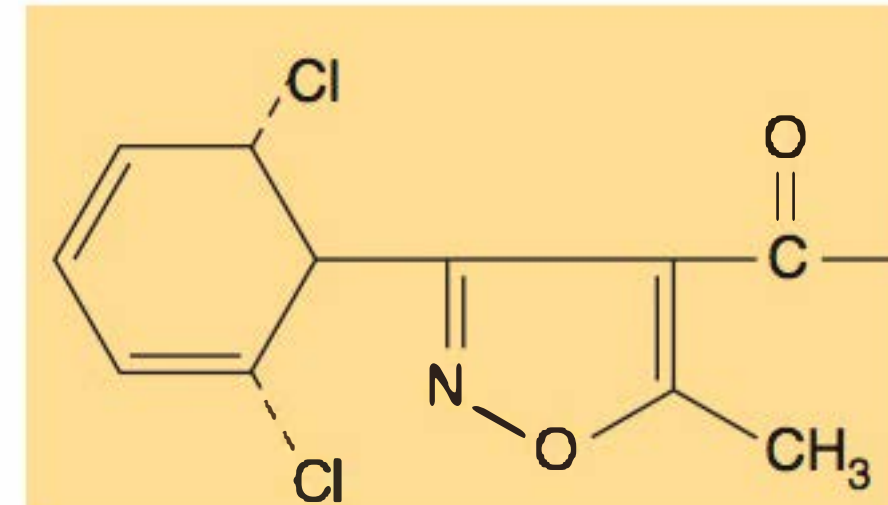
Nafcilina (etoxinaftamidopenicilina):

Similar a penicilinas isoxazolil. Ligação a proteínas na ordem de 90%. Pode ser administrada por via oral ou via venosa. Resistente a β -lactamases estafilocócicas.



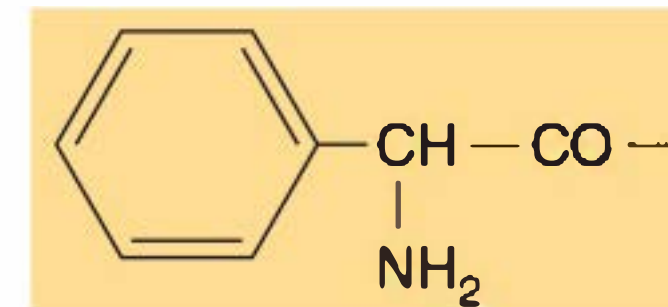
Ticarcilina:

Similar à carbenicilina, mas alcança altos níveis no sangue.
Piperacilina, azlocilina e mezlocilina assemelham-se à ticarcilina na ação contra aeróbios gram-negativos.



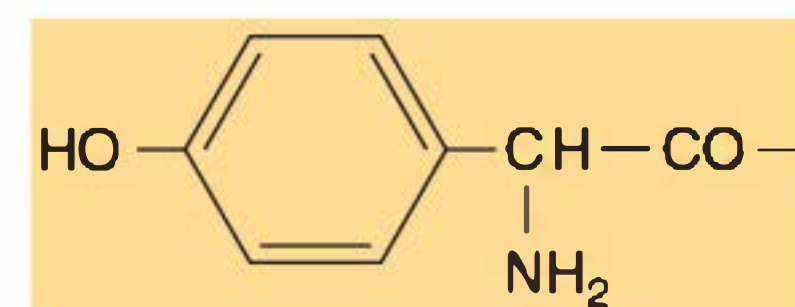
Oxacilina (sem átomos de Cl); cloxacilina (um Cl na estrutura); dicloxacilina (dois Cl na estrutura); flucloxacilina (um Cl e um F na estrutura) (penicilinas isoxazolil)

Similares à metilicina na resistência a β -lactamases, mas acidoestáveis.
Podem ser administrados por via oral. Alta ligação a proteínas (95 a 98%).



Ampicilina (alfa-aminobenzilpenicilina):

Similar à penicilina G (destruída por β -lactamases), mas estável a ácidos e mais ativa contra bactérias gram-negativas.
A carbenicilina possui -COONa em vez de um grupo -NH₂.



Amoxicilina:

Similar à ampicilina, mas é melhor absorvida, alcança altos níveis no sangue.

FIGURA 28.1 Estruturas de algumas penicilinas.

Resistência

A resistência às penicilinas pode ser dividida em diversas categorias:

1. produção de β -lactamases por estafilococos, bactérias gram-negativas, *Haemophilus*, gonococos e outros microrganismos. São conhecidas mais de 50 β -lactamases diferentes, sendo a maioria produzida sob o controle dos plasmídeos bacterianos. Algumas β -lactamases são induzíveis pelas cefalosporinas mais novas.
2. ausência ou alteração de PBPs (p. ex., pneumococos, enterococos) ou inacessibilidade dos receptores devido à existência de barreiras de permeabilidade nas membranas externas bacterianas, frequentemente sob controle cromossômico.

3. falta de ativação das enzimas autolíticas na parede celular, podendo resultar em inibição sem destruição das bactérias (p. ex., tolerância de alguns estafilococos).
4. incapacidade de sintetizar o peptidoglicano, como, por exemplo, nos micoplasmas, nas formas L ou nas bactérias metabolicamente inativas.

Absorção, distribuição e excreção

Após administração intramuscular ou intravenosa, a absorção da maioria das penicilinas é rápida e completa. Após administração oral, apenas 5 a 30% da dose da maioria das penicilinas são absorvidas, dependendo da estabilidade ácida, da ligação a alimentos, da presença de tampões, etc. A amoxicilina é bem

absorvida. Após absorção, as penicilinas distribuem-se amplamente pelos tecidos e líquidos corporais.

Foram desenvolvidas formas posológicas especiais para absorção tardia, a fim de se obterem níveis do fármaco por longos períodos. Após dose única intramuscular de penicilina benzatina, 1,5 g (2,4 milhões de unidades), são mantidos níveis séricos de 0,03 unidade/mL durante 10 dias e níveis de 0,005 unidade/mL durante 3 semanas. A penicilina procaína, administrada por via intramuscular, produz níveis terapêuticos durante 24 horas.

Em muitos tecidos, as concentrações de penicilina assemelham-se às observadas no soro. São encontrados níveis mais baixos nos olhos, na próstata e no sistema nervoso central. Todavia, na meningite verifica-se um aumento da penetração do fármaco, e ocorrem níveis de 0,5 a 5 µg/mL no líquido cerebrospinal (LCS), com uma dose parenteral diária de 12 g.

As penicilinas são, em sua maioria, rapidamente excretadas pelos rins. Cerca de 10% da excreção renal ocorrem por filtração glomerular, e 90% por secreção tubular, podendo esta última ser parcialmente bloqueada pela probenecida, o que resulta em maiores níveis sistêmicos e no LCS. No recém-nascido e em indivíduos com insuficiência renal, a excreção de penicilina apresenta-se reduzida, e os níveis sistêmicos permanecem elevados por mais tempo. Algumas penicilinas (p. ex., nafcilina) são eliminadas principalmente por mecanismos não renais.

Usos clínicos

As penicilinas são os antibióticos mais amplamente utilizados, em especial nas condições tratadas a seguir.

A penicilina G constitui o fármaco de escolha na maioria das infecções causadas por estreptococos, pneumococos, meningococos, espiroquetas, clostrídeos, bastonetes gram-positivos aeróbios, estafilococos não produtores de penicilinase e actinomicetos.

A penicilina G é inativa para os enterococos (*E. faecalis*), devendo-se adicionar um aminoglicosídeo para a obtenção de efeitos bactericidas (p. ex., na endocardite enterocócica). A penicilina G, administrada em doses habituais, é excretada na urina em altas concentrações suficientes para inibir alguns microrganismos gram-negativos, a não ser que estes produzam β-lactamases em grandes quantidades.

A penicilina G benzatina é um sal de solubilidade muito baixa, administrado por via intramuscular para obtenção de níveis baixos, porém prolongados do fármaco. Uma única injeção de 1,2 milhão de unidades (0,7 g) constitui um tratamento satisfatório para faringite por estreptococos do grupo A e sífilis primária. A mesma injeção, uma vez a cada 3 a 4 semanas, constitui profilaxia satisfatória contra a reinfecção por estreptococos do grupo A em pacientes com febre reumática.

A infecção por estafilococos produtores de β-lactamase constitui a única indicação de uso das penicilinas resistentes a penicilinase, como, por exemplo, nafcilina ou oxacilina. Cloxacilina ou dicloxacilina por via oral pode ser administrada para tratamento de infecções estafilocócicas mais leves. Os estafilococos resistentes a oxacilina e nafcilina possuem o gene *mecA* e produzem uma PBP (PBP2a) de baixa afinidade pelos β-lactâmicos.

A amoxicilina por via oral é mais bem absorvida que a ampicilina e produz níveis mais elevados. A amoxicilina, administrada juntamente com o ácido clavulânico, mostra-se eficaz contra o *H. influenzae* produtor de β-lactamase. A ticarcilina assemelha-se à ampicilina, porém é mais ativa contra os bastonetes gram-negativos. Em geral, é administrada na sepse por

microrganismos gram-negativos, em combinação com um aminoglicosídeo (p. ex., gentamicina). Contudo, essa combinação terapêutica vem sendo substituída por um único agente de largo espectro, como as carpabenemas, quinolonas e as cefalosporinas de espectro ampliado. A piperacilina é mais eficaz contra os bastonetes gram-negativos aeróbios, especialmente pseudomonas; associada ao inibidor da betalactamase tazobactam, tem maior atividade contra alguns bastonetes gram-negativos produtores de betalactamase. Entretanto, a combinação de piperacilina com tazobactam não é mais ativa que a piperacilina isoladamente contra *P. aeruginosa*.

Efeitos colaterais

As penicilinas possuem menos toxicidade direta que a maioria dos outros antimicrobianos. Os efeitos colaterais mais graves são decorrentes da hipersensibilidade.

Todas as penicilinas exibem sensibilidade e reação cruzada. Qualquer material (inclusive leite e cosméticos) que contenha penicilina pode provocar sensibilização. Os antígenos responsáveis consistem em produtos de degradação (p. ex., ácido peniciloico) ligados a proteínas do hospedeiro. Os testes cutâneos com peniciloil-polilisina, produtos de hidrólise alcalina e penicilina não degradada identificam hipersensibilidade em muitas pessoas. Entre os indivíduos que reagem de modo positivo aos testes cutâneos, a incidência de reações alérgicas imediatas significativas é elevada. Tais reações estão associadas a anticorpos IgE ligados às células. Os anticorpos IgG contra a penicilina são comuns e não estão associados a reações alérgicas, exceto em raros casos de anemia hemolítica. História pregressa de reação à penicilina não é confiável; todavia, o fármaco precisa ser administrado com cautela a esses indivíduos, ou deve-se prescrever um fármaco substituto.

Podem ocorrer reações alérgicas em forma de choque anafilático típico, reações típicas da doença do soro (urticária, edema das articulações, edema angioneurótico, prurido, dificuldade respiratória 7 a 12 dias após a administração de penicilina) e uma variedade de erupções cutâneas, febre, nefrite, eosinofilia, vasculite, etc. A incidência de hipersensibilidade à penicilina é desprezível em crianças, mas pode atingir 1 a 5% entre os adultos nos EUA. As reações anafiláticas agudas potencialmente fatais são muito raras (0,5%). Algumas vezes, os corticosteroides podem suprimir as manifestações alérgicas às penicilinas.

A administração de doses muito altas pode resultar em concentrações irritantes no SNC. Em pacientes com insuficiência renal, o uso de doses menores pode provocar encefalopatia, *delirium* e convulsões. Com essas doses, pode ocorrer também toxicidade direta do cátion (K⁺). Em certas ocasiões, a nafcilina causa granulocitopenia. As penicilinas orais podem induzir diarreia. As penicilinas em altas doses podem resultar em tendência hemorrágica. Algumas penicilinas tornaram-se obsoletas devido à sua elevada toxicidade. A meticilina provoca nefrite intersticial com demasiada frequência. A carbenicilina diminui frequentemente a agregação plaquetária normal, podendo resultar em sangramento clinicamente significativo.

CEFALOSPORINAS

Alguns fungos cefalospóreos produzem substâncias antimicrobianas denominadas cefalosporinas. São compostos β-lactâmicos, com um núcleo de ácido 7-aminocefalosporânico (Fig. 28.2),

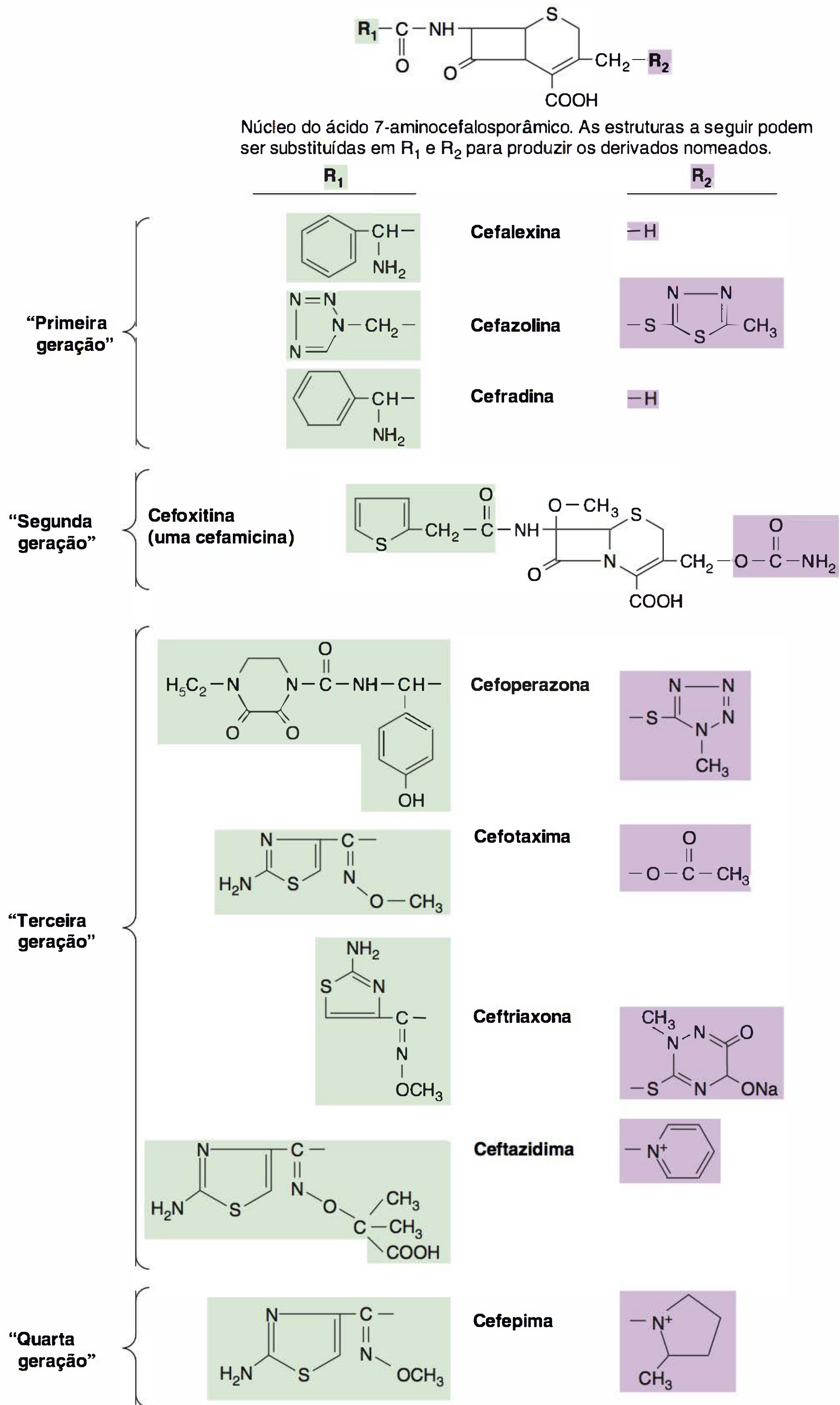


FIGURA 28.2 Estruturas de algumas cefalosporinas.

em vez do ácido 6-aminopenicilânico das penicilinas. As cefalosporinas naturais têm baixa atividade antibacteriana, porém a ligação de vários grupos laterais R resultou na proliferação de enorme variedade de fármacos com propriedades farmacológicas bem como espectros e atividades antimicrobianos variáveis. As cefamicinas assemelham-se às cefalosporinas, porém derivam de actinomicetos.

O mecanismo de ação das cefalosporinas é análogo ao das penicilinas: (1) ligação às PBPs específicas que atuam como receptoras de fármacos nas bactérias; (2) inibição da síntese da parede celular pelo bloqueio da transpeptidação do peptidoglicano; e (3) ativação das enzimas autolíticas na parede celular, capazes de produzir lesões com a consequente morte da bactéria. A resistência às cefalosporinas pode ser atribuída a (1) penetração deficiente do fármaco nas bactérias; (2) ausência de PBP para um fármaco específico; e (3) degradação do fármaco por β -lactamases, muitas das quais existem. Certas cefalosporinas de segunda e terceira gerações são capazes de induzir beta-lactamases especiais em bactérias gram-negativas. Todavia, as cefalosporinas em geral tendem a ser resistentes às betalactamases produzidas por estafilococos e bactérias gram-negativas comuns que hidrolisam e inativam muitas penicilinas.

Para maior facilidade de referência, as cefalosporinas foram divididas em três grandes grupos ou “gerações”, discutidos adiante (Quadro 28.4). Muitas cefalosporinas são excretadas principalmente pelo rim, podendo acumular-se e induzir toxicidade em indivíduos com insuficiência renal.

Cefalosporinas de primeira geração

As cefalosporinas de primeira geração são muito ativas contra os cocos gram-positivos, com exceção dos enterococos e do MRSA, e são moderadamente ativas contra alguns bastonetes gram-negativos (principalmente *E. coli*, *Proteus* e *Klebsiella*). Além disso, os cocos anaeróbios são frequentemente sensíveis, exceto as amostras de *Bacteroides fragilis*.

A cefalexina, a cefradina e a cefadroxila são absorvidas em grau variável pelo intestino, podendo ser utilizadas no tratamento de infecções das vias urinárias e respiratórias. Outras cefalosporinas de primeira geração devem ser injetadas para produzir níveis adequados no sangue e nos tecidos. A cefazolina constitui um fármaco de escolha para a profilaxia cirúrgica, uma vez que produz os maiores níveis (90 a 120 $\mu\text{g}/\text{mL}$) com uma dose a cada 8 horas. A cefalotina e cefapirina na mesma dose produzem níveis mais baixos. Nenhuma das cefalosporinas de primeira geração penetra no SNC, de modo que não constituem fármacos de primeira escolha para nenhuma infecção.

Cefalosporinas de segunda geração

As cefalosporinas de segunda geração formam um grupo heterogêneo, sendo todas ativas contra os microrganismos sensíveis às cefalosporinas de primeira geração; todavia, possuem extensa cobertura contra os bastonetes gram-negativos — como *Klebsiella* e *Proteus*, mas não contra *P. aeruginosa*.

Algumas das cefalosporinas (mas não todas) de segunda geração por via oral podem ser utilizadas no tratamento de sinusite e otite causadas por *H. influenzae*, inclusive cepas produtoras de β -lactamase.

QUADRO 28.4 Principais grupos de cefalosporinas

Primeira geração
Cefadroxila
Cefalexina ^a
Cefalotina
Cefapirina
Cefazolina
Cefradina ^a
Segunda geração
Axetilcefuroxima ^a
Cefaclor ^a
Cefamandol
Cefmetazol
Cefonicida
Ceforanida
Cefoxitina
Cefotetana
Cefprozila ^a
Cefuroxima
Terceira geração
Cefdinir ^a
Cefixima ^a
Cefoperazona
Cefotaxima
Cefpodoxima proxetil ^a
Ceftazidima
Ceftibuteno ^a
Ceftizoxima
Ceftriaxona
Quarta geração
Cefepima
Quinta geração
Ceftarolina
Ceftobiprole

^aAgentes orais.

A cefoxitina e a cefotetana mostram-se ativas contra o *B. fragilis* e, por conseguinte, são utilizadas no tratamento das infecções anaeróbias mistas, como peritonite ou doença inflamatória pélvica. Entretanto, a resistência a estes fármacos entre o grupo do *B. fragilis* vem aumentando substancialmente.

Cefalosporinas de terceira geração

As cefalosporinas de terceira geração exibem menor atividade contra os cocos gram-positivos, exceto *S. pneumoniae*; os enterococos são intrinsecamente resistentes às cefalosporinas e frequentemente produzem superinfecções durante seu uso. A maioria das cefalosporinas de terceira geração mostra-se ativa contra os estafilococos sensíveis à meticilina, porém a

ceftazidima é apenas fracamente ativa. Uma importante vantagem das cefalosporinas de terceira geração é sua atividade contra os bastonetes gram-negativos. Enquanto os fármacos de segunda geração tendem a fracassar contra a *P. aeruginosa*, a ceftazidima ou a cefoperazona podem ter êxito. Por conseguinte, as cefalosporinas de terceira geração são muito úteis no tratamento da bacteriemia adquirida em ambiente hospitalar por microrganismos gram-negativos. A ceftazidima também pode salvar a vida de pacientes com melioidose grave (infecção por *Burkholderia pseudomallei*).

Outra característica importante das várias cefalosporinas de terceira geração — à exceção da cefoperazona — é sua capacidade de alcançar o SNC, aparecendo no LCS em concentrações suficientes para tratar a meningite causada por bastonetes gram-negativos. A cefotaxima, a ceftriaxona ou a ceftizoxima, administradas por via intravenosa, podem ser usadas para o tratamento da sepse e da meningite por bactérias gram-negativas.

Cefalosporinas de quarta geração

Atualmente, a cefepima é a única cefalosporina de quarta geração de uso clínico nos EUA com atividade elevada contra espécies de *Enterobacter* e *Citrobacter*, que se mostram resistentes a cefalosporinas de terceira geração. A cefepima tem atividade comparável à da ceftazidima contra a *P. aeruginosa*. A atividade contra os estreptococos e estafilococos sensíveis à meticilina é maior do que a da ceftazidima e comparável à das outras cefalosporinas de terceira geração. A cefpiroma é uma cefalosporina de quarta geração disponível fora dos EUA. Diversos novos agentes foram aprovados recentemente ou estão para ser, nos EUA. O cefditoreno é uma cefalosporina de terceira geração, de uso oral, com excelente atividade contra muitas espécies gram-negativas e gram-positivas. Este agente possui atividade bactericida e estabilidade contra muitas β -lactamases. O cefditoreno é a cefalosporina de administração por via oral mais potente contra *S. pneumoniae*. Dois outros novos agentes, a ceftarolina e o ceftobiprol, reivindicam atividade contra MRSA. A ceftarolina possui atividade aumentada contra gram-positivos, inclusive MRSA e pneumococos não suscetíveis a penicilina. O ceftobiprol possui um espectro de ação similar ao das cefalosporinas, mas, além disso, é ativo contra MRSA, *E. faecalis* e *S. pneumoniae* resistente à penicilina. Todos os três agentes irão provavelmente desempenhar um papel no tratamento de infecções da pele e dos tecidos moles e em pneumonias adquiridas na comunidade. Esses dois últimos agentes têm sido referidos como cefalosporinas de “quinta geração”. Contudo, é importante notar que esses fármacos não apresentam boa atividade contra *P. aeruginosa*, espécies de *Acinetobacter* ou enterobactérias produtoras de ESBL.

Efeitos adversos das cefalosporinas

As cefalosporinas são sensibilizadoras, podendo induzir uma variedade de reações de hipersensibilidade, como anafilaxia, febre, erupções cutâneas, nefrite, granulocitopenia e anemia hemolítica. A frequência da alergia cruzada entre as cefalosporinas e as penicilinas é de cerca de 5%. Os pacientes com alergia discreta à penicilina com frequência podem tolerar as cefalosporinas, o que não ocorre com os que apresentam história pregressa de anafilaxia.

Pode ocorrer tromboflebite após injeção intravenosa. A hipoprotrombinemia é frequente com a administração de cefalosporinas que apresentam um grupo metiltiotetrazol (p. ex., cefamandol, cefmetazol, cefotetana, cefoperazona), complicação que pode ser evitada com a administração oral de vitamina K (10 mg) 2 vezes/semana. Esses mesmos fármacos também podem causar reações graves do tipo dissulfiram, devendo-se evitar o consumo de álcool.

Como muitas cefalosporinas de segunda, terceira e quarta gerações exibem pouca atividade contra os microrganismos gram-positivos, em particular os enterococos, pode ocorrer superinfecção por esses microrganismos e fungos.

OUTROS FÁRMACOS BETALACTÂMICOS

Monobactâmicos

Os monobactâmicos possuem um anel β -lactâmico monocíclico e são resistentes às β -lactamases e ativos contra os bastonetes gram-negativos (primariamente através da sua ligação à PBP3), mas não contra bactérias gram-positivas ou anaeróbios. O primeiro desses fármacos a se tornar disponível foi o aztreonam, cuja atividade se assemelha à dos aminoglicosídeos, sendo administrado por via intravenosa ou intramuscular a cada 8 ou 12 horas. Os pacientes com alergia à penicilina mediada pela IgE podem tolerar o aztreonam sem qualquer reação e, à exceção dos exantemas cutâneos e distúrbios mínimos da aminotransferase, não foi relatada toxicidade significativa. Podem ocorrer superinfecções por estafilococos e enterococos.

Carbapenêmicos

São fármacos estruturalmente relacionados com os antibióticos β -lactâmicos. O imipenem, o primeiro desses agentes, tem boa atividade contra vários bastonetes gram-negativos, microrganismos gram-positivos e anaeróbios, sendo resistente às β -lactamases, porém inativado pelas di-hidropeptidases nos túbulos renais. Em consequência, é administrado em associação com um inibidor da peptidase, a cilastatina.

O imipenem penetra adequadamente nos tecidos e líquidos orgânicos, inclusive no LCS. O fármaco é administrado por via intravenosa a cada 6 a 8 h, devendo sua posologia ser reduzida na presença de insuficiência renal. Pode ser indicado para tratar infecções causadas por microrganismos resistentes a outros fármacos. As espécies de *Pseudomonas* desenvolvem resistência rapidamente, o que torna necessário o uso concomitante de um aminoglicosídeo, embora isso não retarde o desenvolvimento de resistência. Tal combinação pode proporcionar um tratamento eficaz aos pacientes neutropênicos febris, embora seja raramente usada.

Os efeitos adversos do imipenem consistem em vômitos, diarreia, exantemas e reações no local de infusão. A obtenção de níveis excessivos em pacientes com insuficiência renal pode resultar em convulsões. Os pacientes alérgicos a penicilinas também podem apresentar alergia ao imipenem.

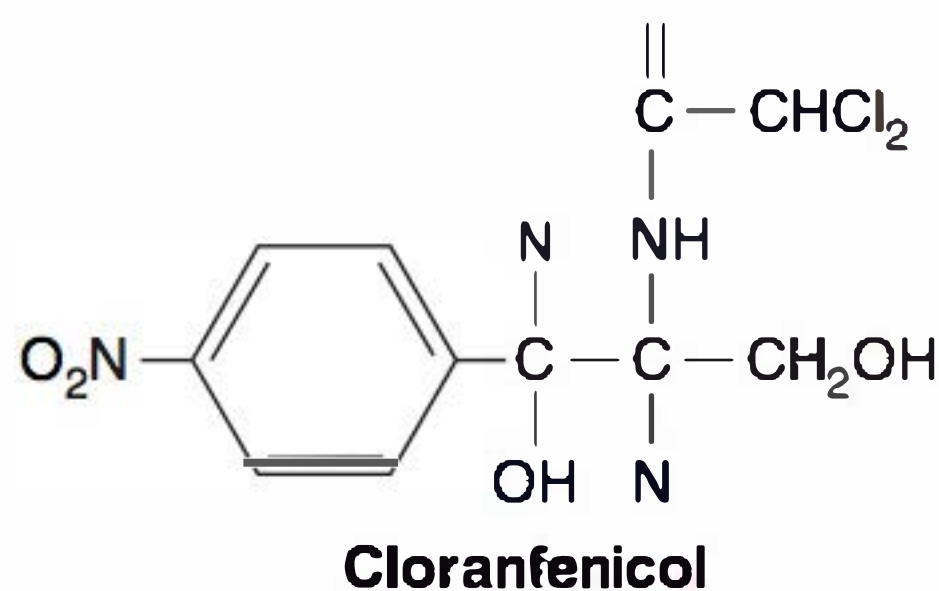
O meropenem assemelha-se ao imipenem, quanto à farmacologia e ao espectro de atividade antimicrobiana. Todavia, não é inativado pelas dipeptidases e tende menos a causar convulsões do que o imipenem.

(sensíveis e resistentes a fármacos) e enterococos. Em termos de aeróbios gram-negativos, além do espectro das outras tetraciclina, a tigeciclina tem maior atividade contra diversas Enterobacteriaceae, inclusive espécies de *Salmonella* e *Shigella* e espécies de *Acinetobacter*. Não possui boa atividade contra *P. aeruginosa*, *S. maltophilia* ou *Burkholderia cepacia*. Também apresenta boa atividade contra muitas bactérias anaeróbias, como *B. fragilis*.

A tigeciclina está disponível somente como agente parenteral devido à sua baixa biodisponibilidade. O fármaco tem distribuição rápida e extensiva nos tecidos. A ligação às proteínas varia de 73 a 79%. A tigeciclina não é metabolizada em metabólitos farmacologicamente ativos. Sua meia-vida é longa, de aproximadamente 40 horas. A principal rota de eliminação é pelo trato biliar e pelas fezes, sendo a depuração renal uma rota secundária de eliminação. Atualmente, a tigeciclina está aprovada para comercialização nos EUA, para tratamento das infecções complicadas da pele e dos tecidos superficiais, assim como para infecções intra-abdominais complicadas.

CLORANFENICOL

O cloranfenicol é uma substância originalmente produzida a partir de culturas de *Streptomyces venezuelae*, mas hoje é fabricado sinteticamente.



O cloranfenicol cristalino é um composto estável que sofre rápida absorção pelo trato gastrointestinal, distribuindo-se amplamente nos tecidos e líquidos orgânicos, como o SNC e o LCS, e penetrando adequadamente nas células. A maior parte do fármaco é inativada no fígado por conjugação com o ácido glicurônico ou redução a arilaminas inativas. A excreção ocorre principalmente na urina, 90% na forma inativa. Apesar de o cloranfenicol ser em geral administrado por via oral, o succinato pode ser injetado por via intravenosa em uma dose similar.

O cloranfenicol é um potente inibidor da síntese das proteínas nos microrganismos, bloqueando a ligação dos aminoácidos à cadeia peptídica nascente sobre a unidade 50S dos ribossomos, o que interfere na ação da peptidiltransferase. É principalmente bacteriostático, e tanto seu espectro quanto a posologia e os níveis sanguíneos alcançados assemelham-se aos das tetraciclina; era usado no tratamento de muitos tipos de infecção (p. ex., causadas por salmonelas, meningococos, *H. influenzae*), porém não constitui mais o fármaco de escolha para nenhuma infecção.

A resistência ao cloranfenicol é decorrente da destruição do fármaco por uma enzima (cloranfenicol acetiltransferase) que está sob o controle de plasmídeos.

Raramente, o cloranfenicol provoca desconforto gastrointestinal. Todavia, a administração regular de mais de 3 g/dia

induz distúrbios na maturação dos eritrócitos, elevação dos níveis séricos de ferro e anemia. Essas alterações são reversíveis com a interrupção do uso do fármaco. Muito raramente, o indivíduo exibe idiosincrasia aparente ao cloranfenicol e desenvolve anemia aplásica grave ou fatal, distinta do efeito reversível relacionado com a dose, conforme descrito anteriormente. Por essas razões, em geral o uso do cloranfenicol é restrito às infecções contra as quais constitui nitidamente o fármaco mais eficaz com base nos exames laboratoriais ou na experiência.

Em prematuros e recém-nascidos, o cloranfenicol pode induzir colapso (“síndrome cinzenta”), visto que o mecanismo normal de destoxificação (conjugação com o glicurônico no fígado) ainda não está desenvolvido.

ERITROMICINAS

A eritromicina, cuja fórmula química é $C_{37}H_{67}NO_{13}$, é obtida do *Streptomyces erythreus*. Os fármacos relacionados com a eritromicina são a claritromicina, a azitromicina e outros. Os macrolídeos ligam-se a um receptor (RNAr 23S) sobre a subunidade 50S do ribossomo bacteriano e inibem a síntese das proteínas ao interferir nas reações de translocação e formação de complexos de iniciação. A resistência aos macrolídeos resulta de uma alteração (metilação) do receptor de RNAr, que está sob o controle de um plasmídeo transmissível. Outros mecanismos incluem inativação enzimática e bomba de efluxo codificada pelos genes *mef* e *msr*. A atividade das eritromicinas aumenta acentuadamente em pH alcalino.

As eritromicinas, em concentrações de 0,1 a 2 $\mu\text{g/mL}$, mostram-se ativas contra as bactérias gram-positivas, como os pneumococos, estreptococos e corinebactérias. O *M. pneumoniae*, *Chlamydia trachomatis*, *L. pneumophila* e *Campylobacter jejuni* também são suscetíveis. Ocorrem variantes resistentes em populações microbianas suscetíveis, que tendem a surgir durante o tratamento, particularmente nas infecções estafilocócicas.

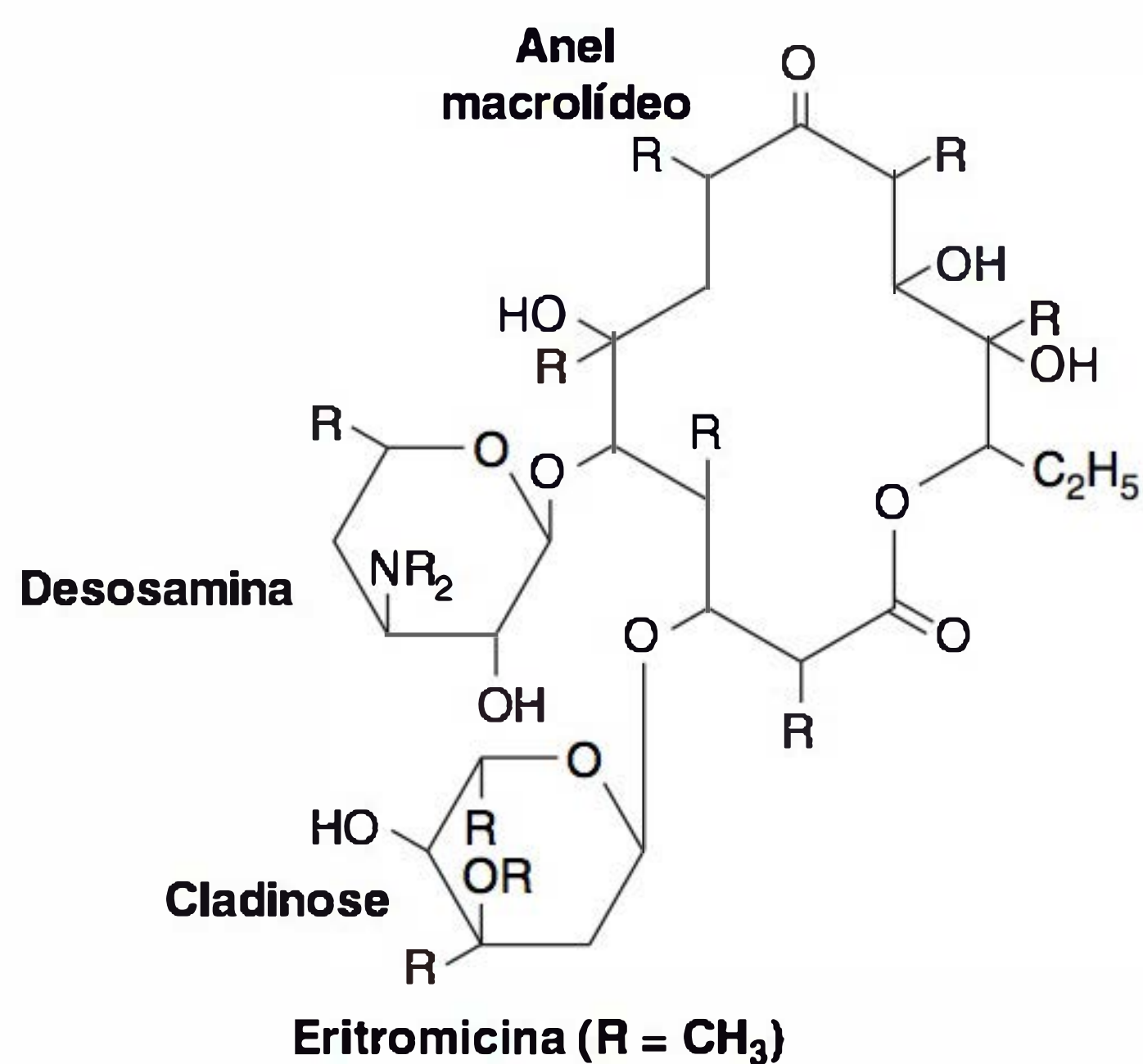
As eritromicinas podem constituir os fármacos de escolha para as infecções causadas pelos microrganismos anteriormente citados e substituem as penicilinas em indivíduos hipersensíveis à penicilina. Estearato, succinato ou estolato de eritromicina, 4 vezes/dia VO, produzem níveis séricos de 0,5 a 2 $\mu\text{g/mL}$. As outras formas são administradas por via intravenosa.

Os efeitos colaterais indesejáveis consistem em febre medicamentosa, desconforto gastrointestinal leve e hepatite colestática como reação de hipersensibilidade, sobretudo ao estolato. A hepatotoxicidade pode aumentar durante a gravidez. A eritromicina tende a aumentar os níveis de anticoagulantes, da ciclopiorina e de outros fármacos administrados simultaneamente, ou deprimir as enzimas microssômicas.

A diritromicina é um macrolídeo com espectro de atividade antimicrobiana semelhante ao da eritromicina e meia-vida sérica prolongada, sendo administrada convenientemente uma vez/dia.

A claritromicina e a azitromicina são azalídeos quimicamente relacionados com a eritromicina. A exemplo da eritromicina, tanto a claritromicina quanto a azitromicina mostram-se ativas contra estafilococos e estreptococos. A claritromicina tem alta atividade contra *L. pneumophila*,

Helicobacter pylori, *Moraxella catarrhalis*, *C. trachomatis* e *Borrelia burgdorferi*. A azitromicina exibe atividade elevada contra *C. jejuni*, *H. influenzae*, *M. pneumoniae*, *M. catarrhalis*, *N. gonorrhoeae* e *B. burgdorferi*. Ambos os fármacos exibem atividade contra o complexo do *Mycobacterium avium*, e inibem a maioria das cepas de *Mycobacterium chelonae* e *Mycobacterium fortuitum*. As bactérias resistentes à eritromicina também são resistentes à claritromicina e à azitromicina. As modificações químicas impedem o metabolismo da claritromicina e da azitromicina em formas inativas, sendo administradas duas vezes/dia (claritromicina) ou uma vez/dia (azitromicina). Ambos os fármacos estão associados a uma incidência muito menor de efeitos colaterais gastrintestinais em comparação com a eritromicina.



Os cetolídeos são derivados semissintéticos da eritromicina. Mostram-se mais ativos que os macrolídeos, especialmente contra algumas bactérias resistentes aos macrolídeos, e possuem maior farmacocinética. A telitromicina é o agente correntemente aprovado para uso nos EUA, sendo administrada em forma oral no tratamento das infecções agudas do trato respiratório superior e inferior. O mecanismo de ação e os efeitos colaterais são similares aos dos macrolídeos.

CLINDAMICINA E LINCOMICINA

A lincomicina (derivada do *Streptomyces lincolnensis*) e a clindamicina (um derivado da substituição do cloro) assemelham-se às eritromicinas quanto ao modo de ação, ao espectro antibacteriano e ao local do receptor ribossômico, apesar de quimicamente distintas. A clindamicina mostra-se ativa contra *Bacteroides* (embora a resistência entre as amostras de *B. fragilis* esteja aumentando) e outros anaeróbios.

Esses fármacos, acidoestáveis, podem ser administrados pela via oral ou intravenosa, distribuindo-se amplamente pelos tecidos, com exceção do sistema nervoso central. A excreção ocorre principalmente através do fígado, da bile e da urina.

Provavelmente, a indicação mais importante para uso de clindamicina intravenosa seja no tratamento de infecções graves por anaeróbios, como as causadas pelo *B. fragilis*. Foi

relatado tratamento bem-sucedido de infecções estafilocócicas ósseas com lincomicina. As lincomicinas não devem ser utilizadas na meningite. A clindamicina foi muito usada recentemente no tratamento das infecções de pele e de superfícies cutâneas causadas por cepas de MRSA associadas à comunidade. A clindamicina ocupa um lugar proeminente no tratamento da colite associada a antibióticos causada por *C. difficile*; entretanto, a maioria dos antimicrobianos tem sido associada a colite por *C. difficile*.

GLICOPEPTÍDEOS E LIPOPEPTÍDEOS

Vancomicina

A vancomicina é produzida pelo *Streptomyces orientalis*, sendo pouco absorvida pelo intestino.

É acentuadamente bactericida contra os estafilococos, alguns clostrídeos e certos bacilos. O fármaco inibe os estágios iniciais na síntese do peptidoglicano da parede celular. O desenvolvimento de cepas resistentes ao fármaco não ocorre rapidamente. A vancomicina é administrada por via intravenosa para tratamento de infecções estafilocócicas sistêmicas graves, como a endocardite, em particular quando resistente à nafcilina. No caso de endocardite ou sepse enterocócica, a vancomicina pode ser eficaz quando combinada com um aminoglicosídeo. A vancomicina oral é indicada para o tratamento de colite pseudomembranosa associada a antibióticos (ver Clindamicina e lincomicina).

O desenvolvimento de resistência à vancomicina nos enterococos teve grande impacto no tratamento das infecções enterocócicas graves resistentes a vários fármacos. Consultar a seção Implicações clínicas da resistência aos fármacos neste capítulo e no Capítulo 15.

O *S. aureus* de sensibilidade intermediária à vancomicina (VISA) *in vitro* foi isolado de pacientes de vários países, inclusive os EUA. Esses pacientes demonstraram tendência a apresentar doenças complexas que incluíam tratamento por longo tempo com vancomicina. Em alguns casos, as infecções aparentemente não responderam à terapia com vancomicina.

A resistência em altos níveis à vancomicina no *S. aureus* é uma das maiores preocupações internacionais. O mecanismo é o mesmo ou similar ao da resistência à vancomicina mediada por transpósons em enterococos (aquisição dos genes *vanA* [ver Cap. 15]). Tais isolados foram cultivados em diversos pacientes, podendo ocorrer em outros pacientes no futuro.

Os efeitos colaterais indesejáveis consistem em tromboflebite, exantemas, surdez nervosa, leucopenia e, talvez, lesão renal quando a vancomicina é utilizada em combinação com um aminoglicosídeo.

Teicoplanina

A teicoplanina tem estrutura semelhante à da vancomicina, sendo ativa contra estafilococos (inclusive as cepas resistentes à nafcilina), estreptococos, enterococos e muitas outras bactérias gram-positivas. Os enterococos com resistência *vanA* à vancomicina também são resistentes à teicoplanina, enquanto os enterococos com resistência *vanB* à vancomicina são sensíveis.

A teicoplanina tem meia-vida longa, e é administrada uma vez/dia. Os efeitos adversos consistem em irritação nos locais de injeção, hipersensibilidade, bem como potencial de ototoxicidade e nefrotoxicidade. A teicoplanina está disponível na Europa, mas não nos EUA.

Daptomicina

A daptomicina é um lipopeptídeo de ocorrência natural produzido por *Streptomyces roseosporus*. Estruturalmente, possui um anel de dez aminoácidos, um ácido decanoico (dez carbonos) ligado a uma L-triptofana terminal. É bactericida por causar a despolarização da membrana bacteriana de uma forma dependente de cálcio. Está disponível em forma parenteral para administração uma vez/dia. Apresenta alta ligação à proteína e é excretada pela via renal. São necessários ajustes na dose em pacientes com depuração da creatinina < 30 mL/min.

O principal efeito colateral da daptomicina é a miopatia reversível. Recomenda-se o monitoramento semanal da creatinofosfoquinase (CPK), e o uso do fármaco deve ser interrompido quando os níveis alcançarem cinco vezes os valores normais. Atualmente, a daptomicina está aprovada para uso nos EUA, para tratamento de infecções superficiais e de pele causadas por cocos gram-positivos sensíveis e resistentes e de bacteriemia causada por *S. aureus*. Observa-se sinergia quando a daptomicina é combinada com gentamicina.

Dalbavancina, oritavancina e televancina

Alguns glicopeptídeos, mais recentes, apresentam duplo mecanismo de ação. Eles inibem a transglicosilação de síntese de peptidoglicano da parede celular, através da formação de um complexo com os resíduos de D-alanil-D-alanina, além de também despolarizarem a membrana da célula bacteriana. A televancina, disponível nos EUA, tem meia-vida prolongada de 7 a 9 horas e boa penetração nos tecidos. É principalmente excretada pelos rins. Estes lipoglicopeptídeos são mais ativos que a vancomicina contra uma ampla variedade de patógenos gram-positivos, que incluem MRSA, *S. aureus* com resistência intermediária à vancomicina (VISA) e *S. aureus* resistente à vancomicina (VRSA). Eles têm atividade contra alguns organismos gram-positivos que podem ser resistentes à linezolida e à daptomicina. Reações adversas mais comuns incluem alterações no paladar, náuseas, vômitos e disfunção renal reversível.

ESTREPTOGRAMINAS

O combinado quinupristina-dalfopristina é um antibiótico injetável das estreptograminas que consiste em uma mistura de dois derivados semissintéticos da pristamicina (estreptogramina do grupo B) e da dalfopristina (estreptogramina do grupo A) em uma proporção de 30:70. Os dois componentes atuam de modo sinérgico, inibindo ampla variedade de bactérias gram-positivas, como os MRSA, VRE e pneumococos resistentes à penicilina. Tal combinado mostra-se ativo contra alguns anaeróbios e certas bactérias gram-negativas (p. ex., *N. gonorrhoeae*, *H. influenzae*), mas não contra as Enterobacteriaceae,

P. aeruginosa, e espécies de *Acinetobacter*. O VRE, que também é resistente ao combinado quinupristina-dalfopristina, pode ocorrer, mas é raro.

OXAZOLIDINONAS

As oxazolidinonas são uma nova classe de antimicrobianos sintéticos descobertos em 1987. A linezolida é o único agente comercialmente disponível. O espectro antimicrobiano é similar ao dos glicopeptídeos. O mecanismo de ação da linezolida ocorre no início da síntese proteica — interferência na tradução por inibição da formação do N-formilmetionil-RNAt, o complexo de iniciação do ribossomo 30S. A linezolida é 100% biodisponível e superior à vancomicina pelo fato de apresentar excelente penetração nas secreções respiratórias. O fármaco se difunde bem nos ossos, nos tecidos graxos e na urina. A linezolida é empregada mais frequentemente para tratar pneumonia, bacteriemia, bem como infecções de pele e dos tecidos moles, causadas por estafilococos e enterococos resistentes a glicopeptídeos. Seu principal efeito colateral é a trombocitopenia reversível.

BACITRACINA

A bacitracina é um polipeptídeo obtido de uma cepa (cepa de Tracy) do *Bacillus subtilis*. É estável e sofre pouca absorção pelo trato intestinal, sendo utilizada apenas para aplicação tópica à pele, em feridas ou mucosas.

Mostra-se principalmente bactericida para as bactérias gram-positivas, inclusive os estafilococos resistentes à penicilina. Para uso tópico, são empregadas concentrações de 500 a 2.000 unidades por mililitro de solução ou grama de pomada. Em combinação com polimixina B ou neomicina, a bacitracina mostra-se útil para a supressão da microbiota bacteriana mista nas lesões superficiais.

É tóxica para os rins, causando proteinúria, hematúria e retenção de nitrogênio. Por essa razão, não tem aplicação para tratamento sistêmico nem induz hipersensibilidade facilmente.

POLIMIXINAS

As polimixinas são polipeptídeos catiônicos básicos, nefrotóxicos e neurotóxicos. Podem ser bactericidas para muitos bastonetes aeróbios gram-negativos — como pseudomonas e serratia — ao se ligarem às membranas celulares ricas em fosfatidiletanolamina e destruir as funções da membrana de transporte ativo e a barreira de permeabilidade. Até recentemente, em virtude de sua toxicidade e sua distribuição deficiente nos tecidos, as polimixinas eram principalmente utilizadas em forma tópica e raras vezes no tratamento de infecções sistêmicas. A polimixina E (colistina), disponível por via parenteral como colistimetato de sódio, tem sido alvo de renovado interesse, e vem aumentando sua utilização como agente alternativo para o tratamento de *Acinetobacter baumannii* e *P. aeruginosa* resistentes a vários fármacos e como terapia de resgate para

infecções por *Klebsiella* resistentes a carbapenemase. A colistina é bactericida contra esses microrganismos gram-negativos. Quando usada com cautela, observa-se uma toxicidade menor do que a previamente descrita.

AMINOGLICOSÍDEOS

Constituem um grupo de fármacos que compartilham características químicas, antimicrobianas, farmacológicas e tóxicas. Atualmente, o grupo inclui estreptomina, neomicina, canamicina, amicacina, gentamicina, tobramicina, sisomicina, netilmicina e outras. Todas inibem a síntese das proteínas de bactérias por sua ligação à subunidade 30S do ribossomo bacteriano, inibindo sua função. A resistência baseia-se (1) na deficiência do receptor ribossômico (mutante cromossômico); (2) na destruição enzimática do fármaco (resistência de importância clínica transmissível mediada por plasmídeos); ou (3) na ausência de permeabilidade às moléculas do fármaco e ausência de transporte ativo no interior das células, podendo a última ser cromossômica (p. ex., os estreptococos são relativamente impermeáveis aos aminoglicosídeos) ou mediada por plasmídeos (p. ex., em bactérias entéricas gram-negativas). As bactérias anaeróbias são frequentemente resistentes aos aminoglicosídeos, visto que o transporte através da membrana celular é um processo que requer energia e depende de oxigênio.

Todos os aminoglicosídeos são mais ativos em pH alcalino do que em pH ácido, sendo potencialmente ototóxicos e nefrotóxicos, embora em diferentes níveis, podendo ainda acumular-se na presença de insuficiência renal, daí a necessidade de ajustes posológicos rigorosos quando ocorre retenção de nitrogênio. Os aminoglicosídeos são utilizados mais amplamente contra as bactérias entéricas gram-negativas ou quando há suspeita de sepse. No tratamento de bacteriemia ou endocardite causadas por estreptococos, enterococos ou por algumas bactérias gram-negativas, são administrados juntamente com uma penicilina que facilita a entrada do aminoglicosídeo. São selecionados de acordo com padrões atualizados de suscetibilidade em determinada área ou hospital, até a obtenção dos resultados dos testes de sensibilidade efetuados com microrganismos isolados específicos. A utilidade clínica dos aminoglicosídeos diminuiu com o advento das cefalosporinas e quinolonas, mas eles continuam sendo utilizados em associações (p. ex., com cefalosporinas para o tratamento das bacteriemias por microrganismos gram-negativos resistentes a vários fármacos). Todos os aminoglicosídeos de carga positiva são inibidos em hemoculturas pelo polianetolsulfonato de sódio e outros detergentes polianiônicos. Alguns aminoglicosídeos (em especial, a estreptomina) mostram-se úteis como antimicobacterianos.

Neomicina e canamicina

A canamicina tem estreita relação com a neomicina, exibindo atividade semelhante e resistência cruzada completa. A paromomicina também está estreitamente relacionada, sendo utilizada no tratamento da amebíase. Esses fármacos são estáveis e pouco absorvidos pelo trato intestinal e outras superfícies. Nenhum deles é utilizado sistemicamente, devido a ototoxicidade e neurotoxicidade. São utilizadas doses orais de neomicina e

canamicina para reduzir a microbiota intestinal antes de cirurgias intestinais de grande porte, frequentemente em combinação com eritromicina. Nos demais contextos, esses fármacos limitam-se principalmente à aplicação tópica em superfícies infectadas (pele e feridas).

Amicacina

A amicacina é um derivado semissintético da canamicina, relativamente resistente às enzimas que inativam a gentamicina e a tobramicina, podendo então ser utilizada contra alguns microrganismos resistentes a esses fármacos. Todavia, a resistência bacteriana em consequência da impermeabilidade à amicacina está aumentando lentamente. Muitas bactérias entéricas gram-negativas são inibidas pela amicacina em concentrações obtidas após sua injeção. As infecções do SNC exigem injeção intratecal ou intraventricular.

A exemplo de todos os aminoglicosídeos, a amicacina é nefrotóxica e ototóxica (em particular, para a porção auditiva do oitavo nervo craniano), e seus níveis devem ser monitorados em pacientes com insuficiência renal.

Gentamicina

Em concentrações de 0,5 a 5 µg/mL, a gentamicina mostra-se bactericida para muitas bactérias gram-positivas e gram-negativas, incluindo várias cepas de *Proteus*, *Serratia* e *Pseudomonas*, mas é ineficaz contra estreptococos e *Bacteroides*.

A gentamicina tem sido utilizada no tratamento de infecções graves causadas por bactérias gram-negativas resistentes a outros fármacos. As penicilinas podem precipitar a gentamicina *in vitro* (razão pela qual não devem ser misturadas); todavia, *in vivo* podem facilitar a penetração dos aminoglicosídeos nos estreptococos e nos bastonetes gram-negativos, resultando em sinergismo bactericida, benéfico no tratamento de sepse e endocardite.

A gentamicina é tóxica, em particular na presença de comprometimento da função renal. O sulfato de gentamicina a 0,1% tem sido utilizado topicamente, em forma de cremes ou soluções, para queimaduras infectadas ou lesões cutâneas. Esses cremes tendem a selecionar as bactérias resistentes à gentamicina, devendo os pacientes que os utilizam permanecer em isolamento estrito.

Tobramicina

Esse aminoglicosídeo assemelha-se estreitamente à gentamicina, e há certa resistência cruzada entre ambos os fármacos. É aconselhável solicitar testes de sensibilidade distintos. A tobramicina possui atividade ligeiramente superior contra *P. aeruginosa*, quando comparada à gentamicina. Formulações inalantes desse fármaco têm sido usadas no tratamento de infecções por *P. aeruginosa* em pacientes fibrocísticos.

As propriedades farmacológicas da tobramicina são praticamente idênticas às da gentamicina. A maior parte do fármaco é excretada por filtração glomerular. Na presença de insuficiência renal, é necessário reduzir a dose, sendo desejável monitorar os níveis do fármaco no sangue.

A exemplo de outros aminoglicosídeos, a tobramicina é ototóxica, mas talvez menos nefrotóxica que a gentamicina. Não

deve ser utilizada concomitantemente com outros fármacos que tenham efeitos adversos semelhantes nem com diuréticos, que tendem a aumentar as concentrações dos aminoglicosídeos nos tecidos.

Netilmicina

A netilmicina compartilha muitas características com a gentamicina e a tobramicina, porém não é inativada por algumas bactérias resistentes aos outros fármacos.

A principal indicação da netilmicina pode consistir em infecções iatrogênicas em pacientes imunocomprometidos e gravemente doentes, com risco muito alto de sepse por bactérias gram-negativas no ambiente hospitalar.

Pode ser levemente menos ototóxica e nefrotóxica que os outros aminoglicosídeos.

Estreptomicina

A estreptomicina, o primeiro aminoglicosídeo, foi descoberta na década de 1940 como produto do *Streptomyces griseus*; estudada detalhadamente, tornou-se o protótipo dessa classe de fármacos. Por esse motivo, suas propriedades são mencionadas aqui, embora a resistência disseminada que se observa entre microrganismos tenha reduzido sobremaneira sua utilidade clínica.

Após injeção intramuscular, sofre rápida absorção e distribui-se amplamente pelos tecidos, à exceção do SNC. Apenas 5% da concentração extracelular de estreptomicina alcançam o interior da célula. A estreptomicina absorvida é excretada na urina por filtração glomerular. Após administração oral, é pouco absorvida pelo intestino, sendo a maior parte excretada nas fezes.

Pode ser bactericida para os enterococos (p. ex., na endocardite), quando combinada com uma penicilina. Na tularemia e na peste, pode ser administrada com uma tetraciclina. Na tuberculose, é utilizada em combinação com outros fármacos antituberculose (INH, rifampicina). Não deve ser usada sozinha para tratar qualquer tipo de infecção.

A eficácia terapêutica da estreptomicina é limitada em virtude do rápido desenvolvimento de mutantes resistentes. Todas as cepas microbianas produzem mutantes cromossômicos resistentes à estreptomicina a uma frequência relativamente alta. Os mutantes cromossômicos exibem uma alteração no receptor P 12 da subunidade 30S do ribossomo. A resistência mediada por plasmídeos resulta em destruição enzimática do fármaco. Os enterococos resistentes a altos níveis de estreptomicina (2.000 µg/mL) ou gentamicina (500 µg/mL) exibem resistência às ações sinérgicas desses fármacos com a penicilina.

A hipersensibilidade à estreptomicina pode resultar em febre, exantema e outras manifestações alérgicas; ocorre mais frequentemente após contato prolongado com o fármaco, em pacientes que recebem tratamento prolongado (p. ex., para tuberculose) e técnicos que preparam e manipulam o fármaco. (As pessoas que preparam soluções devem usar luvas.)

A estreptomicina é acentuadamente tóxica para a porção vestibular do oitavo nervo craniano, provocando zumbido, vertigem e ataxia, frequentemente irreversíveis. O fármaco é moderadamente nefrotóxico.

Espectinomicina

A espectinomicina é um antibiótico aminociclitol (relacionado com os aminoglicosídeos) para administração intramuscular. Sua única aplicação, em dose única, consiste no tratamento da gonorreia causada por gonococos produtores de β-lactamase, ou que ocorre em indivíduos hipersensíveis à penicilina. Cerca de 5 a 10% dos gonococos provavelmente são resistentes. Em geral, ocorre dor no local da injeção, podendo o paciente apresentar náuseas e febre.

QUINOLONAS

As quinolonas são análogos sintéticos do ácido nalidíxico. As quinolonas atualmente disponíveis estão relacionadas no Quadro 28.5. O modo de ação das quinolonas envolve a inibição da síntese bacteriana do DNA ao bloquear a DNA girase.

As primeiras quinolonas (ácidos nalidíxico e oxolínico, assim como cinoxacino) não atingiam níveis antibacterianos sistêmicos após administração oral e, por conseguinte, eram úteis apenas como antissépticos urinários (ver adiante). Os derivados fluorados (p. ex., ciprofloxacino, norfloxacino e outros; ver as estruturas de alguns deles na Fig. 28.3) possuem maior atividade antibacteriana e baixa toxicidade, e alcançam níveis clinicamente úteis no sangue e nos tecidos.

Atividade antimicrobiana

As fluoroquinolonas inibem muitos tipos de bactéria, apesar de o espectro de atividade variar de um fármaco para outro (Quadros 28.5 e 28.6). São altamente ativas contra as Enterobacteriaceae,

QUADRO 28.5 Quinolonas

Primeira geração

Ácido nalidíxico
Cinoxacino
Ácido oxolínico

Segunda geração

Ciprofloxacino
Enoxacino
Fleroxacino
Lomefloxacino
Norfloxacino
Ofloxacino
Pefloxacino
Rufloxacino

Terceira e quarta gerações

Besifloxacino
Clinafloxacino
Garenoxacino
Gatifloxacino
Gemifloxacino
Levofloxacino
Sitafloxacino
Moxifloxacino
Esparfloxacino

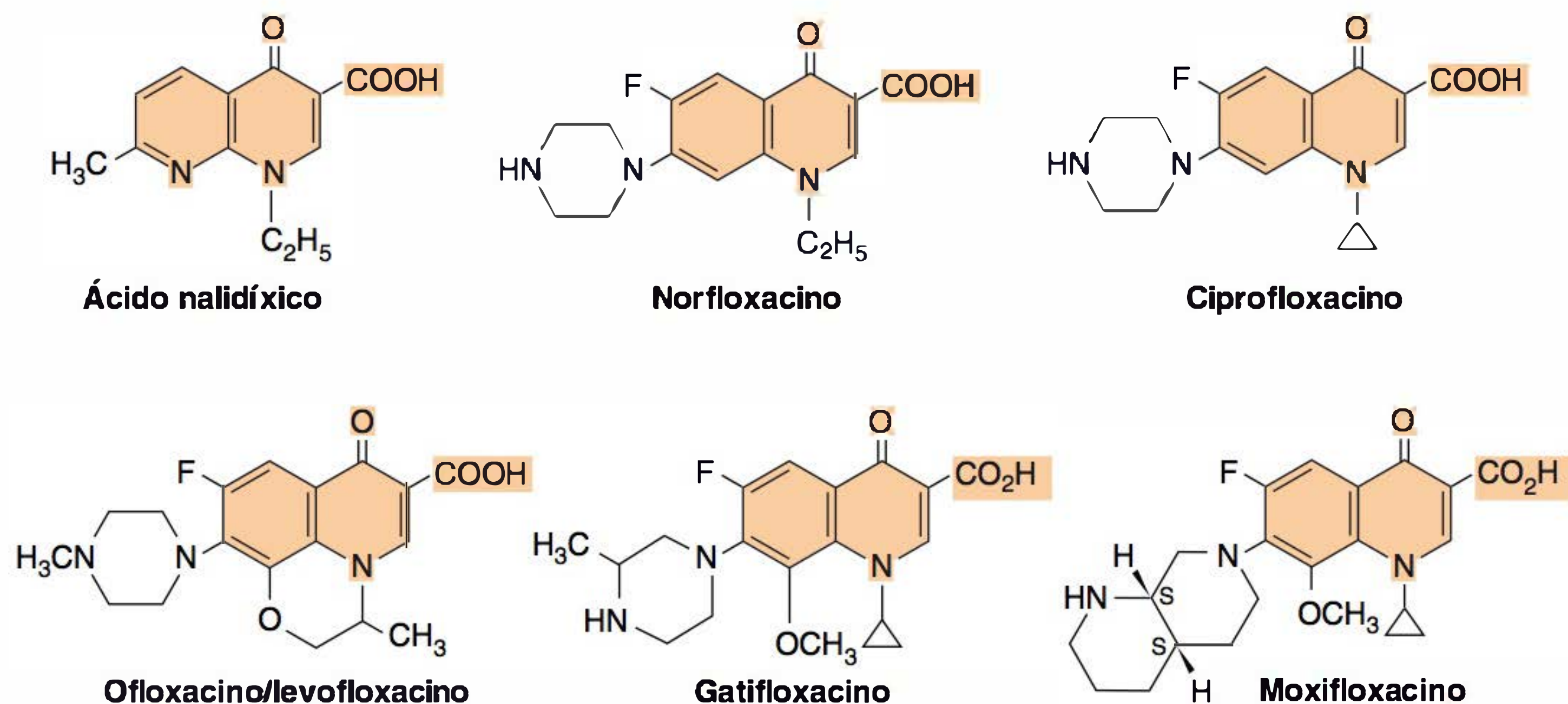


FIGURA 28.3 Estruturas de algumas fluoroquinolonas.

inclusive as espécies resistentes às cefalosporinas de terceira geração, espécies de *Haemophilus*, *Neisserias*, clamídias e outras. A *P. aeruginosa* e as legionelas são inibidas por concentrações ligeiramente superiores desses fármacos. As quinolonas variam quanto à sua atividade contra os patógenos gram-positivos. Algumas são ativas contra o *S. pneumoniae* resistente a vários fármacos (ver Quadro 28.6), podendo ser ativas contra os estafilococos sensíveis à meticilina e *E. faecalis*. Os VREs costumam exibir resistência às quinolonas. As fluoroquinolonas mais novas são muito ativas contra as bactérias anaeróbias, o que permite

QUADRO 28.6 Espectro relativo da atividade antibacteriana das quinolonas^a

Forte	Moderada	Fraca
Atividade gram-positiva		
Clinafloxacino	Ofloxacino	Lomefloxacino
Gatifloxacino	Ciprofloxacino	Norfloxacino
Gemifloxacino	Enoxacino	Pefloxacino
Levofloxacino		
Moxifloxacino		
Garenoxacino		
Atividade gram-negativa		
Clinafloxacino	Enoxacino	Norfloxacino
Ciprofloxacino	Gatifloxacino	
Pefloxacino	Gemifloxacino	
	Levofloxacino	
	Lomefloxacino	
	Moxifloxacino	
	Ofloxacino	
	Esparfloxacino	
	Garenoxacino	
Atividade anaeróbia		
Clinafloxacino	Esparfloxacino	Ciprofloxacino
Gatifloxacino	Levofloxacino	Lomefloxacino
Gemifloxacino	Ofloxacino	Enoxacino
Moxifloxacino		Pefloxacino
Garenoxacino		

^aCortesia de B Joseph Guglielmo, PharmD.

seu uso como monoterapia no tratamento das infecções aeróbias e anaeróbias mistas.

As fluoroquinolonas também podem exibir atividade contra *M. tuberculosis*, *M. fortuitum*, *M. kansasii* e, algumas vezes, *M. chelonae*.

Durante a terapia com fluoroquinolonas, constatou-se o desenvolvimento de resistência das pseudomonas, dos estafilococos e de outros patógenos. Até o momento, dois principais mecanismos de resistência para as quinolonas foram descritos. A resistência cromossômica desenvolve-se por mutação e envolve tanto alterações na subunidade A ou B da DNA girase quanto mutações nas subunidades ParC ou ParE da topoisomerase IV. Alterações da permeabilidade da membrana externa, resultando em menor acúmulo do fármaco na bactéria, são mediadas por bombas de efluxo codificadas por plasmídeos.

Absorção e excreção

Após administração oral, as fluoroquinolonas são bem absorvidas, distribuindo-se amplamente pelos tecidos e líquidos orgânicos em graus variáveis, mas não alcançam o SNC em concentrações significativas. A meia-vida sérica é variável (3 a 8 h), podendo tornar-se prolongada na insuficiência renal, dependendo do fármaco utilizado.

As fluoroquinolonas são excretadas principalmente na urina pelos rins, porém parte da dose pode ser metabolizada no fígado.

Usos clínicos

Em geral, as fluoroquinolonas mostram-se eficazes nas infecções do trato urinário, e várias delas são benéficas na prostatite. Algumas fluoroquinolonas (p. ex., ofloxacino) mostram-se valiosas no tratamento das doenças sexualmente transmissíveis causadas por *N. gonorrhoeae* e *C. trachomatis*, mas não têm efeito algum sobre *T. pallidum*. Contudo, o desenvolvimento da resistência tem dificultado seu uso como fármaco de primeira linha no tratamento da gonorreia. Esses fármacos podem

controlar as infecções das vias respiratórias inferiores causadas pelo *H. influenzae* (embora possam não ser os fármacos de escolha) e a enterite causada por salmonelas, *Shigellas* e *Campylobacter*. As fluoroquinolonas podem ser apropriadas para o tratamento das infecções bacterianas ginecológicas importantes e infecções dos tecidos moles, bem como para a osteomielite causada por microrganismos gram-negativos. Embora possam ser benéficos em algumas exacerbações da fibrose cística causada por *Pseudomonas*, cerca de 33% desses microrganismos mucoides são resistentes aos fármacos.

Efeitos colaterais

Os efeitos adversos mais proeminentes consistem em náuseas, insônia, cefaleia e tontura. Em certas ocasiões, ocorrem outros distúrbios gastrintestinais, comprometimento da função hepática, exantema e superinfecções, em particular por enterococos e estafilococos. Nos filhotes de cães, a administração prolongada de fluoroquinolonas causa lesão articular, motivo pelo qual raramente tem sido prescritas para crianças — mas, quando necessário, são utilizadas em pacientes com fibrose cística. Distúrbios glicêmicos, levando à hipoglicemia significativa, foram relatados com os novos agentes, tais como gatifloxacino, causando a diminuição de seu uso nos EUA.

SULFONAMIDAS E TRIMETOPRIMA

As sulfonamidas formam um grupo de compostos cuja fórmula básica é fornecida no início deste capítulo. Com a substituição de vários radicais R, obtém-se uma série de compostos com propriedades físicas, farmacológicas e antibacterianas ligeiramente variáveis. O mecanismo básico de ação de todos esses compostos consiste em inibição competitiva da utilização do ácido *p*-aminobenzoico (PABA). O uso simultâneo de sulfonamidas com trimetoprima resulta em inibição das etapas metabólicas sequenciais e possível sinergismo antibacteriano.

São bacteriostáticas para algumas bactérias gram-negativas e gram-positivas, clamídias, *Nocardia* e protozoários.

As sulfonamidas “solúveis” (p. ex., trissulfapirimidinas, sulfisoxazol) são rapidamente absorvidas pelo trato intestinal após administração oral e distribuem-se por todos os tecidos e líquidos orgânicos. A maioria das sulfonamidas é excretada rapidamente na urina. Algumas (p. ex., sulfametoxipiridazina) são excretadas muito lentamente e, por isso, tendem a ser tóxicas. Atualmente, as sulfonamidas são particularmente úteis no tratamento da nocardiose e nas crises iniciais das infecções do trato urinário causadas por bactérias coliformes. Já muitos meningococos, *shigelas*, estreptococos do grupo A e microrganismos responsáveis por infecções recorrentes do trato urinário atualmente são resistentes. Utiliza-se em ampla escala uma mistura de cinco partes de sulfametoxazol mais uma parte de trimetoprima no tratamento das infecções das vias urinárias, shigelose e salmonelose, bem como em infecções causadas por outras bactérias gram-negativas e na pneumonia por *Pneumocystis*.

A trimetoprima isoladamente pode ser eficaz no tratamento das infecções sem complicações das vias urinárias.

Resistência

Os microrganismos que não utilizam PABA extracelular mas que, assim como as células dos mamíferos, podem utilizar o ácido fólico pré-formado são resistentes às sulfonamidas. Em alguns mutantes resistentes às sulfonamidas, a enzima ácido tetraidropterico sintetase tem afinidade muito maior pelo PABA do que pelas sulfonamidas, observando-se o oposto nos microrganismos sensíveis às sulfonamidas.

Efeitos colaterais

As sulfonamidas solúveis podem provocar efeitos colaterais, divididos em duas categorias: alergia e toxicidade. Muitos indivíduos desenvolvem hipersensibilidade às sulfonamidas após contato inicial com elas e, em caso de nova exposição, podem apresentar febre, urticária, exantemas e doenças vasculares crônicas, como poliarterite nodosa. Os efeitos tóxicos manifestam-se em forma de febre, exantema, distúrbios gastrintestinais, depressão da medula óssea que leva ao desenvolvimento de anemia ou agranulocitose, anemia hemolítica e anormalidades das funções hepática e renal. A toxicidade é particularmente frequente em pacientes com Aids.

Exame bacteriológico

Quando se procede à cultura das amostras obtidas de pacientes em uso de sulfonamidas, a incorporação do PABA (5 mg/dL) ao meio de cultura bloqueia a inibição pelas sulfonamidas.

OUTROS FÁRMACOS COM USOS ESPECIALIZADOS

Trimetrexato

É um análogo do ácido fólico cujo mecanismo de ação consiste em inibição da enzima di-hidrofolato redutase, sendo utilizado principalmente no tratamento das infecções causadas pela *P. jirovecii* em pacientes com Aids, intolerantes ou refratários à combinação sulfametoxazol-trimetoprima e ao isetionato de pentamidina. Como o trimetrexato é lipofílico, sofre difusão passiva através das membranas celulares do hospedeiro, consistindo a toxicidade associada principalmente em supressão da medula óssea. Por conseguinte, o trimetrexato deve ser administrado concomitantemente com a leucovorina cálcica, uma coenzima do folato reduzido, transportada nas células do hospedeiro, mas não na *P. jirovecii*, protegendo, assim, o hospedeiro.

Dapsona

A dapsona é uma sulfona estreitamente relacionada com as sulfonamidas. Com frequência, administra-se terapia combinada com dapsona e rifampicina no tratamento inicial da hanseníase. Também pode ser indicada para tratamento de pneumonia pelo *Pneumocystis* em pacientes com Aids, sendo bem absorvida pelo trato gastrintestinal e distribuindo-se amplamente pelos tecidos. Os efeitos colaterais são comuns, consistindo em

anemia hemolítica, intolerância gastrointestinal, febre, prurido e exantema.



Metronidazol

O metronidazol é um antiprotozoário utilizado no tratamento das infecções causadas por tricomonas, giárdia e amebas. Além disso, exerce efeitos notáveis em infecções por bactérias anaeróbias, como, por exemplo, as causadas por espécies de *Bacteroides*, bem como na vaginose bacteriana. Parece eficaz na preparação pré-operatória do colo e na diarreia associada a antibióticos causada por *C. difficile* toxigênico. Os efeitos adversos consistem em estomatite, diarreia e náuseas.

Antissépticos urinários

São fármacos com efeitos antibacterianos limitados à urina. Não atingem níveis significativos nos tecidos e, portanto, não exercem efeito algum sobre as infecções sistêmicas, mas reduzem efetivamente as contagens de bactérias na urina e, por isso, diminuem acentuadamente os sintomas das infecções das vias urinárias inferiores, sendo utilizados apenas no tratamento das infecções do trato urinário.

Os antissépticos urinários comumente utilizados consistem em nitrofurantoína, fosfomicina, ácido nalidíxico, mandelato de metenamina e hipurato de metenamina. A nitrofurantoína mostra-se ativa contra muitas bactérias, mas pode causar desconforto gastrointestinal. A fosfomicina é um derivado do ácido fosfônico e é usada principalmente nos EUA em terapia de dose única para infecções do trato urinário causadas por *E. coli* e outras enterobactérias e enterococos. O ácido nalidíxico, uma quinolona, é eficaz apenas na urina, mas pode-se verificar o rápido desenvolvimento de bactérias resistentes na urina. Tanto o mandelato de metenamina quanto o hipurato de metenamina acidificam a urina e liberam formaldeído. Outras substâncias que acidificam a urina (p. ex., metionina, suco de uva-do-monte) podem ter atividade bacteriostática na urina.

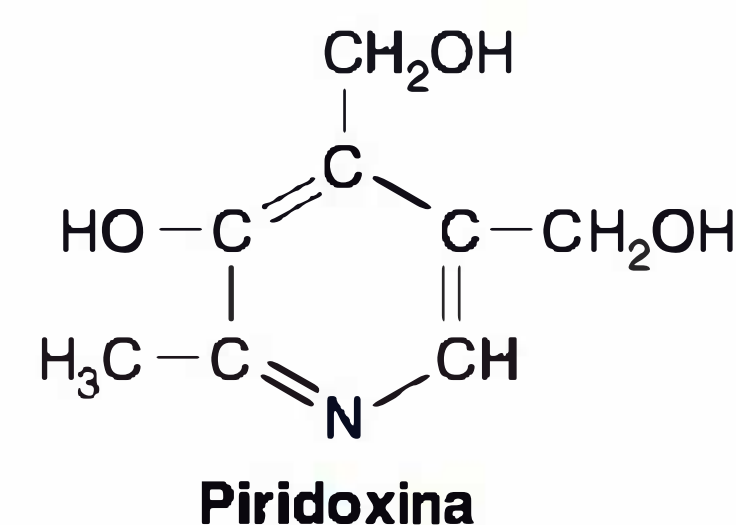
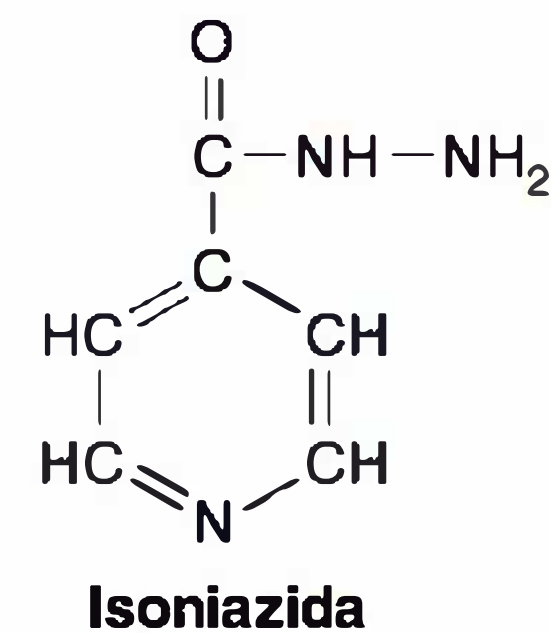
Os fármacos de uso oral absorvidos sistemicamente, excretados em altas concentrações na urina, costumam ser preferidos nas infecções agudas do trato urinário e consistem em ampicilina, amoxicilina, sulfonamidas, quinolonas e outros.

FÁRMACOS UTILIZADOS PRINCIPALMENTE NO TRATAMENTO DAS INFECÇÕES POR MICOBACTÉRIAS

Isoniazida

A INH isoniazida exerce pouco efeito sobre a maioria das bactérias, porém é notavelmente ativa contra as micobactérias, em particular o *M. tuberculosis*. Em sua maioria, os bacilos da tuberculose são inibidos e destruídos *in vitro* por INH a 0,1 a

1 µg/mL; entretanto, as grandes populações de bacilos da tuberculose geralmente contêm alguns microrganismos resistentes à isoniazida. Por esse motivo, a INH é utilizada em combinação com outros antimicobacterianos (em especial etambutol ou rifampicina) para reduzir o aparecimento de bacilos da tuberculose resistentes. A INH atua sobre as micobactérias ao inibir a síntese dos ácidos micólicos. A INH e a piridoxina são análogos estruturais. Os pacientes que recebem INH excretam piridoxina em quantidades excessivas com o conseqüente desenvolvimento de neurite periférica, complicação que pode ser evitada pela administração de piridoxina, a qual não interfere na ação antituberculose da INH.

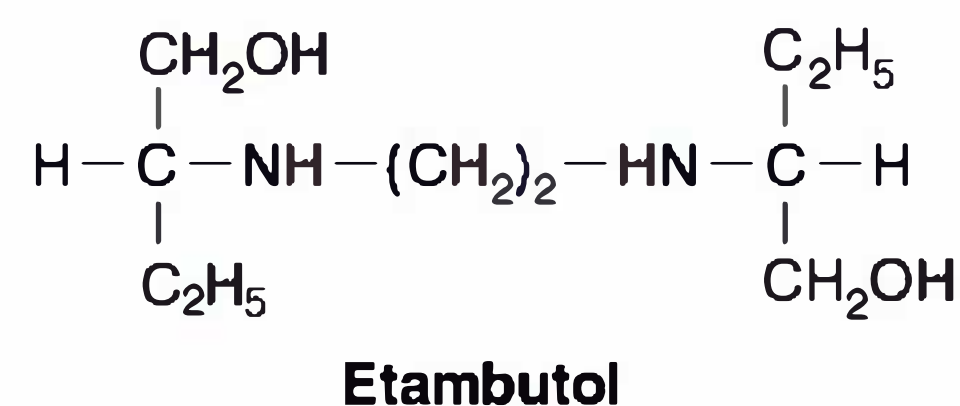


A INH sofre rápida e completa absorção pelo trato gastrointestinal, sendo em parte acetilada e em parte excretada na urina. Quando administrada em doses habituais, é raro haver manifestações tóxicas, como, por exemplo, hepatite. Difunde-se livremente nos líquidos teciduais, como o LCS.

Em indivíduos com conversão positiva do teste tuberculínico e que não apresentam qualquer evidência de doença, pode-se utilizar INH como profilaxia.

Etambutol

O etambutol consiste em um isômero D sintético, hidrossolúvel e termoestável, cuja estrutura é fornecida a seguir.



Muitas cepas de *M. tuberculosis* e das micobactérias “atípicas” são inibidas *in vitro* pelo etambutol na dose de 1 a 5 µg/mL.

O etambutol é bem absorvido pelo intestino. Cerca de 20% do fármaco são excretados nas fezes e 50% são excretados na urina, em forma inalterada. A excreção é retardada na insuficiência renal. Na presença de meningite, o etambutol aparece no LCS.

A resistência ao etambutol surge rapidamente entre as micobactérias quando o fármaco é utilizado isoladamente. Por conseguinte, o etambutol deve ser sempre administrado em combinação com outros fármacos antituberculose.

Em geral, o etambutol é prescrito em dose única diária por via oral e raramente desencadeia hipersensibilidade. O efeito colateral mais comum consiste em distúrbios visuais, embora sejam raros nas doses-padrão: ocorrem redução da acuidade visual, neurite óptica e, talvez, lesão retiniana em alguns pacientes tratados com altas doses durante vários meses. A maior parte dessas alterações normalmente regride quando se interrompe o uso do etambutol. Todavia, é obrigatório proceder a uma avaliação periódica da acuidade visual durante o tratamento. É muito raro haver distúrbios visuais quando se administram baixas doses.

Rifampicina

A rifampicina é um derivado semissintético da rifamicina, antibiótico produzido por *Streptomyces mediterranei*, sendo ativa *in vitro* contra alguns cocos gram-positivos e gram-negativos, algumas bactérias entéricas, micobactérias, clamídias e poxvírus. Embora muitos meningococos e micobactérias sejam inibidos por menos de 1 µg/mL, ocorrem mutantes altamente resistentes em todas as populações microbianas, a uma frequência de 10^{-6} a 10^{-5} . A administração prolongada de rifampicina, em forma de monoterapia, permite o aparecimento desses mutantes altamente resistentes. Não se observa resistência cruzada com outros antimicrobianos.

A rifampicina liga-se fortemente à RNA polimerase dependente do DNA e, portanto, inibe a síntese do RNA nas bactérias, bloqueando um estágio avançado na organização dos poxvírus. Penetra adequadamente nas células fagocíticas, podendo destruir os microrganismos intracelulares. Os mutantes resistentes à rifampicina exibem alteração da RNA polimerase.

A rifampicina é bem absorvida após administração oral, distribuindo-se em ampla escala pelos tecidos e sendo excretada principalmente através do fígado e, em menor quantidade, na urina.

Na tuberculose, administra-se dose oral única em associação com etambutol, INH, ou outro agente antituberculose, a fim de se retardar o aparecimento das micobactérias resistentes à rifampicina. Pode-se utilizar um esquema semelhante para as micobactérias atípicas. Em esquemas terapêuticos de curta duração para a tuberculose, a rifampicina é administrada por via oral, inicialmente 1 vez/dia (em combinação com a INH) e, em seguida, 2 ou 3 vezes/semana durante 6 a 9 meses, mas devem-se administrar pelo menos 2 doses por semana, para evitar o desenvolvimento de “síndrome gripal” e anemia. A rifampicina utilizada em associação com uma sulfona é eficaz na hanseníase.

A rifampicina por via oral pode eliminar a maioria dos meningococos dos indivíduos portadores. Infelizmente, algumas cepas de meningococos altamente resistentes são selecionadas com esse procedimento. Indivíduos em contato íntimo com crianças que tenham infecção pelo *H. influenzae* (p. ex., na família ou em creches) podem receber rifampicina como profilaxia. Nas infecções das vias urinárias e na bronquite crônica, a rifampicina não é útil devido ao rápido desenvolvimento de resistência.

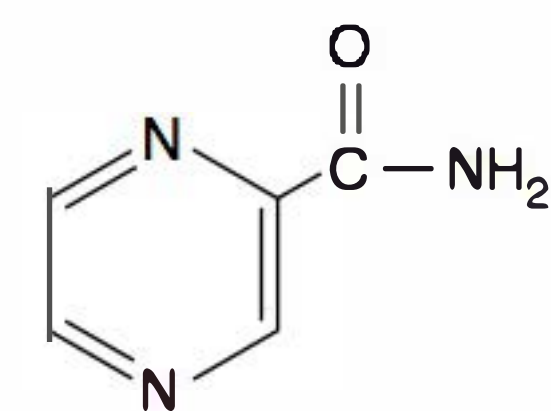
A rifampicina confere uma coloração alaranjada inócua à urina, ao suor e às lentes de contato. Os efeitos adversos ocasionais consistem em exantema, trombocitopenia, proteinúria de cadeias leves e comprometimento da função hepática. A rifampicina induz as enzimas microsossomais (p. ex., citocromo P450).

A rifabutina é um antimicobacteriano relacionado que se mostra ativo na prevenção de infecção causada pelo complexo *M. avium*.

A rifaximina é um derivado da rifampicina que possui um anel piridoimidazol adicional. É um agente oral não absorvido, útil no tratamento da diarreia do viajante e como terapia de resgate para doença recorrente por *C. difficile*.

Pirazinamida

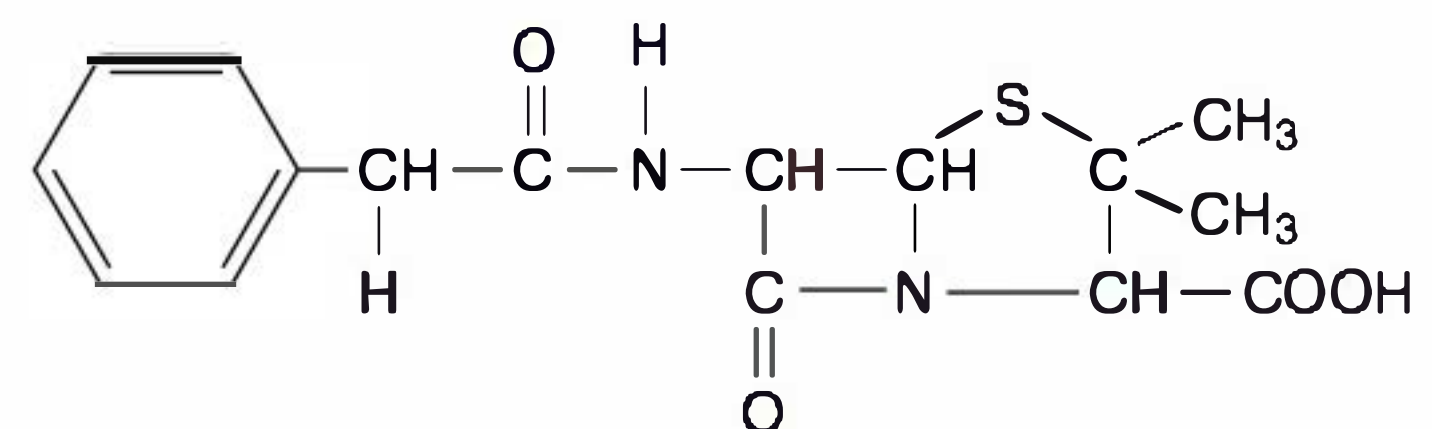
A pirazinamida está relacionada com a nicotinamida, sendo rapidamente absorvida pelo trato gastrointestinal e distribuindo-se em ampla escala pelos tecidos. O *M. tuberculosis* desenvolve resistência rapidamente à pirazinamida, mas não se observa resistência cruzada com a INH nem com outros fármacos antituberculose. Os principais efeitos adversos da pirazinamida consistem em hepatotoxicidade (1 a 5%), náuseas, vômitos, hipersensibilidade e hiperuricemia.



Pirazinamida (PZA)

QUESTÕES DE REVISÃO

- O agente antimicrobiano cuja estrutura está representada anteriormente é considerado o fármaco de escolha para qual dos seguintes microrganismos?



- Bacteroides fragilis*
 - Pseudomonas aeruginosa*
 - Herpes-vírus simples
 - Streptococcus pyogenes* (estreptococos do grupo A)
 - Mycobacterium tuberculosis*
- A resistência do *Staphylococcus aureus* ao fármaco na Questão 1 é causada por
 - Ação da acetiltransferase
 - Ação da β-lactamase
 - Substituição do dipeptídeo D-Ala-D-Ala pelo dipeptídeo D-Ala-D-Lac na parede celular do peptidoglicano
 - Diminuição da permeabilidade da parede celular bacteriana ao fármaco
 - Staphylococcus aureus* atuando como um patógeno intracelular
 - A resistência do *Streptococcus pneumoniae* ao fármaco mostrado na Questão 1 é devido à
 - Ação da acetiltransferase
 - Ação da β-lactamase
 - Substituição do ídeodipeptídeo D-Ala-D-Ala pelo dipeptídeo D-Ala-D-Lac na parede celular do peptidoglicano

- (D) Diminuição da permeabilidade da parede celular bacteriana ao fármaco
- (E) Proteínas de ligação geneticamente modificadas na parede celular bacteriana
4. Todas as afirmativas a seguir, sobre a resistência aos antimicrobianos pelos enterococos, estão corretas, *exceto*:
- (A) Os enterococos são resistentes ao combinado sulfametoxazol-trimetoprima *in vivo*
- (B) As cefalosporinas não são ativas contra os enterococos
- (C) Têm sido relatados casos de resistência às estreptograminas (quinupristina-dalfopristina)
- (D) Os enterococos resistentes à vancomicina são raros na Europa e nos EUA
- (E) Os enterococos resistentes à vancomicina, que eram predominantemente clonais, são atualmente heterogêneos
5. Mulher asiática de 20 anos de idade, que emigrou recentemente para os EUA, desenvolve febre com tosse produtiva e escarro sanguinolento. Perdeu 6 kg nos últimos 6 meses. A radiografia de pulmão mostrou infiltrados bilaterais com cavidades nos lobos superiores. Dado seu histórico e os achados dos raios X, qual dos seguintes esquemas de antibioticoterapia pode ser o mais apropriado como terapia inicial enquanto se aguardam os resultados da cultura?
- (A) Isoniazida, rifampicina, pirazinamida e etambutol
- (B) Penicilina G e rifampicina
- (C) Cefotaxima, clindamicina e sulfametoxazol-trimetoprima
- (D) Ampicilina-sulbactam
- (E) Vancomicina, gentamicina e clindamicina
6. Qual dos seguintes efeitos adversos é causado tipicamente por aminoglicosídeos?
- (A) Anemia aplásica
- (B) Estimulação não específica das células B
- (C) Ototoxicidade e nefrotoxicidade
- (D) Fotossensibilidade
7. Qual dos seguintes grupos de agentes antimicrobianos atua por inibição da síntese proteica?
- (A) Fluoroquinolonas
- (B) Aminoglicosídeos
- (C) Penicilinas
- (D) Glicopeptídeos (p. ex., vancomicina)
- (E) Polimixinas
8. Existem muitas combinações de bactérias resistentes a antibióticos. Qual das seguintes opções denota um problema maior de escala internacional?
- (A) Resistência à sulfonamida na *Neisseria meningitidis*
- (B) Resistência à penicilina G na *Neisseria gonorrhoeae*
- (C) Resistência à ampicilina no *Haemophilus influenzae*
- (D) Resistência à eritromicina no *Streptococcus pyogenes* (estreptococos do grupo A)
- (E) Resistência à vancomicina no *Staphylococcus aureus*
9. Qual dos seguintes fatores geralmente não é considerado quando se faz a seleção da terapia antimicrobiana inicial para uma infecção?
- (A) A idade do paciente
- (B) O local anatômico da infecção (p. ex., meningite ou infecção do trato urinário)
- (C) Se o paciente está ou não imunodeprimido
- (D) Se o paciente possui ou não algum dispositivo implantado (p. ex., prótese articular de quadril, válvula cardíaca artificial, cateter urinário)
- (E) Aguardar os resultados da cultura e dos testes de sensibilidade aos antimicrobianos
10. Todos os seguintes agentes têm boa atividade contra microrganismos gram-positivos, *exceto*:
- (A) Daptomicina
- (B) Vancomicina
- (C) Aztreonam
- (D) Quinupristina-dalfopristina
- (E) Tigeciclina
11. A tigeciclina, uma nova gliciliciclina com boa atividade contra uma variedade de patógenos, é melhor usada para o tratamento de qual das seguintes infecções?
- (A) Meningite
- (B) Infecções intra-abdominais causadas por bactérias aeróbias e anaeróbias mistas
- (C) Sepses neonatais
- (D) Uretrite causada por *Chlamydia trachomatis*
- (E) Como monoterapia para bacteriemia causada por *Acinetobacter baumannii*
12. Qual dos seguintes antibióticos carbapenêmicos não possui atividade contra *Pseudomonas aeruginosa*?
- (A) Imipenem
- (B) Meropenem
- (C) Doripenem
- (D) Ertapenem
13. De qual dos seguintes agentes não se pode esperar que demonstre um efeito pós-antibiótico contra bacilos gram-negativos?
- (A) Imipenem
- (B) Ciprofloxacino
- (C) Gentamicina
- (D) Ampicilina
14. Todas as alternativas a seguir são mecanismos comuns de resistência à penicilina, *exceto*:
- (A) Produção de β -lactamases
- (B) Alterações nos alvos receptores (PBP)
- (C) Incapacidade de ativar enzimas autolíticas
- (D) Falha na síntese do peptidoglicano
- (E) Metilação do RNA ribossomal
15. O fármaco de primeira escolha para o tratamento de infecções anaeróbias graves causadas por *Bacteroides fragilis* é:
- (A) Clindamicina
- (B) Ampicilina
- (C) Cefoxitina
- (D) Metronidazol
- (E) Amoxicilina-ác. clavulânico

Respostas

- | | | | |
|------|------|-------|-------|
| 1. D | 5. A | 9. E | 13. D |
| 2. B | 6. C | 10. C | 14. E |
| 3. E | 7. B | 11. B | 15. D |
| 4. D | 8. E | 12. D | |

REFERÊNCIAS

- Cornaglia G, Giamarellou H, Rossolini GM: Metallo- β -lactamases: A last frontier for β -lactams? *Lancet Infect Dis* 2011;11:381–393.
- Lundstrom TS, Sobel JD: Antibiotics for gram-positive bacterial infections: Vancomycin, quinupristin-dalfopristin, linezolid, and daptomycin. *Infect Dis Clin North Am* 2004;18:651.
- Meagher AK, Ambrose PG, Grasela TH, Ellis-Grosse EJ: Pharmacokinetic/pharmacodynamic profile for tigecycline—A new glycycline antimicrobial agent. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2005;52:165–171.
- Pillai SK, Eliopoulos GM, Moellering RC: Principles of antiinfective therapy, Vol, I Part I, Section E. In Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (editors). *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*, 7th ed. Churchill Livingstone, 2010.
- O'Donnell JA, Gelone SP: The newer fluoroquinolones. *Infect Dis Clin North Am* 2004;18:691.
- Opal SM, Pop-Vicas A: Molecular mechanisms of antibiotic resistance in bacteria. In Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (editors). *Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*, 7th ed. Churchill Livingstone Elsevier, 2010.
- Rice LB, Bonomo RA: Mechanisms of resistance to antibacterial agents. In Versalovic J, Carroll KC, Funke G et al. (editors). *Manual of Clinical Microbiology*, 10th edition. ASM Press, 2011.
- Richter SS, Heilmann KP, Dohrn CL et al.: Changing epidemiology of antimicrobial resistant *Streptococcus pneumoniae* in the United States, 2004–2005. *Clin Infect Dis* 2009;48:e23.
- Yao JDC, Moellering RC. Antibacterial agents. In Versalovic J, Carroll KC, Funke G et al. (editors). *Manual of Clinical Microbiology*, 10th edition. ASM Press, 2011.

Propriedades gerais dos vírus

Os vírus são os menores agentes infecciosos (com diâmetro que varia de cerca de 20 nm a cerca de 300 nm) e contêm apenas um tipo de ácido nucleico (RNA ou DNA) como genoma, circundado por um envelope proteico que pode ser delimitado por membrana contendo lipídeo. A unidade infecciosa completa é denominada virion. Os vírus são inertes no ambiente extracelular, replicam-se apenas em células vivas e são parasitos em nível genético. O ácido nucleico viral contém a informação necessária para programar a célula infectada do hospedeiro para sintetizar macromoléculas específicas do vírus necessárias à produção da progênie viral. Durante o ciclo de replicação, são produzidas várias cópias de ácido nucleico viral e proteínas do envelope. As proteínas do envelope organizam-se para formar o capsídeo, que envolve e estabiliza o ácido nucleico viral, protegendo-o do ambiente extracelular, bem como facilitando a fixação e a penetração do vírus ao entrar em contato com novas células suscetíveis. A infecção por vírus pode ter pouco ou nenhum efeito sobre a célula hospedeira, ou resultar em lesão ou morte celular.

O universo dos vírus apresenta grande diversidade. Os vírus variam enormemente na sua estrutura, organização e expressão do genoma, bem como nas estratégias de replicação e transmissão. A variedade de hospedeiros para determinado vírus pode ser ampla ou extremamente limitada. Sabe-se que os vírus infectam os microrganismos unicelulares, como micoplasmas, bactérias e algas, bem como todas as plantas e animais superiores. No Capítulo 30 são fornecidos os detalhes gerais dos efeitos da infecção viral sobre o hospedeiro.

Grande parte da informação sobre as relações entre vírus e hospedeiro foi obtida de estudos com bacteriófagos, isto é, vírus que atacam bactérias. Este assunto é discutido no Capítulo 7. As propriedades de cada vírus são discutidas nos Capítulos 31 a 44.

TERMOS E DEFINIÇÕES EM VIROLOGIA

Diagramas esquemáticos de vírus com simetria icosaédrica e helicoidal estão mostrados na Figura 29.1. Os componentes virais indicados estão descritos a seguir.

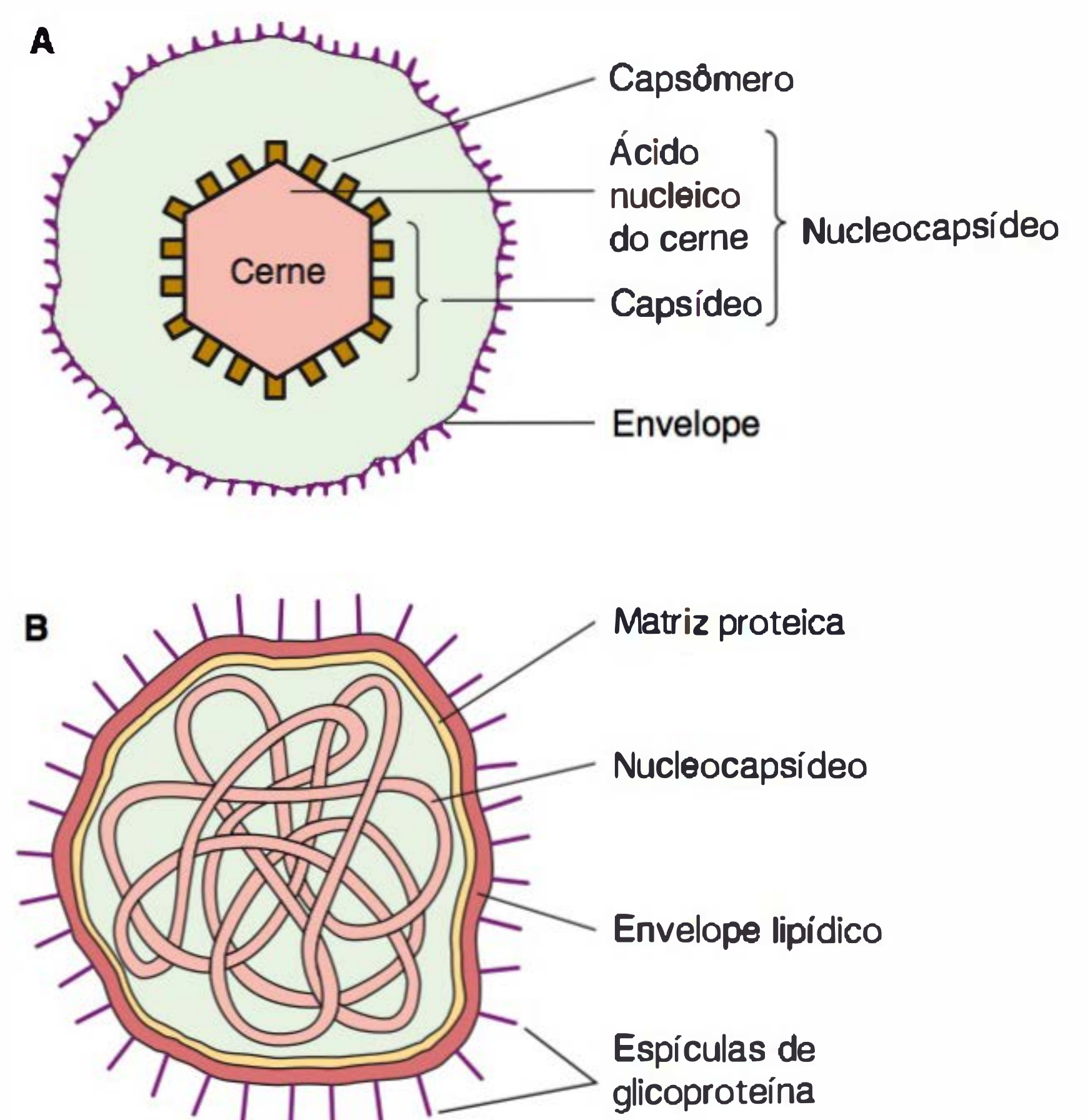


FIGURA 29.1 Diagrama esquemático que ilustra os componentes da partícula viral completa (o virion). (A) Vírus com envelope de simetria icosaédrica. (B) Vírus de simetria helicoidal.

Capsídeo: envelope proteico ou camada que encerra o genoma de ácido nucleico.

Capsômeros: unidades morfológicas observadas ao microscópio eletrônico na superfície das partículas virais icosaédricas. Os capsômeros representam aglomerados de polipeptídeos, porém as unidades morfológicas não correspondem necessariamente às unidades estruturais definidas quimicamente.

Envelope: membrana contendo lipídeos que circunda algumas partículas virais. O envelope é adquirido, durante a maturação do vírus, por um processo de brotamento através da membrana celular da célula hospedeira. As glicoproteínas codificadas pelo vírus estão expostas na superfície do envelope. Tais projeções são denominadas **peplômeros**.

Nucleocapsídeo: o complexo de proteína-ácido nucleico que representa a forma acondicionada do genoma viral. O termo é comumente utilizado nos casos em que o nucleocapsídeo constitui subestrutura de uma partícula viral mais complexa.

Subunidade: cadeia polipeptídica viral dobrada.

Unidades estruturais: as subunidades proteicas básicas do envelope. Em geral, trata-se de uma coleção de mais de uma subunidade proteica não idêntica. A unidade estrutural é frequentemente descrita como **protômero**.

Virion: partícula viral completa. Em alguns casos (p. ex., papilomavírus, picornavírus), o virion é idêntico ao nucleocapsídeo. Nos vírus mais complexos (herpes-vírus, ortomixovírus), o virion inclui o nucleocapsídeo mais um envelope circundante. Tal estrutura, o virion, serve para transferir o ácido nucleico viral de uma célula para outra.

Vírus defeituoso: partícula viral funcionalmente deficiente em algum aspecto da replicação.

ORIGEM EVOLUTIVA DOS VÍRUS

A origem dos vírus ainda não é conhecida. Existem profundas diferenças entre os vírus de DNA, os de RNA e os que utilizam tanto o DNA quanto o RNA como material genético durante diferentes estágios do seu ciclo de vida. É possível que os diferentes tipos de agente tenham origens distintas. Duas teorias sobre a origem dos vírus podem ser resumidas da seguinte maneira:

1. Os vírus podem ser derivados do DNA ou do RNA dos ácidos nucleicos de células hospedeiras que adquiriram a capacidade de replicação autônoma e evoluíram independentemente. Assemelham-se a genes que adquiriram a capacidade de existir independentemente da célula. Algumas sequências virais estão relacionadas com porções de genes celulares que codificam domínios funcionais proteicos. É provável que pelo menos alguns vírus tenham evoluído dessa maneira.
2. Os vírus podem consistir em formas degeneradas de parasitos intracelulares. Não há evidências de que os vírus tenham evoluído a partir de bactérias, embora exista a probabilidade de que outros microrganismos intracelulares obrigatórios (p. ex., riquetsias e clamídias) tenham feito isso. Todavia, os poxvírus são tão grandes e complexos que podem representar produtos evolutivos de algum ancestral celular.

CLASSIFICAÇÃO DOS VÍRUS

Bases da classificação

Foram utilizadas, como base para classificação dos vírus, as propriedades mostradas a seguir. A quantidade de informações disponíveis em cada categoria não é a mesma para todos os vírus. Os métodos empregados para caracterizar os vírus mudam rapidamente. Hoje, a determinação da sequência do genoma é frequentemente efetuada na identificação inicial do vírus, e as comparações com bases de dados disponíveis evitam a necessidade de obter maior número de dados clássicos (p. ex., densidade de flutuação do virion, etc.). Os dados relativos à sequência genômica constituem critérios taxonômicos avançados (p. ex., ordem dos genes) e podem fornecer a base para a identificação de novas famílias de vírus.

1. Morfologia do virion, inclusive o tamanho, a forma, o tipo de simetria, a presença ou ausência de peplômeros e a presença ou ausência de membranas.
2. Propriedades do genoma do vírus, inclusive o tipo de ácido nucleico (DNA ou RNA), o tamanho do genoma em quilobases (kb) ou pares de quilobases (kbp), o número de fitas (simples ou duplo), linear ou circular, sentido/polaridade (positivo, negativo, com ambos os sentidos), segmentos (número e tamanho), sequência de nucleotídeos, conteúdo de G + C, presença de características especiais (elementos repetitivos, isomerização, estrutura nucleotídica cap 5'-terminal, proteína de ligação covalente 5'-terminal, trato poli(A) 3'-terminal).
3. Organização genômica e de replicação, incluindo a ordem dos genes, número e posição das sequências de leitura aberta (*open reading frames* [ORF]), estratégia de replicação (padrões de transcrição e de tradução) e sítios celulares (acúmulo de proteínas, montagem e liberação virion).
4. Propriedades das proteínas virais, inclusive o número, o tamanho e as atividades funcionais das proteínas estruturais e não estruturais, sequência de aminoácidos, modificações (glicosilação, fosforilação, miristilação) e atividades funcionais especiais (transcriptase, transcriptase reversa, neuraminidase, atividades de fusão).
5. Propriedades antigênicas.
6. Propriedades físico-químicas do virion, inclusive a massa molecular (MM), a densidade de flutuação, a estabilidade em pH, a termoestabilidade e a suscetibilidade a agentes físicos e químicos, particularmente éter e detergentes.
7. Propriedades biológicas, inclusive a variedade de hospedeiros naturais, o modo de transmissão, as relações com vetores, a patogenicidade, os tropismos teciduais e a patologia.

Sistema universal de taxonomia dos vírus

Foi desenvolvido um sistema em que os vírus são distribuídos em grandes grupos — denominados famílias — com base na morfologia do virion, na estrutura do genoma e nas estratégias de replicação. Os nomes das famílias de vírus têm o sufixo **-viridae**. No Quadro 29.1, fornecemos um esquema conveniente utilizado para classificação. Diagramas de famílias de vírus de animais são mostrados na Figura 29.2.

QUADRO 29.1 Famílias de vírus de animais que contêm membros capazes de infectar seres humanos

Cerne do ácido nucleico	Simetria do capsídeo	Virion: com envelope ou desnudo	Sensibilidade ao éter	Número de capsômeros	Tamanho da partícula viral (nm) ^a	Tamanho do ácido nucleico no virion (kb/kbp)	Tipo físico de ácido nucleico ^b	Família de vírus			
DNA	Icosaédrico	Desnudo	Resistente	32	18 a 26	5,6	fs	Parvoviridae			
					30	2,0 a 3,9	fs circular	Anelloviridae			
				72	45	5	fd circular	Polyomaviridae			
				72	55	8	fd circular	Papillomaviridae			
		252	70 a 90	26 a 45	fd	Adenoviridae					
		Com envelope	Sensível	180	40 a 48	3,2	fd circular ^c	Hepadnaviridae			
				162	150 a 200	125 a 240	fd	Herpesviridae			
Complexo	Revestimento complexo	Resistente ^d		230 × 400	130 a 375	fd	Poxviridae				
RNA	Icosaédrico	Desnudo	Resistente	32	28 a 30	7,2 a 8,4	fs	Picornaviridae			
					28 a 30	6,4 a 7,4	fs	Astroviridae			
				32	27 a 40	7,4 a 8,3	fs	Caliciviridae			
					27 a 34	7,2	fs	Herpeviridae			
					60 a 80	16 a 27	fd segmentado	Reoviridae			
				Com envelope	Sensível	42	50 a 70	9,7 a 11,8	fs	Togaviridae	
						Desconhecido ou complexo	Sensível	40 a 60	9,5 a 12,5	fs	Flaviviridae
				50 a 300	10 a 14			fs segmentado	Arenaviridae		
				120 a 160	27 a 32			fs	Coronaviridae		
				Helicoidal	Com envelope	Sensível		80 a 110	7 a 11 ^e	fs diploide	Retroviridae
								80 a 120	10 a 13,6	fs segmentado	Orthomyxoviridae
								80 a 120	11 a 21	fs segmentado	Bunyaviridae
								80 a 125	8,5 a 10,5	fs	Bornaviridae
								75 × 180	13 a 16	fs	Rhabdoviridae
					150 a 300	16 a 20	fs	Paramyxoviridae			
	80 × 1.000 ^f	19,1	fs	Filoviridae							

^aDiâmetro, ou diâmetro × comprimento.

^bfd, fita dupla; fs, fita simples.

^cA fita de sentido negativo tem um comprimento constante de 3,2 kb; a outra varia em comprimento, deixando um grande espaço de fita simples.

^dO gênero *Orthopoxvirus*, que inclui os melhores poxvírus estudados (p. ex., vacínia) é resistente ao éter; alguns poxvírus pertencentes a outros gêneros são sensíveis ao éter.

^eTamanho do monômero.

^fFormas filamentosas variam bastante em comprimento.

Dentro de cada família, as subdivisões, denominadas gêneros, em geral baseiam-se em diferenças biológicas, genômicas, físico-químicas ou sorológicas. Os critérios empregados para definição dos gêneros variam de uma família para outra. Os nomes dos gêneros têm o sufixo *-virus*. Várias famílias (Herpesviridae, Paramyxoviridae, Parvoviridae, Poxviridae, Reoviridae, Retroviridae), apresentam um grupo maior, denominado subfamília, refletindo a complexidade das relações entre os membros. Podem-se utilizar as ordens dos vírus para reunir famílias que apresentem características em comum. Por exemplo, a ordem Mononegavirales, que engloba as famílias Bornaviridae, Filoviridae, Paramyxoviridae e Rhabdoviridae.

Em 2000, o International Committee on Taxonomy of Viruses organizou mais de 4.000 vírus de animais e plantas em 56 famílias e 233 gêneros, e há centenas de vírus ainda não classificados. Dessas, 24 famílias foram representadas por vírus que infectam seres humanos e animais.

As propriedades das principais famílias de vírus de animais que contêm importantes membros que causam doença em seres humanos estão resumidas no Quadro 29.1. Esses vírus são

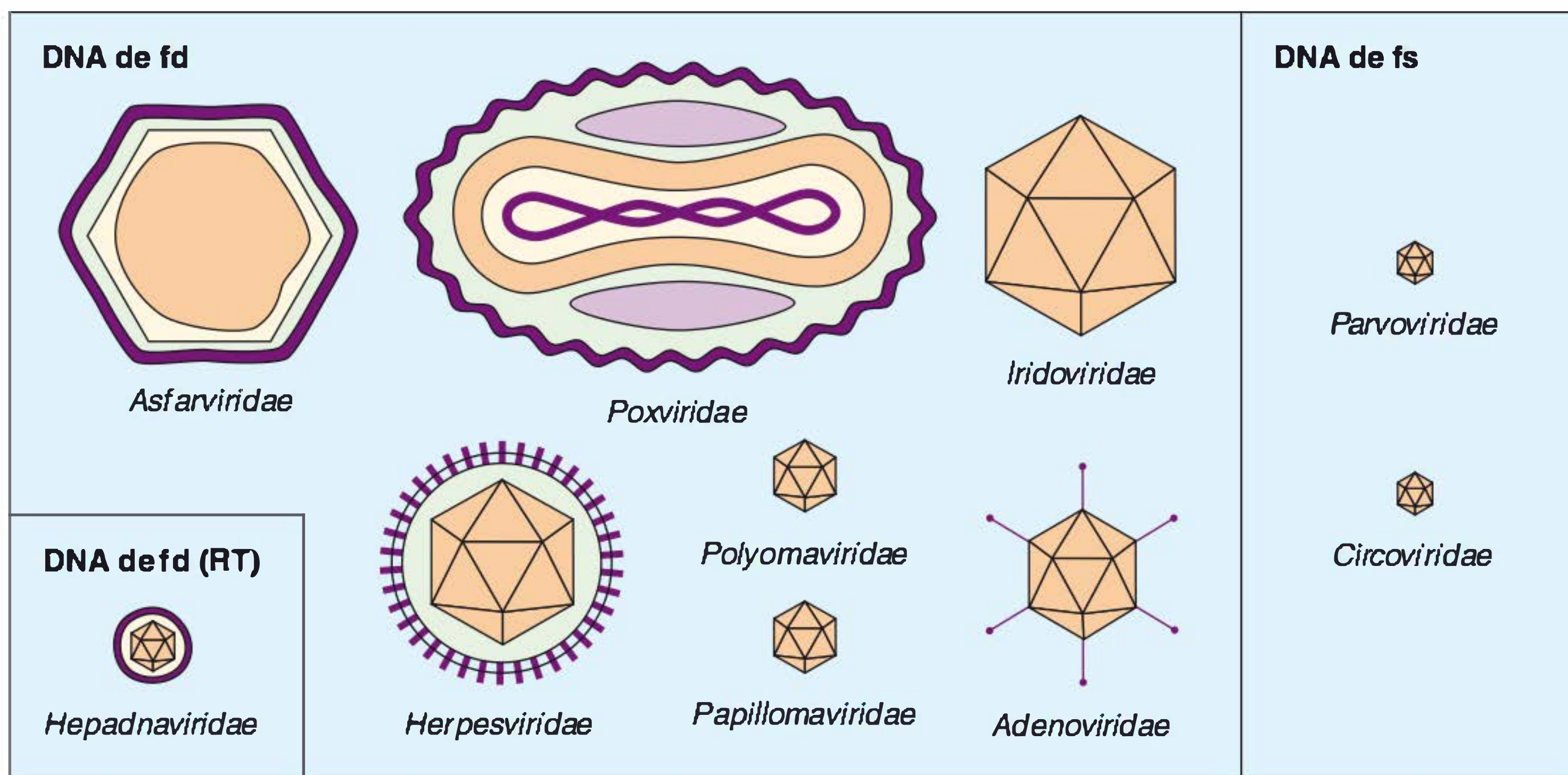
discutidos a seguir de modo sucinto, na ordem mostrada no Quadro 29.1, e considerados em mais detalhe nos próximos capítulos.

Resumo dos vírus que contêm DNA

A. Parvovírus

São vírus muito pequenos, com cerca de 18 a 26 nm de tamanho. As partículas exibem simetria cúbica, com 32 capsômeros, mas não apresentam envelope. O genoma consiste em DNA de fita simples linear, de 5,6 kb de tamanho. A replicação só ocorre em células que se dividem ativamente; a organização dos capsídeos é observada no núcleo da célula infectada. Muitos parvovírus sofrem replicação autônoma, porém os vírus-satélites associados a adenovírus são defeituosos, exigindo a presença de um adenovírus ou herpes-vírus como “auxiliar”. O parvovírus humano B19 sofre replicação em células eritroides imaturas e traz várias consequências adversas, inclusive crise aplástica, quinta doença e morte fetal. (Cap. 31.)

Vírus de DNA



Vírus de RNA

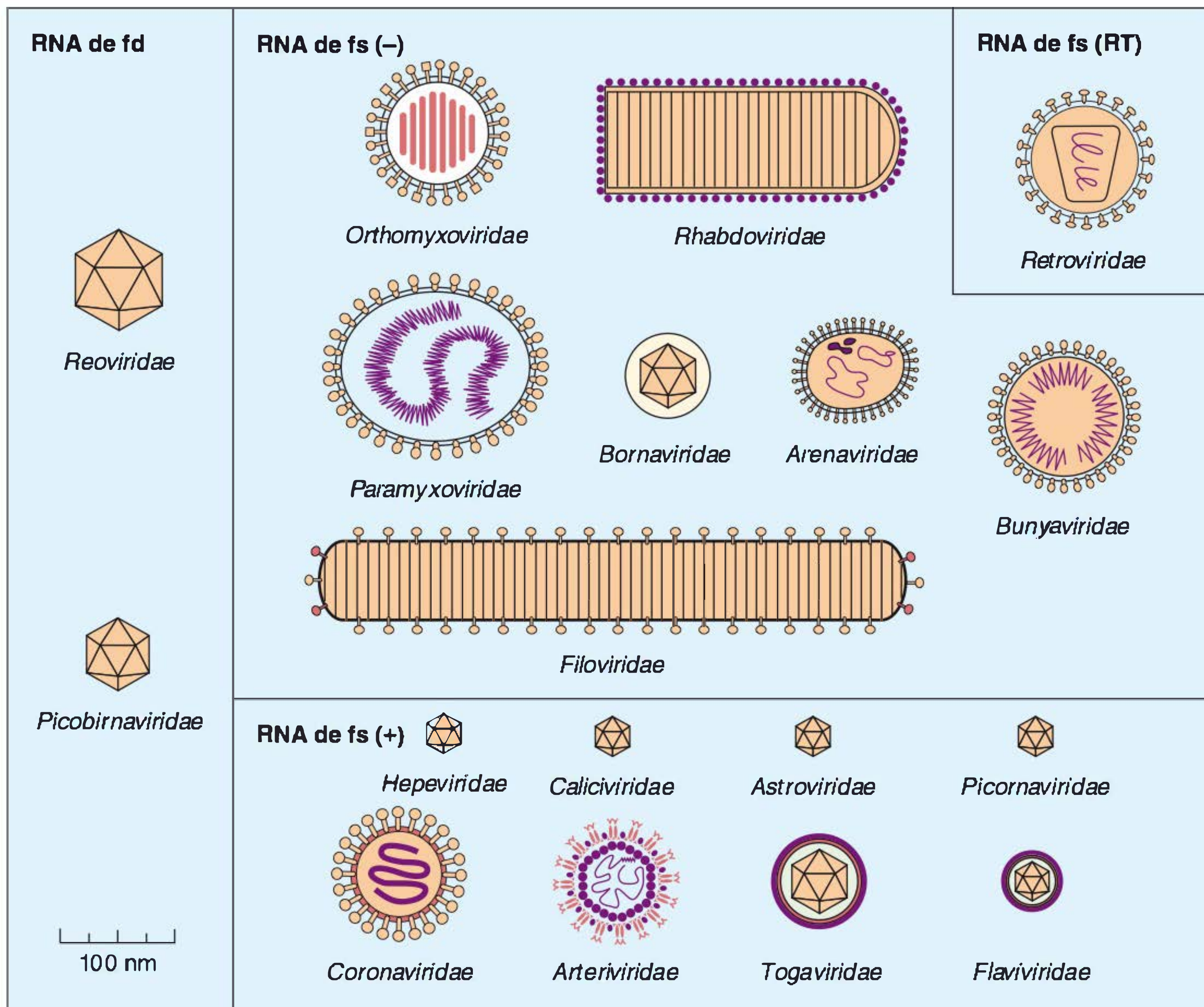


FIGURA 29.2 Formas e tamanhos relativos de vírus de animais de famílias que infectam vertebrados. Em alguns diagramas, certas estruturas internas das partículas estão representadas. Apenas as famílias que incluem os patógenos humanos estão relacionadas no Quadro 29.1 e descritas no texto. (Reproduzida, com autorização, de van Regenmortel MHV, Fauquet CM, Bishop DHL et al. [editors.]. *Virus Taxonomy: Classification and Nomenclature of Viruses. Seventh Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses*. Academic Press, 2000.)

B. Anellovírus

São vírus de pequeno tamanho (de aproximadamente 30 nm de diâmetro), icosaédricos e não envelopados. O genoma viral é circular, de tamanho entre 2,0 a 3,9 kb e formado por DNA de fita simples e de sentido negativo. Os anellovírus (como o torque teno vírus) apresentam uma distribuição cosmopolita na população humana e também em muitas espécies de animais. Até o momento, nenhuma doença foi associada a esses vírus. Além disso, há um conhecimento muito limitado sobre sua expressão gênica e replicação*.

C. Poliomavírus

São pequenos vírus (45 nm) sem envelope, termoestáveis e resistentes ao éter, exibindo simetria cúbica, com 72 capsômeros. O genoma consiste em DNA circular de fita dupla, com 5 kbp de tamanho. Esses agentes apresentam um ciclo de crescimento lento, estimulam a síntese do DNA da célula e replicam-se no interior do núcleo. Os poliomavírus humanos mais bem conhecidos são o vírus JC (agente da leucoencefalopatia multifocal progressiva), o vírus BK (associado a nefropatias em pacientes transplantados) e o vírus da célula de Merkel**. O SV40 também foi isolado de tumores humanos. A maioria das espécies animais abriga um ou mais poliomavírus. Produzem infecções crônicas em seus hospedeiros naturais, e todos podem induzir tumores em algumas espécies animais. Antigamente, os poliomavírus faziam parte da família Papovaviridae antes de esta ser dividida em duas novas famílias. (Ver Cap. 43.)

D. Papilomavírus

Esses vírus assemelham-se aos poliomavírus em alguns aspectos, mas possuem genoma (8 kbp) e tamanho (55 nm) grandes. Existem muitos genótipos de papilomavírus humanos, também conhecidos como vírus das “verrugas”; certos tipos são agentes causadores de cânceres genitais em seres humanos. Os papilomavírus são muito específicos em relação ao hospedeiro e ao

* N. de R.T. O Torque Teno Vírus (TTV) está amplamente difundido nas criações de suínos de todo o mundo. Sua prevalência em suínos é muito variável, mas pode chegar a mais de 70% em determinadas regiões. O vírus infecta diversas espécies. Além dos suínos, já foram relatados casos em javalis, aves, bovinos, felinos, ovinos, primatas e também em seres humanos, e está presente em aproximadamente 90% da população mundial. A distribuição do vírus pelos tecidos e órgãos sugere uma infecção multissistêmica. Recentemente, o TTV vem sendo considerado um bom candidato viral de marcador de contaminação fecal na água, devido a excreção em altas quantidades de partículas virais nas fezes de indivíduos saudáveis, a elevada resistência à inativação no ambiente e aos agentes físico-químicos.

** N. de R.T. O carcinoma de células de Merkel é um tumor raro que se forma quando estas células, que se localizam na pele e são relacionadas com o sentido do tato, se multiplicam sem controle. Também conhecido como carcinoma neuroendócrino ou carcinoma trabecular, acomete com mais frequência pessoas idosas e aparece principalmente nas áreas da pele que ficam expostas ao sol, sendo mais frequente na cabeça e no pescoço, mas podendo também ser encontrado nos braços, pernas e tronco. Histórico de exposições prolongadas ao sol e deficiências do sistema imune (como pacientes HIV positivos) são fatores de risco para o surgimento do tumor. Assim, o vírus polioma é o sétimo vírus associado a cânceres humanos. Os outros, além do vírus do sarcoma de Kaposi (causado pelo herpes-vírus humano tipo 8 ou pelo Epstein-Barr tipo 4), são os vírus das hepatites B e C, associados ao câncer hepático; o papilomavírus, ao câncer cervical; o vírus Epstein-Barr, ao câncer no nariz e faringe e ao linfoma de Burkitt; e o HTLV-1, ou vírus da leucemia de células T humanas do tipo 1.

tecido, não sendo cultivados em células de linhagem contínua. Várias espécies de animais são portadoras de papilomavírus. (Ver Cap. 43.)

E. Adenovírus

Vírus de tamanho médio (70 a 90 nm), sem envelope, que exibem simetria cúbica, com 252 capsômeros. Possuem fibras que fazem a protrusão do vértice dos capsômeros. O genoma consiste em DNA de fita dupla linear, de 26 a 45 kbp de tamanho. A replicação ocorre no núcleo. Padrões complexos de junção (*splicing*) produzem RNAm. Pelo menos 51 tipos de adenovírus infectam os seres humanos, particularmente as mucosas. Alguns tipos podem persistir no tecido linfoide. Certos adenovírus provocam doenças respiratórias agudas, conjuntivite e gastroenterite. Determinados adenovírus de seres humanos podem induzir tumores em *hamsters* recém-nascidos. Existem muitos sorotipos que infectam animais. (Ver Caps. 32 e 43.)

F. Hepadnavírus

São vírus pequenos (40 a 48 nm) que contêm moléculas de DNA de fita dupla circular, tendo 3,2 kbp de tamanho. O DNA viral nas partículas contém um grande espaço de fita simples. A replicação envolve o reparo do hiato de fita simples no DNA, transcrição do RNA e transcrição reversa do RNA para produzir DNA genômico. O vírus consiste em um cerne de nucleocapsídeo icosaédrico de 27 nm em um envelope estreitamente aderente que contém lipídeos e o antígeno de superfície viral. Tipicamente, ocorre a produção excessiva da proteína de superfície durante a replicação do vírus no fígado, com liberação na corrente sanguínea. Os hepadnavírus causam hepatites aguda e crônica; as infecções persistentes estão associadas ao elevado risco de desenvolvimento de câncer hepático. São conhecidos tipos de vírus que infectam mamíferos e patos. (Ver Cap. 35.)

G. Herpes-vírus

Trata-se de uma grande família de vírus com diâmetro de 150 a 200 nm. O nucleocapsídeo tem 100 nm de diâmetro, com simetria cúbica e 162 capsômeros, sendo circundado por um envelope que contém lipídeo. O genoma consiste em DNA de fita dupla linear, de 125 a 240 kbp de tamanho. A presença de sequências terminais repetidas e internas resulta em várias formas isoméricas de DNA genômico. Os virions contêm mais de 30 proteínas. As infecções latentes podem persistir por toda a vida do hospedeiro, geralmente em células ganglionares e linfoblastoides. Os herpes-vírus humanos abrangem os herpes-vírus simples tipos 1 e 2 (lesões orais e genitais), vírus varicela-zóster (herpes-zóster e varicela), citomegalovírus, vírus Epstein-Barr (mononucleose infecciosa e associação com neoplasias humanas), bem como os herpes-vírus humanos 6 e 7 (linfotrópico T), além do herpes-vírus humano 8 (associado ao sarcoma de Kaposi). Outros herpes-vírus ocorrem em muitos animais. (Ver Caps. 33 e 43.)

H. Poxvírus

Grandes vírus ovoides ou em forma de tijolo, de 220 a 450 nm de comprimento por 140 a 260 nm de largura e 140 a 260 nm de espessura. A estrutura das partículas é complexa, com um

envelope contendo lipídeo. O genoma consiste em DNA de fita dupla linear, fechado de modo covalente, de 130 a 375 kbp de tamanho. As partículas de poxvírus contêm cerca de 100 proteínas, inclusive muitas com atividades enzimáticas, como a RNA polimerase dependente do DNA. A replicação ocorre totalmente no interior do citoplasma da célula. Todos os poxvírus tendem a provocar lesões cutâneas. Alguns são patogênicos para os seres humanos (variola, vacínia, molusco contagioso); outros, patogênicos para animais, podem infectar os seres humanos (variola bovina, variola de símios). (Ver Cap. 34.)

Resumo dos vírus que contêm RNA

A. Picornavírus

Pequenos vírus (28 a 30 nm), resistentes ao éter, que exibem simetria cúbica. O genoma de RNA é de fita simples e polaridade positiva, ou seja, pode servir como RNAm, com 7,2 a 8,4 kb de tamanho. Os grupos que infectam os seres humanos são os enterovírus (poliovírus, vírus Coxsackie, vírus Echo e o rinovírus [com mais de 100 sorotipos que causam o resfriado comum]) e os hepatovírus (vírus da hepatite A). Os rinovírus são acidolábeis e apresentam alta densidade; os enterovírus são acidoestáveis e exibem menor densidade. Os picornavírus que infectam animais abrangem aqueles que causam a febre aftosa em bovinos e a encefalomiocardite de roedores. (Ver Cap. 36.)

B. Astrovírus

De tamanho semelhante ao dos picornavírus (28 a 30 nm); todavia, as partículas exibem um contorno distinto em forma de estrela na superfície. O genoma consiste em RNA linear de fita simples e polaridade positiva, com 6,4 a 7,4 kb de tamanho. Esses agentes podem ser associados a gastroenterite em seres humanos e animais. (Ver Cap. 37.)

C. Calicivírus

Semelhantes aos picornavírus, porém ligeiramente maiores (27 a 40 nm). As partículas parecem apresentar depressões em forma de taça na superfície. O genoma consiste em RNA de fita simples e polaridade positiva, com 7,4 a 8,3 kb de tamanho. O virion não tem envelope. Os norovírus são um importante patógeno humano (p. ex., o Norwalk vírus), responsável pela gastroenterite aguda epidêmica. Outros agentes infectam gatos e leões-marinhos, bem como primatas. (Ver Cap. 37.)

D. Herpes-vírus

Semelhantes aos calicivírus, as partículas são pequenas (27 a 34 nm) e resistentes ao éter. O genoma é de fita simples, formado por RNA de polaridade positiva, com 7,2 kb de tamanho e sem a presença de proteína ligada ao genoma viral (*genome-linked viral protein* [VPg]). O vírus da hepatite E humana pertence a este grupo. (Ver Cap. 35.)

E. Picobirnavírus

São vírus pequenos (35 a 40 nm) não envelopados e com estrutura icosaédrica. Seu genoma é linear, formado por RNA de dupla fita (4,0 a 4,5 kb) e segmentado (2 segmentos).

F. Reovírus

São vírus de tamanho médio (60 a 80 nm), resistentes ao éter, sem envelope, que exibem simetria icosaédrica. As partículas têm dois ou três envelopes proteicos com canais que se estendem da superfície até o cerne; pequenas espículas estendem-se a partir da superfície do virion. O genoma consiste em RNA linear, de fita dupla, segmentado (10 a 12 segmentos), com tamanho total de 16 a 27 kbp. Os segmentos de RNA variam de 680 a 3.900 bp. A replicação ocorre no citoplasma; o rearranjo dos segmentos do genoma ocorre com facilidade. Os reovírus de seres humanos incluem os rotavírus, que exibem aspecto distinto em forma de roda e causam gastroenterite. Os reovírus antígenicamente semelhantes infectam muitos animais. O gênero *Coltivirus* inclui o vírus de seres humanos causador da febre transmitida pelo carrapato do Colorado. (Ver Cap. 37.)

G. Arbovírus e os Vírus transmitidos por roedores

Esses dois grupos ecológicos de vírus (não constituem famílias de vírus verdadeiras) apresentam diferentes propriedades físicas e químicas. Os arbovírus (mais de 350) apresentam um complexo ciclo que envolve artrópodes como vetores, os quais transmitem os vírus a hospedeiros vertebrados através de picada. A replicação do vírus não parece prejudicar o artrópode infectado. Os arbovírus infectam seres humanos, mamíferos, aves e cobras, utilizando mosquitos e carrapatos como vetores. Os patógenos humanos incluem os vírus da dengue, da febre amarela, da encefalite e o vírus do Oeste do Nilo. Já os vírus transmitidos por roedores provocam infecções persistentes em roedores e não são transmitidos por artrópodes. As doenças humanas incluem as infecções por hantavírus e a febre de Lassa. Os vírus desses grupos ecológicos pertencem a diversas famílias de vírus, como arenavírus, bunyavírus, flavivírus, reovírus, rabdovírus e togavírus. (Ver Cap. 38.)

H. Togavírus

Muitos arbovírus, que são importantes patógenos humanos, denominados alfavírus, bem como o vírus da rubéola, pertencem a esse grupo. Possuem envelope que contém lipídeos e são sensíveis ao éter. O genoma consiste em RNA de fita simples e polaridade positiva, de 9,7 a 11,8 kb de tamanho. O virion com envelope mede 70 nm. As partículas virais amadurecem por brotamento a partir da membrana da célula hospedeira. Um exemplo é o vírus da encefalite equina do leste. O vírus da rubéola não possui vetor artrópode. (Ver Caps. 38 e 40.)

I. Flavivírus

Vírus com envelope, de 40 a 60 nm de diâmetro, contendo RNA de fita simples e polaridade positiva. O tamanho do genoma varia de 9,5 kb (vírus da hepatite C) a 11 kb (flavivírus) e 12,5 kb (pestivírus). Os virions maduros acumulam-se no interior das cisternas do retículo endoplasmático. Esse grupo de arbovírus abrange o vírus da febre amarela e o da dengue. A maioria dos membros é transmitida por artrópodes hematófagos. O vírus da hepatite C não tem vetor conhecido. (Ver Caps. 35 e 38.)

J. Arenavírus

Vírus com envelope e pleomórficos, cujo tamanho varia de 50 a 300 nm (o que significa 110 a 130 nm). O genoma consiste

em RNA de fita simples circular e segmentado, de polaridade negativa ou de ambos os sentidos, com tamanho total de 10 a 14 kb. Ocorre replicação no citoplasma, com organização por brotamento na membrana plasmática. Os virions incorporam-se aos ribossomos da célula hospedeira durante a maturação, o que confere às partículas um aspecto “arenoso”. A maioria dos membros dessa família é típica da América tropical (*i. e.*, o complexo Tacaribe). Todos os arenavírus patogênicos para os seres humanos causam infecções crônicas em roedores. O vírus da febre de Lassa da África constitui um exemplo. Esses vírus exigem condições de segurança máxima em laboratório. (Ver Cap. 38.)

K. Coronavírus

Partículas com envelope de 120 a 160 nm, contendo um genoma não segmentado de RNA de fita simples e polaridade positiva, de 27 a 32 kb de tamanho. O nucleocapsídeo é helicoidal, com 9 a 11 nm de diâmetro. Os coronavírus assemelham-se aos ortomixovírus, porém exibem projeções superficiais em forma de pétalas dispostas em uma franja que lembra uma coroa solar. Os nucleocapsídeos dos coronavírus desenvolvem-se no citoplasma e amadurecem por brotamento em vesículas citoplasmáticas. Esses vírus possuem uma estreita variedade de hospedeiros. A maior parte dos coronavírus humanos causa doenças moderadas a agudas do trato respiratório superior — os denominados “resfriados” —, mas um novo coronavírus identificado em 2003 causa uma síndrome respiratória aguda grave (Severe Acute Respiratory Syndrome [SARS]). Os torovírus, que provocam gastroenterite, formam um gênero distinto. Os coronavírus de animais causam facilmente infecções persistentes e incluem o vírus da hepatite murina, bem como o da bronquite infecciosa aviária. (Ver Cap. 41.)

L. Retrovírus

Vírus com envelope e esféricos (80 a 110 nm de diâmetro) cujo genoma contém duas cópias de RNA de fita simples linear e tem polaridade positiva, da mesma polaridade do RNA viral. Cada monômero de RNA tem 7 a 11 kb de tamanho. As partículas contêm um nucleocapsídeo helicoidal dentro de um capsídeo icosaédrico. A replicação é peculiar; o vírus possui uma enzima transcriptase reversa que produz uma cópia de DNA a partir do genoma do RNA. Esse DNA torna-se circular e integra-se ao DNA cromossômico do hospedeiro. Em seguida, o vírus sofre replicação a partir da cópia de DNA “pró-viral” integrada. A organização do virion ocorre por brotamento na membrana plasmática. Os hospedeiros permanecem cronicamente infectados. Os retrovírus exibem ampla distribuição, tratando-se de pró-vírus endógenos resultantes de infecções antigas de células germinativas, transmitidos como genes hereditários na maioria das espécies. Os vírus da leucemia e do sarcoma de animais e seres humanos (ver Cap. 43); os vírus espumosos dos primatas e os lentivírus (vírus da imunodeficiência humana; visna de ovinos) (ver Caps. 42 e 44) estão incluídos nesse grupo. Os retrovírus causam a síndrome da imunodeficiência adquirida (Aids) (ver Cap. 44) e tornam possível a identificação dos oncogenes celulares (ver Cap. 43).

M. Ortomixovírus

Vírus com envelope de tamanho médio, de 80 a 120 nm, que exibem simetria helicoidal. As partículas são redondas ou

filamentosas, com projeções superficiais que contêm atividade de hemaglutinina ou neuraminidase. O genoma consiste em RNA de fita simples, linear, segmentado e de polaridade negativa, com tamanho total de 10 a 13,6 kb. Os segmentos variam, cada qual, de 900 a 2.350 nucleotídeos. A hélice interna de nucleoproteína mede 9 a 15 nm. Durante a replicação, o nucleocapsídeo é organizado no núcleo, enquanto a hemaglutinina e a neuraminidase acumulam-se no citoplasma. O vírus amadurece por brotamento na membrana celular. Todos os ortomixovírus são vírus *influenza* que infectam seres humanos ou animais. A natureza segmentada do genoma viral permite um rápido rearranjo genético quando dois vírus *influenza* infectam a mesma célula, propiciando, presumivelmente, a elevada taxa de variação natural observada entre os vírus *influenza*. Acredita-se que a transmissão de outras espécies possa explicar o aparecimento de novas cepas pandêmicas humanas do vírus *influenza* A. (Cap. 39.)

N. Buniavírus

Apresentam partículas esféricas ou pleomórficas de 80 a 120 nm com envelope. O genoma consiste em RNA de fita simples, segmentado em três partes, circular e de polaridade negativa, ou de ambos os sentidos, com tamanho global de 11 a 19 kb. As partículas de virion contêm 3 nucleocapsídeos simétricos helicoidais e circulares, com cerca de 2,5 nm de diâmetro e 200 a 3.000 nm de comprimento. A replicação ocorre no citoplasma, e o envelope é adquirido por brotamento no aparelho de Golgi. A maioria desses vírus é transmitida para vertebrados por artrópodes (arbovírus). Os hantavírus não são transmitidos por artrópodes, mas por roedores persistentemente infectados, através de aerossóis de excrementos contaminados. Causam febre hemorrágica e nefropatia, bem como síndrome pulmonar grave. (Ver Cap. 38.)

O. Bornavírus

Vírus com envelope e esféricos (80 a 125 nm). O genoma consiste em RNA de fita simples, linear, não segmentado e de polaridade negativa, de 8,5 a 10,5 kb de tamanho. São singulares entre os vírus de RNA de sentido negativo, uma vez que a replicação e a transcrição do genoma viral ocorrem no núcleo. O vírus da doença de Borna é neurotrópico e pode estar associado a transtornos neuropsiquiátricos em seres humanos (ver Cap. 42).

P. Rabdovírus

Virions com envelope que se assemelham a uma bala, achatados em uma das extremidades e arredondados na outra, medindo cerca de 75 × 180 nm. O envelope apresenta espículas de 10 nm. O genoma consiste em RNA de fita simples, linear, não segmentado e de polaridade negativa, de 13 a 16 kb de tamanho. As partículas são formadas por brotamento a partir da membrana celular. Os vírus apresentam uma ampla variedade de hospedeiros. O vírus da raiva é um membro desse grupo. (Ver Cap. 42.)

Q. Paramixovírus

Esses vírus assemelham-se aos ortomixovírus, porém são maiores (150 a 300 nm). As partículas são pleomórficas. O nucleocapsídeo interno mede 13 a 18 nm, e o RNA de fita simples linear, de polaridade negativa e não segmentado, tem 16 a 20 kb de

tamanho. Tanto o nucleocapsídeo quanto a hemaglutinina são formados no citoplasma. Os vírus que infectam os seres humanos incluem os da caxumba, sarampo, *parainfluenza*, *metapneumovírus* e o sincicial respiratório. Esses vírus possuem estreita variedade de hospedeiros. Diferente dos vírus *influenza*, os paramixovírus são geneticamente estáveis. (Ver Cap. 40.)

R. Filovírus

Vírus com envelope e pleomórficos, que podem ser muito longos e filiformes. Tipicamente, apresentam 80 nm de largura e cerca de 1.000 nm de comprimento. O envelope contém grandes peplômeros. O genoma consiste em RNA de fita simples, linear e de polaridade negativa, de 19 kb de tamanho. Na África, os vírus Marburg e Ebola provocam febre hemorrágica grave. Esses vírus exigem condições de segurança máxima (nível de biossegurança 4) para sua manipulação. (Ver Cap. 38.)

S. Outros vírus

As informações disponíveis são insuficientes para permitir a classificação desses vírus. Isso se aplica a alguns vírus da gastroenterite (ver Cap. 37).

T. Viroides

Pequenos agentes infecciosos que causam doenças em plantas. Os viroides são agentes que não se encaixam na definição dos vírus clássicos. Consistem em moléculas de ácido nucleico sem revestimento proteico. Os viroides de plantas são moléculas de RNA de fita simples, circulares e fechadas por ligações covalentes, constituídas por cerca de 360 nucleotídeos, com uma estrutura em forma de bastonete e alto pareamento de bases; sofrem replicação por um mecanismo totalmente novo. O RNA viroide não codifica qualquer produto proteico; as doenças devastadoras em plantas provocadas pelos viroides ocorrem por um mecanismo desconhecido. Até o momento, os viroides só foram detectados em plantas; nenhum foi demonstrado em animais ou seres humanos.

U. Príons

Os príons são partículas infecciosas compostas unicamente por proteína, sem ácido nucleico detectável. Altamente resistentes à inativação por calor, formaldeído e radiação UV, que inativam vírus. A proteína príon é codificada por um único gene celular. As doenças causadas por príons, chamadas “encefalopatias espongiformes transmissíveis”, são o *scrapie* em ovelhas, a doença da vaca louca no gado, o kuru e a doença de Creutzfeldt-Jakob em seres humanos. Os príons não parecem vírus. (Ver Cap. 42.)

PRINCÍPIOS DA ESTRUTURA VIRAL

Os vírus exibem muitas formas e tamanhos. É necessário dispor de informações sobre a estrutura dos vírus para a sua classificação e o estabelecimento de relações entre a estrutura e a função das proteínas virais. As características estruturais peculiares de cada família de vírus são determinadas pelas funções do virion: morfogênese e liberação das células infectadas; transmissão para novos hospedeiros; e fixação, penetração e desnudamento em células recém-infectadas. O conhecimento da estrutura dos

vírus é necessário para que se compreendam os mecanismos de certos processos, como a interação das partículas virais com receptores de superfície celular e anticorpos neutralizantes, o que também pode levar ao planejamento racional de fármacos antivirais, capazes de bloquear a fixação, o desnudamento ou a organização dos vírus em células suscetíveis.

Tipos de simetria das partículas virais

A microscopia eletrônica, a microscopia crioeletrônica e as técnicas de difração dos raios X possibilitaram a resolução de pequenas diferenças na morfologia básica dos vírus. O estudo da simetria viral pela microscopia eletrônica-padrão exige o uso de corantes de metais pesados (p. ex., fosfotungstato de potássio) para realçar a estrutura superficial. O metal pesado penetra na partícula viral como uma nuvem e revela a estrutura superficial do vírus em virtude de “coloração negativa”. O nível típico de resolução é de 3 a 4 nm. (O tamanho de uma hélice dupla de DNA é de 2 nm.) Todavia, os métodos convencionais de preparação das amostras frequentemente produzem deformações e alterações na morfologia das partículas. A microscopia crioeletrônica utiliza amostras de vírus rapidamente congeladas em gelo vítreo; as características estruturais finas são preservadas e evita-se o uso de corantes negativos. Podem-se obter informações sobre a estrutura tridimensional com o uso de procedimentos de processamento de imagens por computador. Exemplos de reconstrução de imagens de partículas virais são mostrados nos Capítulos 32 e 37.

A cristalografia de raios X pode proporcionar informações em nível de resolução atômica, em geral de 0,2 a 0,3 nm. A amostra deve ser cristalina, o que só pode ser obtido com pequenos vírus sem envelope. Todavia, é possível obter dados estruturais de alta resolução de subestruturas bem definidas preparadas a partir dos vírus mais complexos.

A economia genética exige que a estrutura de um vírus seja formada a partir de várias moléculas idênticas de uma ou de algumas proteínas. A arquitetura do vírus pode ser agrupada em três tipos, com base no arranjo das subunidades morfológicas: (1) simetria cúbica (p. ex., os adenovírus), (2) simetria helicoidal (p. ex., os ortomixovírus) e (3) estruturas complexas (p. ex., os poxvírus).

A. Simetria cúbica

Toda simetria cúbica observada em vírus de animais exhibe o padrão icosaédrico, que constitui o arranjo mais eficaz para subunidades dentro de um envelope fechado. O icosaedro tem 20 faces (cada qual representada por um triângulo equilátero), 12 vértices, e eixos duplos, triplos e quádruplos de simetria rotacional. As unidades do vértice possuem cinco vizinhos (pentavalentes), enquanto as outras têm seis (hexavalentes).

Existem exatamente 60 subunidades idênticas na superfície de um icosaedro. Para a construção de uma partícula de tamanho adequado para envolver os genomas virais em um capsídeo, os envelopes virais são constituídos de múltiplos de 60 unidades estruturais. O uso de números maiores de subunidades proteicas quimicamente idênticas, mantendo-se as regras da simetria icosaédrica, é obtido por subtriangulação de cada face do icosaedro.

A maioria dos vírus que apresentam simetria icosaédrica não tem forma icosaédrica; na verdade, o aspecto físico da partícula é esférico.

O ácido nucleico viral é condensado no interior das partículas isométricas; as proteínas do cerne codificadas pelo vírus — ou, no caso dos poliomavírus e dos papilomavírus, as histonas celulares — são envolvidas na condensação do ácido nucleico, em uma forma apropriada para empacotamento. As “sequências de empacotamento” no ácido nucleico viral estão envolvidas no acondicionamento em partículas virais. Existem restrições de tamanho das moléculas de ácido nucleico que podem ser empacotadas em determinado capsídeo icosaédrico. Os capsídeos icosaédricos são formados independentemente do ácido nucleico. A maioria das preparações de vírus isométricos contêm algumas partículas “vazias” destituídas de ácido nucleico viral. A expressão de proteínas de capsídeo a partir de genes clonados com frequência resulta em autoempacotamento e formação de “partículas semelhantes a vírus” vazias. Tanto os vírus de DNA quanto os de RNA apresentam exemplos de simetria cúbica.

B. Simetria helicoidal

Nos casos de simetria helicoidal, as subunidades proteicas estão ligadas de forma periódica ao ácido nucleico viral, girando até formar uma hélice. Em seguida, o complexo proteína-ácido nucleico viral filamentoso (nucleocapsídeo) é enrolado no interior de um envelope que contém lipídeo. Assim, diferentemente das estruturas icosaédricas, existe uma interação regular e periódica entre a proteína do capsídeo e o ácido nucleico nos vírus com simetria helicoidal. Não é possível haver a formação de partículas helicoidais “vazias”.

Todos os exemplos conhecidos de vírus de animais com simetria helicoidal contêm genomas de RNA e, à exceção dos rabdovírus, exibem nucleocapsídeos flexíveis que se enrolam em uma bola no interior do envelope (Figs. 29.1B, 29.2 e 42.1).

C. Estruturas complexas

Algumas partículas virais não exibem simetria cúbica ou helicoidal simples, porém apresentam uma estrutura mais complicada. Por exemplo, os poxvírus têm a forma de um tijolo com cristas na superfície externa, e cerne e corpúsculos laterais no interior (Figs. 29.2 e 34.1).

Medida do tamanho dos vírus

O pequeno tamanho e a capacidade de atravessar filtros que retêm bactérias são atributos clássicos dos vírus. Entretanto, como algumas bactérias podem ser menores que os vírus de maior tamanho, a capacidade de filtração não é mais considerada uma característica peculiar dos vírus.

A observação direta ao microscópio eletrônico é o método mais usado para se estimar o tamanho da partícula viral. Os vírus podem ser visualizados em preparações de extratos teciduais e em cortes ultrafinos de células infectadas. Outro método que pode ser utilizado é a sedimentação em ultracentrífuga. A relação entre o tamanho e a forma de uma partícula e sua velocidade de sedimentação permite que se determine o tamanho da partícula.

A. Medidas comparativas

Os vírus apresentam uma faixa de diâmetro entre 20 nm e 300 nm (Quadro 29.1). Para fins de referência, convém lembrar os seguintes dados: (1) o *Staphylococcus* possui um diâmetro de cerca de 1.000 nm (1 μm), (2) os vírus bacterianos (bacteriófagos) variam de tamanho (10 a 100 nm). Alguns são esféricos ou

hexagonais, e apresentam cauda longa ou curta, (3) as moléculas proteicas representativas têm diâmetro que varia desde o da albumina sérica (5 nm) e o da globulina (7 nm) até o de certas hemocianinas (23 nm), (4) os ribossomos apresentam uma faixa de 25 a 30 nm, enquanto as mitocôndrias são muito maiores (1 a 10 μm), (5) as hemácias têm diâmetro de 6 a 8 μm , (6) A largura de um fio de cabelo humano é de cerca de 100 μm .

A Figura 29.2 mostra os tamanhos relativos e a morfologia de várias famílias de vírus. As partículas com diferença de diâmetro de duas vezes apresentam uma diferença de volume de oito vezes. Então, a massa de um poxvírus é cerca de 1.000 vezes maior do que a da partícula do poliovírus, enquanto a massa de uma pequena bactéria é 50.000 vezes maior.

COMPOSIÇÃO QUÍMICA DOS VÍRUS

Proteína viral

As proteínas estruturais dos vírus desempenham várias funções importantes. O principal objetivo é facilitar a transferência do ácido nucleico viral de uma célula hospedeira para outra. Servem para proteger o genoma viral contra a inativação por nucleases; além disso, participam na fixação da partícula viral a uma célula suscetível e são responsáveis pela simetria estrutural da partícula viral.

As proteínas determinam as características antigênicas do vírus. A resposta imunológica protetora do hospedeiro é dirigida contra determinantes antigênicos das proteínas ou glicoproteínas expostas na superfície da partícula viral. Algumas proteínas de superfície também podem exibir atividades específicas, como, por exemplo, a hemaglutinina do vírus *influenza*, que aglutina eritrócitos.

Alguns vírus transportam enzimas (que são proteínas) no interior dos virions. As enzimas estão presentes em quantidades muito pequenas, e provavelmente não são importantes na estrutura das partículas virais. Entretanto, são essenciais para a iniciação do ciclo de replicação viral quando o virion penetra em uma célula hospedeira. São exemplos a RNA polimerase transportada por vírus com genomas de RNA de sentido negativo (p. ex., ortomixovírus, rabdovírus), necessária para copiar os primeiros RNAm, e a transcriptase reversa, uma enzima de retrovírus que efetua uma cópia do DNA a partir do RNA viral, etapa essencial no processo de replicação e transformação. No outro extremo encontram-se os poxvírus, cujos cernes contêm um sistema de transcrição; existem muitas enzimas diferentes acondicionadas nas partículas dos poxvírus.

Ácido nucleico viral

Os vírus contêm um único tipo de ácido nucleico, DNA ou RNA, que codifica a informação genética necessária à sua replicação. O genoma pode consistir em fita simples ou dupla, circular ou linear, e segmentada ou não segmentada. O tipo de ácido nucleico, a natureza de suas fitas e seu peso constituem as principais características utilizadas para classificação dos vírus em famílias (Quadro 29.1).

O tamanho do genoma do DNA viral varia de 3,2 kbp (hepadnavírus) a 375 kbp (poxvírus). O tamanho do genoma do RNA viral varia de cerca de 4 kb (picobirnavírus) a 32 kb (coronavírus).

Todos os principais grupos de vírus de DNA apresentados no Quadro 29.1 exibem genomas que consistem em moléculas simples de DNA de configuração linear ou circular.

Existem várias formas de RNA viral. O RNA pode consistir de uma única molécula linear (p. ex., picornavírus). Em outros vírus (p. ex., ortomixovírus), o genoma consiste em vários segmentos de RNA que podem estar frouxamente associados no interior do virion. O RNA isolado de vírus com genomas de polaridade positiva (*i. e.*, picornavírus, togavírus) é infeccioso, e a molécula funciona como RNAm no interior da célula infectada. O RNA isolado de vírus do RNA de polaridade negativa, como os rabdovírus e os ortomixovírus, não é infeccioso. Para essas famílias de vírus, os virions transportam uma RNA polimerase que, no interior da célula, transcreve as moléculas de RNA do genoma em várias moléculas complementares de RNA, e cada uma delas pode atuar como RNAm.

A sequência e a composição dos nucleotídeos de cada ácido nucleico viral são distintas. Foi estabelecida a sequência de muitos genomas virais. As sequências podem revelar relações genéticas entre vírus isolados, inclusive relações inesperadas entre vírus que não se acreditava serem estreitamente relacionados. O número de genes em um vírus pode ser estimado a partir das estruturas de leitura abertas deduzidas da sequência de ácido nucleico.

Os ensaios de reação em cadeia da polimerase e as técnicas de hibridização molecular (DNA em DNA, DNA em RNA ou RNA em RNA) permitem o estudo da transcrição do genoma viral no interior das células infectadas, bem como a comparação da relação existente entre diferentes vírus. O ácido nucleico viral pode ser caracterizado pelo seu conteúdo de G + C. Os genomas virais do DNA podem ser analisados e comparados mediante o uso de endonucleases de restrição — enzimas que clivam o DNA em sequências específicas de nucleotídeos. Cada genoma irá produzir um padrão característico de fragmentos de DNA após clivagem por determinada enzima. Com a utilização de cópias de RNA de DNA molecularmente clonados, podem ser obtidos também mapas de restrição para genomas de vírus do RNA.

Envelopes de lipídeos dos vírus

Diversos vírus diferentes contêm envelopes de lipídeos como parte de sua estrutura. O lipídeo é adquirido quando o nucleocapsídeo viral brota através de uma membrana celular durante o processo de maturação. O brotamento só ocorre em locais em que foram inseridas proteínas específicas do vírus na membrana da célula do hospedeiro. O processo de brotamento varia acentuadamente, dependendo da estratégia de replicação do vírus e da estrutura do nucleocapsídeo. O brotamento em vírus *influenza* está ilustrado na Figura 29.3.

A composição específica de fosfolipídeos de um envelope de virion é determinada pelo tipo específico de membrana celular envolvida no processo de brotamento. Por exemplo, os herpes-vírus brotam através da membrana nuclear da célula do hospedeiro, de modo que a composição de fosfolipídeos do vírus purificado reflete os lipídeos da membrana nuclear. A aquisição de uma membrana contendo lipídeos constitui uma etapa integral na morfogênese do virion de alguns grupos de vírus (ver Replicação dos vírus, adiante).

Existem sempre proteínas glicosiladas virais que fazem protrusão a partir do envelope, ficando expostas na superfície da partícula viral. Há também proteínas não glicosiladas de origem viral sob o envelope que ancoram a partícula.

Os vírus que contêm lipídeos são sensíveis ao tratamento com éter e outros solventes orgânicos (Quadro 29.1), indicando que a ruptura ou a perda dos lipídeos resultam em perda da

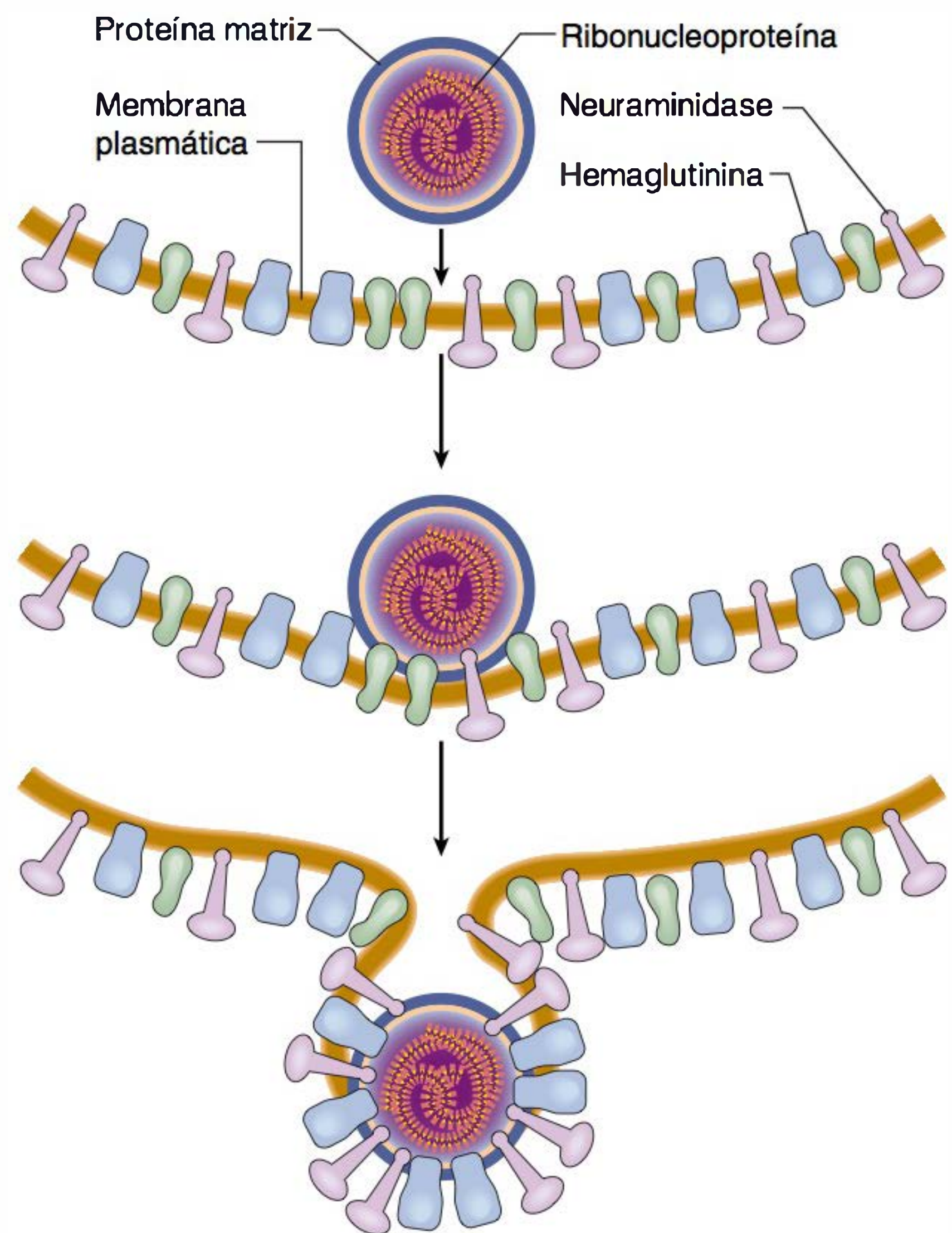


FIGURA 29.3 Liberação do vírus *influenza* por brotamento na membrana plasmática. Primeiro, as proteínas do envelope viral (hemaglutinina e neuraminidase) são inseridas na membrana plasmática da célula hospedeira. Em seguida, o nucleocapsídeo aproxima-se da superfície externa da membrana e liga-se a ela. Ao mesmo tempo, as proteínas virais aproximam-se do local e as proteínas de membrana da célula hospedeira são excluídas. Ao final, a membrana plasmática sofre brotamento para formar simultaneamente o envelope viral e liberar o virion maduro. (Reproduzida, com autorização, de Willey JM, Sherwood LM, Woolverton CJ: *Prescott, Harley, and Klein's Microbiology*, 7th ed., McGraw-Hill, 2008. © The McGraw-Hill Companies, Inc.)

infecciosidade. Em geral, os vírus que não contêm lipídeos são resistentes ao éter.

Glicoproteínas virais

Os envelopes dos vírus contêm glicoproteínas. Diferentemente dos lipídeos das membranas virais, que derivam da célula do hospedeiro, as glicoproteínas do envelope são codificadas pelo vírus. Entretanto, os açúcares adicionados às glicoproteínas virais com frequência refletem a natureza da célula hospedeira na qual o vírus se desenvolve.

As glicoproteínas de superfície de um vírus com envelope são as que fixam a partícula viral a uma célula-alvo mediante sua interação com um receptor celular. Com frequência, as glicoproteínas também são envolvidas na etapa da infecção em que ocorre a fusão da membrana. As glicoproteínas também são importantes antígenos virais. Em virtude de sua localização na superfície externa do virion, estão frequentemente envolvidas na interação da partícula viral com o anticorpo neutralizante. A extensiva glicosilação das proteínas de superfície virais pode prevenir a neutralização efetiva de uma partícula viral por um

anticorpo específico. As estruturas tridimensionais das regiões externas expostas das glicoproteínas da membrana do vírus *influenza* (hemaglutinina, neuraminidase) foram determinadas por cristalografia de raios X (ver Fig. 39.2). Esses estudos proporcionam uma melhor compreensão da estrutura antigênica e das atividades funcionais das glicoproteínas virais.

CULTURA E ENSAIO DOS VÍRUS

Cultura dos vírus

Muitos vírus podem crescer em culturas de células ou em ovos férteis em condições estritamente controladas. O crescimento dos vírus em animais ainda é utilizado no isolamento primário de determinados vírus e para o estudo da patogênese das doenças virais e da oncogênese viral. Os laboratórios de diagnóstico tentam isolar vírus de amostras clínicas para estabelecer as causas das doenças (ver Cap. 47). Os laboratórios de pesquisa cultivam o vírus visando as análises detalhadas da expressão e replicação dos vírus.

O crescimento celular *in vitro* é central para a cultura e caracterização dos vírus. Existem três tipos básicos de cultura celular. As culturas primárias são efetuadas com células dispersas

(geralmente com tripsina) derivadas de tecidos removidos do hospedeiro. Em geral, são incapazes de crescer durante mais de algumas passagens. As linhagens de células diploides são culturas secundárias que sofreram alteração, permitindo uma cultura limitada (até 50 passagens), mas que retêm seu padrão cromossômico normal. As linhagens celulares contínuas são culturas capazes de crescimento mais prolongado — e talvez indefinido — provenientes de linhagens de células diploides ou de tecidos malignos. De forma invariável, apresentam números alterados ou irregulares de cromossomos. O tipo de cultura celular utilizado para cultura de vírus depende da sensibilidade das células a determinado vírus.

A. Detecção de células infectadas por vírus

A multiplicação de um vírus pode ser monitorada de diversas maneiras:

1. Desenvolvimento de efeitos citopáticos, isto é, alterações morfológicas nas células. Os tipos de efeitos citopáticos induzidos por vírus incluem lise ou necrose celular, formação de inclusões, formação de células gigantes e vacuolização citoplasmática (Fig. 29.4A, B e C). A maioria dos vírus tem algum efeito citopático óbvio nas células infectadas.

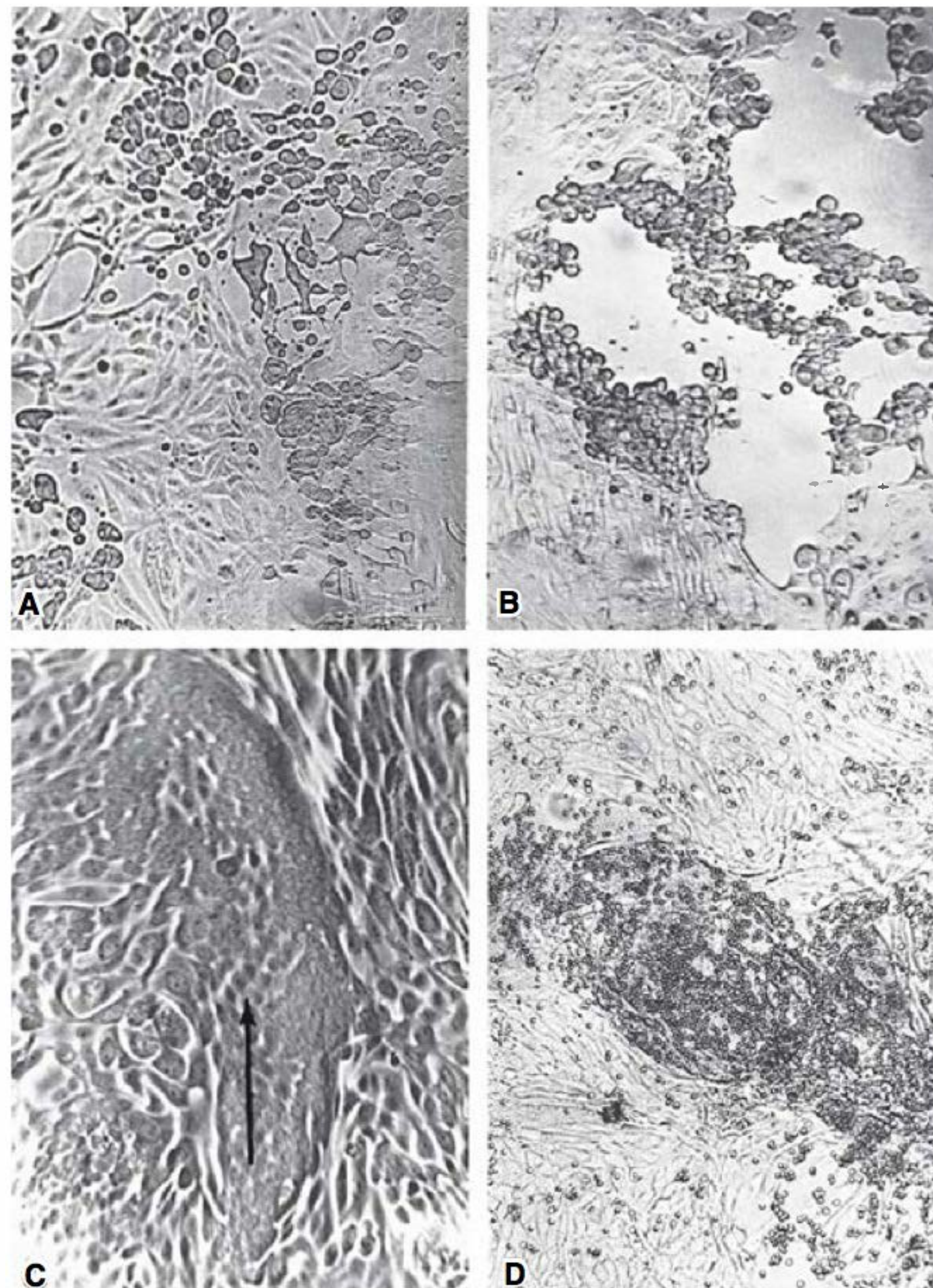


FIGURA 29.4 Efeitos citopáticos produzidos em monocamadas de células cultivadas por diferentes vírus. As culturas são mostradas como normalmente seriam visualizadas no laboratório, sem fixador nem corante (ampliada 60 vezes). (A) Enterovírus — rápido arredondamento das células, progredindo para a destruição celular completa. (B) Herpes-vírus — áreas focais de células arredondadas e intumescidas. (C) Paramixovírus — áreas focais de células fundidas (sincícios). (D) Hemadsorção. Os eritrócitos aderem a células na monocamada infectada por um vírus que induz a incorporação de uma hemaglutinina na membrana plasmática. Muitos vírus com envelope que amadurecem por brotamento, a partir de membranas citoplasmáticas, produzem hemadsorção. (Reproduzida, com autorização, de I Jack.)

2. Aparecimento de uma proteína codificada pelo vírus, como a hemaglutinina do vírus *influenza*. Podem-se utilizar antissoros específicos para detectar a síntese das proteínas virais nas células infectadas.
3. Detecção de ácidos nucleicos específicos de vírus. Ensaio moleculares, tais como a reação em cadeia da polimerase, proporcionam métodos de detecção rápidos, sensíveis e específicos.
4. Adsorção de eritrócitos às células infectadas, denominada hemadsorção, devido à presença de hemaglutinina codificada pelo vírus (*parainfluenza*, *influenza*) nas membranas celulares. Essa reação torna-se positiva antes de as alterações citopáticas serem visíveis e, em alguns casos, ocorre na ausência de efeitos citopáticos (Fig. 29.4D).
5. O crescimento do vírus em ovo de galinha embrionado pode resultar em morte do embrião (p. ex., vírus da encefalite), produção de pústulas ou placas na membrana corioalantoide (p. ex., herpes, varíola, vacínia), ou desenvolvimento de hemaglutininas nos líquidos ou tecidos embrionários (p. ex., *influenza*).

B. Formação de corpúsculos de inclusão

Durante a multiplicação dos vírus no interior das células, pode-se verificar a presença de estruturas específicas do vírus, denominadas corpúsculos de inclusão, que se tornam muito maiores do que cada partícula viral e com frequência exibem afinidade por corantes ácidos (p. ex., eosina), podendo localizar-se no núcleo (herpes-vírus; ver Fig. 33.3), no citoplasma (poxvírus) ou em ambos (vírus do sarampo; ver Fig. 40.5). Em muitas infecções virais os corpúsculos de inclusão são locais de desenvolvimento de virions (as fábricas virais). As variações no aspecto do material de inclusão dependem, em grande parte, do fixador tecidual empregado.

A presença de corpúsculos de inclusão pode ser de considerável ajuda para o estabelecimento do diagnóstico. A inclusão intracitoplasmática observada em células nervosas — denominada corpúsculo de Negri — é patognomônica da raiva.

Quantificação dos vírus

A. Métodos físicos

Os testes quantitativos baseados em ácidos nucleicos, como a reação em cadeia da polimerase (PCR), podem determinar o número de cópias do genoma viral em uma amostra. Os genomas infecciosos e os não infecciosos são detectados. A variação da sequência viral pode reduzir a detecção viral e a quantificação por esses métodos.

Diversos testes sorológicos, como os radioimunoensaios e os ensaios imunoenzimáticos (ver Cap. 47), podem ser padronizados para quantificar o número de partículas virais em uma amostra. Esses testes não distinguem as partículas infecciosas das não infecciosas e algumas vezes detectam proteínas virais não reunidas nas partículas.

Certos vírus contêm uma proteína (hemaglutinina) que tem a capacidade de aglutinar os eritrócitos dos seres humanos ou de alguns animais. Os ensaios de hemaglutinação constituem um método fácil e rápido para quantificação desses tipos de vírus (ver Cap. 47). As partículas tanto infecciosas quanto não infecciosas apresentam essa reação, de modo que a hemaglutinação mede a quantidade total de vírus presentes.

As partículas virais podem ser contadas diretamente em microscopia eletrônica para comparação com uma suspensão-padrão de partículas de látex de tamanho similar. Entretanto, para esse procedimento é necessária uma preparação relativamente concentrada de vírus, e as partículas virais infecciosas não podem ser distinguidas das não infecciosas.

B. Métodos biológicos

Os ensaios biológicos com parâmetros de avaliação final dependem da morte e da infecção do animal, ou dos efeitos citopáticos em cultura de tecido em uma série de diluições do vírus que está sendo testado. O título é expresso como 50% da dose infecciosa (DI_{50}), recíproca da diluição do vírus que produz o efeito em 50% das células ou animais inoculados. Os ensaios precisos exigem o uso de grande número de testes.

O ensaio mais amplamente utilizado na pesquisa de vírus infecciosos é o ensaio em placa, porém somente pode ser usado para vírus que seja replicado em cultura de tecidos. Monocamadas de células hospedeiras são inoculadas com diluições apropriadas do vírus e, após adsorção, são recobertas com meio contendo ágar ou carboximetilcelulose, a fim de evitar a propagação do vírus pela cultura. Depois de alguns dias, as células inicialmente infectadas produzem vírus que só se propagam para as células circundantes. Vários ciclos de replicação e a morte celular produzem uma pequena área de infecção ou placa. O intervalo de tempo desde a infecção até o momento em que as placas possam ser visualizadas para contagem depende do ciclo de replicação viral, que pode variar de alguns dias (p. ex., poliovírus) a 2 semanas ou mais (p. ex., SV40). Em condições controladas, uma placa isolada pode originar-se de uma única partícula viral infecciosa, denominada unidade formadora de placa. O efeito citopático das células infectadas no interior da placa pode ser distinguido das células não infectadas da monocamada com ou sem coloração apropriada, e as placas em geral podem ser contadas macroscopicamente. A relação entre o número de partículas infecciosas e o número total de partículas varia amplamente, desde quase a unidade até menos de 1 por 1.000, mas com frequência pode ser de uma para alguns milhares. Há testes mais rápidos baseados na determinação do número de células infectadas produtoras de partículas virais, que são detectadas por técnicas de imunofluorescência*.

Alguns vírus (p. ex., o herpes-vírus e o vírus da vacínia) formam pústulas quando inoculados na membrana corioalantoide de um ovo embrionado. Esses vírus podem ser quantificados ao se relacionar o número de pústulas contadas com a diluição do vírus inoculado.

PURIFICAÇÃO E IDENTIFICAÇÃO DOS VÍRUS

Purificação das partículas virais

É necessário dispor de vírus purificados para efetuar certos tipos de estudo sobre as propriedades e a biologia molecular do agente. Para estudos de purificação, o material inicial consiste,

* N. de R.T. O cultivo viral por técnica de *shell vial* consiste na centrifugação do material, contendo as partículas virais sobre as células permissivas ao vírus a ser pesquisado (fibroblastos humanos), para acelerar a entrada dos mesmos nas células e encurtar o tempo do ciclo viral. A etapa seguinte consiste na revelação de proteínas virais pelo emprego de anticorpos monoclonais marcados, dirigidos contra essas proteínas e que se expressam muito tempo antes do estabelecimento de efeitos citopáticos.

em geral, em grandes volumes de meio de cultura de tecido, líquidos orgânicos ou células infectadas. Com frequência, a primeira etapa envolve a concentração das partículas virais por precipitação com sulfato de amônio, etanol ou polietilenoglicol, ou por ultrafiltração. A hemaglutinação e a eluição podem ser utilizadas para concentrar os ortomixovírus (ver Cap. 39). Uma vez concentrados, os vírus podem ser então separados dos materiais do hospedeiro por meio de centrifugação diferencial, centrifugação com gradiente de densidade, cromatografia em coluna e eletroforese.

Em geral, é necessária mais de uma etapa para se obter uma purificação adequada. A purificação preliminar remove a maior parte do material não viral. Essa primeira etapa pode incluir centrifugação; a etapa final de purificação quase sempre envolve centrifugação com gradiente de densidade. Na centrifugação zonal, coloca-se uma amostra de vírus concentrado em um gradiente de densidade linear pré-formado de sacarose ou glicerol, e durante a centrifugação, o vírus sedimenta-se em forma de banda, a uma velocidade determinada principalmente pelo tamanho e pelo peso da partícula viral.

Os vírus também podem ser purificados por centrifugação em alta velocidade, em gradientes de densidade de cloreto de cério, tartarato de potássio, citrato de potássio ou sacarose. O material de escolha para o gradiente deve ser o menos tóxico para o vírus. As partículas virais migram para uma posição de equilíbrio, em que a densidade da solução é igual à sua densidade de flutuação, formando uma banda visível.

Outros métodos de purificação baseiam-se nas propriedades químicas da superfície do vírus. Na cromatografia em coluna, o vírus liga-se a uma substância, como o dietilaminoetil ou a fosfocelulose, e, em seguida, sofre eluição por alterações no pH e na concentração de sal. A eletroforese zonal permite a separação das partículas virais de contaminantes com base na carga elétrica. Além disso, podem-se utilizar antissoros específicos para remover partículas virais do material do hospedeiro.

É mais fácil purificar os vírus icosaédricos do que os vírus com envelope. Como os últimos em geral contêm quantidades variáveis de envelope por partícula, a população viral é heterogênea tanto no seu tamanho quanto na sua densidade.

É muito difícil obter a purificação completa dos vírus. Pequenas quantidades de material celular tendem a sofrer adsorção às partículas com a conseqüente copurificação. Os critérios mínimos de pureza consistem no aspecto homogêneo em micrografias eletrônicas e na impossibilidade de outros métodos de purificação de remover “contaminantes” sem reduzir a infecciosidade.

Identificação de uma partícula como vírus

Uma vez obtida uma partícula física típica, ela deve preencher os seguintes critérios para que seja identificada como partícula viral:

1. A partícula só pode ser obtida de células ou tecidos infectados.
2. As partículas obtidas de várias fontes são idênticas independentemente da origem celular em que o vírus está crescendo.
3. As partículas contêm ácido nucleico (DNA ou RNA), e a sequência não é a mesma das espécies das células do hospedeiro de onde as partículas foram obtidas.
4. O grau de atividade infecciosa da preparação varia diretamente com o número de partículas presentes.

5. A destruição da partícula física por meios químicos ou físicos está associada a perda da atividade viral.
6. É necessário demonstrar que certas propriedades das partículas e da infecciosidade são idênticas, como, por exemplo, o seu comportamento de sedimentação na ultracentrífuga e suas curvas de estabilidade em pH.
7. Os antissoros preparados contra o vírus infeccioso devem reagir com a partícula característica e vice-versa. A observação direta de um vírus desconhecido deve ser efetuada por exame ao microscópio eletrônico da formação de agregado em uma mistura de antissoros e suspensão viral não purificada.
8. As partículas devem ser capazes de induzir a doença característica *in vivo* (se tal experimento for possível).
9. A passagem das partículas em cultura de tecido deve resultar na produção de uma progênie com propriedades biológicas e antigênicas do vírus.

SEGURANÇA NO LABORATÓRIO

Muitos vírus são patógenos humanos; por conseguinte, podem ocorrer infecções adquiridas em laboratório. Com frequência, os procedimentos laboratoriais são potencialmente perigosos se não forem adotadas técnicas apropriadas. Entre os riscos comuns que podem expor a equipe do laboratório ao risco de infecção destacam-se os seguintes: (1) aerossóis — produzidos com a homogeneização de tecidos infectados, centrifugação, vibração ultrassônica ou vidraria quebrada; (2) ingestão — ao pipetar-se a amostra com a boca, alimentar-se ou fumar no laboratório ou lavar de modo inadequado as mãos; (3) penetração através da pele — por picadas de agulha, vidraria quebrada, contaminação das mãos por recipientes que vazam, manipulação de tecidos infectados ou picadas de animais; e (4) salpicos nos olhos.

As boas práticas de biossegurança consistem em: (1) treinamento e uso de técnicas assépticas; (2) proibição de pipetar com a boca; (3) proibição de alimentar-se, ingerir líquidos ou fumar no laboratório; (4) uso de equipamento protetor (p. ex., roupas, luvas e máscaras), que não deve ser utilizado fora do laboratório; (5) esterilização de restos de material experimental; (6) uso de cabines de biossegurança; e (7) imunização, se houver vacinas disponíveis. Outras preparações e dispositivos especiais de segurança (nível de biossegurança 4) tornam-se necessários quando os profissionais estão trabalhando com agentes de alto risco, como os filovírus (ver Cap. 38) e o vírus da raiva.

REAÇÃO A AGENTES FÍSICOS E QUÍMICOS

Calor e frio

Os diferentes vírus exibem grande variabilidade na sua termoestabilidade. Os vírus icosaédricos tendem a ser estáveis, com pouca perda da infecciosidade depois de algumas horas a 37°C. Os vírus com envelope são muito mais termolábeis, com rápida queda dos títulos a 37°C. Em geral, a infecciosidade do vírus é destruída por aquecimento a 50 a 60°C durante 30 minutos, embora existam algumas exceções notáveis (p. ex., vírus da hepatite B, poliomavírus).

Os vírus podem ser preservados por armazenamento a temperaturas de subcongelamento, e alguns podem resistir à liofilização, podendo ser preservados no estado seco a 4°C ou

mesmo à temperatura ambiente. Os vírus que resistem à liofilização são mais termorresistentes quando aquecidos no estado seco. Os vírus com envelope tendem a perder a infecciosidade após armazenamento prolongado mesmo a 90°C, mostrando-se, desse modo, particularmente sensíveis ao congelamento e descongelamento repetidos.

Estabilização dos vírus por sais

Muitos vírus podem ser estabilizados por sais em concentrações de 1 mol/L, isto é, os vírus não são inativados nem mesmo por aquecimento a 50°C durante 1 hora. Desconhece-se o mecanismo pelo qual os sais estabilizam as preparações virais. Os vírus são preferencialmente estabilizados por determinados sais. O $MgCl_2$, 1 mol/L, estabiliza os picornavírus e os reovírus; o $MgSO_4$, 1 mol/L, estabiliza os ortomixovírus e os paramixovírus; e o Na_2SO_4 , 1 mol/L, estabiliza os herpes-vírus.

A estabilidade dos vírus é importante na preparação das vacinas. A vacina antipólio oral comum não estabilizada deve ser conservada a temperaturas de congelamento para se preservar a sua potência. Todavia, com o acréscimo de sais para a estabilização do vírus, a potência pode ser mantida durante semanas à temperatura ambiente, mesmo às altas temperaturas dos trópicos.

pH

Em geral, os vírus são estáveis entre valores de pH de 5,0 a 9,0. Alguns vírus (p. ex., enterovírus) mostram-se resistentes a condições ácidas. Todos os vírus são destruídos por condições alcalinas. Nas reações de hemaglutinação, variações inferiores a 1 unidade de pH podem influir no resultado.

Radiação

A luz UV, os raios X e as partículas de alta energia inativam os vírus. A dose varia de acordo com os diferentes vírus. A infecciosidade constitui a propriedade mais sensível à radiação, visto que a replicação requer a expressão de todo o conteúdo genético. As partículas irradiadas incapazes de sofrer replicação ainda podem ter a capacidade de expressar algumas funções específicas nas células do hospedeiro.

Suscetibilidade ao éter

Pode-se utilizar a suscetibilidade ao éter para distinguir os vírus que têm envelope daqueles que não o possuem. A sensibilidade de diferentes grupos de vírus ao éter é apresentada no Quadro 29.1.

Detergentes

Os detergentes não iônicos — como, por exemplo, Nonidet P40 e Triton X-100 — solubilizam os componentes lipídicos das membranas virais. As proteínas virais do envelope são liberadas (não desnaturadas). Os detergentes aniônicos — como, por exemplo, o dodecil sulfato de sódio — também solubilizam o envelope viral; além disso, rompem os capsídeos em polipeptídeos distintos.

Formaldeído

O formaldeído destrói a infecciosidade viral ao reagir com o ácido nucleico. Os vírus com genomas de fita simples são

inativados muito mais rapidamente do que os que apresentam genomas de fita dupla. O formaldeído exerce efeitos adversos mínimos sobre a antigenicidade das proteínas, e por isso tem sido utilizado com frequência na produção de vacinas com vírus inativados.

Inativação fotodinâmica

Os vírus deixam-se penetrar em graus variáveis por corantes vitais, como o azul de toluidina, vermelho neutro e proflavina. Esses corantes ligam-se ao ácido nucleico viral, de modo que o vírus se torna suscetível à inativação pela luz visível. O vermelho-neutro costuma ser utilizado para corar ensaios de placa, de modo que as placas possam ser mais facilmente visualizadas. Adicionado o vermelho-neutro, as placas do ensaio devem ser protegidas da luz brilhante; caso contrário, existe o risco de a progênie viral ser inativada, com a interrupção do desenvolvimento da placa.

Antibióticos e outros antibacterianos

Os antibióticos antibacterianos e as sulfonamidas não exercem efeito algum sobre os vírus. Entretanto, alguns antivirais estão disponíveis (ver Cap. 30).

Em geral, os compostos de amônio quaternário não são eficazes contra os vírus. Os compostos de iodo orgânico também são ineficazes. São necessárias concentrações maiores de cloro para destruir os vírus do que para matar as bactérias, sobretudo na presença de proteínas estranhas. Por exemplo, o tratamento das fezes com cloro, adequado para inativar os bacilos da febre tifoide, mostra-se inadequado para destruir os vírus da poliomielite presentes nas fezes. Os alcoóis, como o isopropanol e o etanol, são relativamente ineficazes contra determinados vírus, em particular os picornavírus.

Métodos comuns de inativação dos vírus para várias finalidades

Os vírus podem ser inativados por várias razões: para esterilizar materiais de laboratório e equipamentos, desinfetar superfícies ou a pele, tornar a água potável segura e produzir vacinas com vírus inativados. São utilizados diferentes métodos e substâncias químicas para essas finalidades.

A esterilização pode ser alcançada por meio de vapor sob pressão, calor seco, óxido de etileno e irradiação gama (γ). A desinfecção de superfícies inclui o emprego de hipoclorito de sódio, glutaraldeído, formaldeído e ácido peracético. Entre os desinfetantes da pele incluem-se a clorexidina, o etanol a 70% e os iodóforos. A produção de vacinas pode envolver o uso de formaldeído, β -propiolactona, psoraleno mais irradiação UV ou detergentes (vacinas de subunidades) para inativar os vírus vacinais.

REPLICAÇÃO DOS VÍRUS: UM RESUMO

Os vírus só se multiplicam em células vivas. A célula hospedeira deve fornecer a energia e o mecanismo de síntese, bem como os precursores de baixo peso molecular para síntese das proteínas e dos ácidos nucleicos virais. O ácido nucleico viral transporta a especificidade genética para codificar todas as

macromoléculas específicas do vírus de uma forma altamente organizada.

Para que ocorra a replicação do vírus, é necessária a síntese das proteínas virais pelo mecanismo de síntese proteica da célula hospedeira. Por conseguinte, o genoma do vírus deve ser capaz de produzir um RNAm. Foram identificados vários mecanismos que permitem aos RNA virais competir de forma bem-sucedida com os RNAm celulares, a fim de produzir quantidades adequadas de proteínas virais.

A característica da multiplicação viral é que, logo após a interação com a célula hospedeira, o virion infectante se rompe e perde sua infecciosidade detectável. Essa fase do ciclo de crescimento é denominada **período de eclipse**, cuja duração varia de acordo com o vírus e a célula hospedeira, sendo seguida de um intervalo de rápido acúmulo de uma progênie infectante de partículas virais. Na verdade, o período de eclipse é de intensa atividade de síntese, visto que a célula é redirecionada para suprir as necessidades do “pirata” viral. Em alguns casos, assim que o ácido nucleico viral penetra na célula hospedeira, o metabolismo celular é redirecionado exclusivamente para a síntese de novas partículas virais, com a subsequente destruição da célula. Em outros casos, os processos metabólicos da célula hospedeira não são significativamente alterados, apesar de a célula sintetizar proteínas e ácidos nucleicos virais, não ocorrendo a morte da célula.

Após a síntese do ácido nucleico e das proteínas virais, os componentes organizam-se para formar novos virions infecciosos. A produção de vírus infecciosos por célula varia amplamente: desde números moderados a mais de 100.000 partículas. A duração do ciclo de replicação do vírus também varia amplamente: desde 6 a 8 horas (picornavírus) até mais de 40 horas (alguns herpes-vírus).

Nem todas as infecções resultam em nova progênie de vírus. Ocorrem infecções **produtivas** em células **permissivas**, resultando na produção de vírus infecciosos. As infecções **abortivas** não produzem progênie infecciosa, visto que a célula pode ser **não permissiva** e incapaz de sustentar a expressão de todos os genes virais, ou que o vírus infectante pode ser **defeituoso**, apresentando carência de algum gene viral funcional. Pode ocorrer infecção **latente**, com a persistência dos genomas virais, expressão de nenhum ou de alguns genes virais, e sobrevivência da célula infectada. O padrão de replicação pode variar para um determinado vírus, dependendo do tipo de célula hospedeira infectada.

Etapas gerais nos ciclos de replicação viral

Os vírus desenvolveram uma variedade de estratégias para a sua multiplicação nas células parasitadas do hospedeiro. Apesar de os detalhes variarem de um grupo para outro, o perfil geral dos ciclos de replicação é semelhante. Os ciclos de crescimento de um vírus de DNA de fita dupla e de um vírus de RNA de fita simples, de polaridade positiva, estão esquematizados na Figura 29.5. Nos próximos capítulos estão inclusos detalhes dedicados a grupos específicos de vírus.

A. Fixação, penetração e desnudamento

A primeira etapa na infecção viral consiste na **fixação** ou interação de um virion com um local receptor específico sobre a

superfície da célula. As moléculas receptoras diferem para diferentes vírus; porém, trata-se em geral de glicoproteínas. Em alguns casos, o vírus liga-se a sequências de proteína (p. ex., picornavírus) e, em outros, a oligossacarídeos (p. ex., ortomixovírus e paramixovírus). Acredita-se que a ligação ao receptor possa refletir homologias de configuração casuais entre a estrutura da superfície do virion e um componente da superfície celular. Por exemplo, o vírus da imunodeficiência humana liga-se ao receptor CD4 sobre células do sistema imunológico, os rinovírus ligam-se à molécula de adesão intracelular 1 (*intercellular adhesion molecule 1* [ICAM-1]), e o vírus Epstein-Barr reconhece o receptor CD21 nas células B. A presença ou ausência de receptores desempenham papel determinante no tropismo celular e na patogênese viral. Nem todas as células em um hospedeiro suscetível irão expressar os receptores necessários; por exemplo, o poliovírus é capaz de ligar-se apenas a células do sistema nervoso central e do trato intestinal de primatas. Cada célula suscetível pode conter até 100.000 locais receptores para determinado vírus. A etapa de fixação pode iniciar alterações estruturais irreversíveis no virion.

Após ocorrer a ligação, a partícula viral é captada no interior da célula. Essa etapa é denominada **penetração** ou engolfamento, sendo, em alguns sistemas, efetuada pelo processo de endocitose mediada por receptores, com a captação das partículas virais ingeridas no interior de endossomos. Existem também exemplos de penetração direta de partículas virais através da membrana plasmática. Em outros casos, ocorre a fusão do envelope do virion com a membrana plasmática da célula. Estes sistemas envolvem a interação de uma proteína de fusão do vírus com um segundo receptor celular ou “correceptor” (p. ex., receptores de quimiocinas para o vírus da imunodeficiência humana).

Ocorre **desnudamento** concomitantemente com a penetração, ou pouco depois desta. O desnudamento refere-se à separação física do ácido nucleico viral dos outros componentes estruturais do virion, de modo que possa funcionar. O genoma pode ser liberado em forma de ácido nucleico livre (picornavírus) ou como nucleocapsídeo (reovírus). Em geral, os nucleocapsídeos contêm polimerases. O desnudamento pode exigir a presença de pH ácido no endossomo. No estágio de desnudamento, ocorre a perda da infecciosidade do vírus original. Os vírus são os únicos agentes infecciosos em que a dissolução do agente infectante constitui uma etapa obrigatória na via de replicação.

B. Expressão de genomas virais e síntese dos componentes virais

A fase de síntese do ciclo de replicação viral ocorre após o desnudamento do genoma viral. O tema essencial na replicação viral consiste na transcrição de RNAm específicos a partir do ácido nucleico viral para a expressão e duplicação bem-sucedidas da informação genética. Uma vez concluída essa etapa, os vírus utilizam componentes celulares para a tradução do RNAm. Várias classes de vírus utilizam diferentes vias para sintetizar os RNAm, dependendo da estrutura do ácido nucleico viral. O Quadro 29.2, fornece um resumo das diversas vias de transcrição (mas não necessariamente as da replicação) dos ácidos nucleicos de diferentes classes de vírus. Alguns vírus (p. ex., rabdovírus) transportam RNA polimerases para sintetizar os RNAm. Os vírus de RNA desse tipo são denominados vírus de fita negativa (polaridade

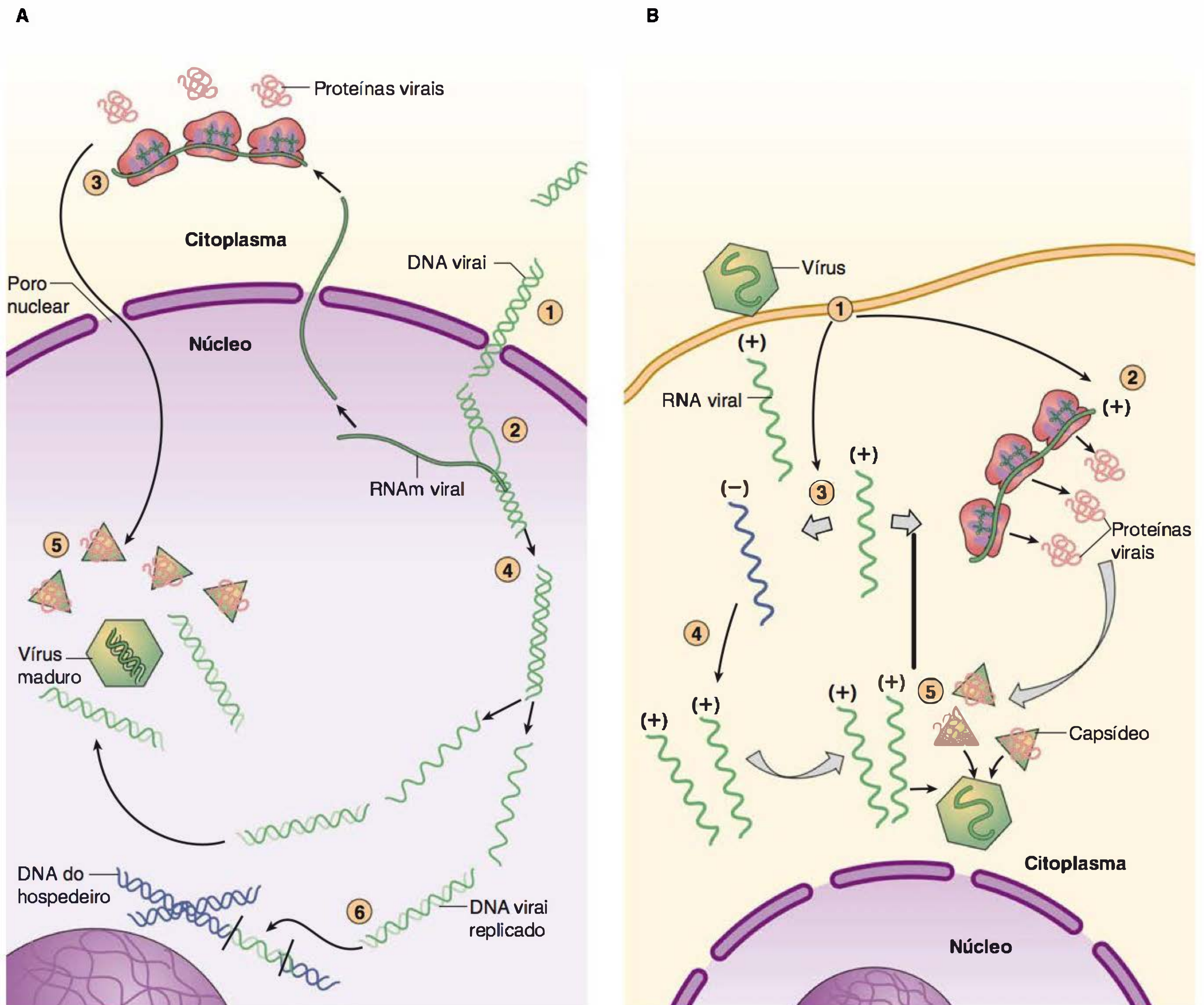


FIGURA 29.5 Exemplo do ciclo de crescimento virai. **(A)** Ciclo de crescimento de um vírus de DNA de fita dupla, sem envelope. Nesse exemplo, múltiplas etapas do ciclo de replicação ocorrem no núcleo da célula hospedeira. (1) Após penetração, o vírus é desnudado e o DNA virai é introduzido no citoplasma. (2) Os genes virais são transcritos. (3) Os RNAm são traduzidos no citoplasma e as proteínas recém sintetizadas voltam para o núcleo. (4) O DNA virai é replicado no núcleo, em alguns casos com a ajuda das proteínas virais recém-sintetizadas. (5) As proteínas virais se unem formando o capsídeo, envolvendo o DNA virai e constituindo o núcleocapsídeo. (6) Em raras ocasiões, o DNA virai pode se integrar ao DNA da célula hospedeira como consequência do processo infeccioso. **(B)** Ciclo de crescimento de um vírus de RNA de fita simples, de polaridade positiva. Nesse exemplo, todo o ciclo replicativo ocorre no citoplasma. (1) A partícula virai se adere à célula hospedeira e o RNA virai é introduzido no citoplasma. (2) Sendo de sentido positivo e de fita simples, o RNA virai é diretamente traduzido (funciona como RNAm), produzindo proteínas virais. (3) Uma cópia de RNA de sentido negativo é sintetizada, usando a fita de RNA de sentido positivo como molde. (4) Essa fita negativa é usada como molde para síntese de múltiplas cópias de RNA de fita simples de sentido positivo. (5) As moléculas de RNA de fita simples de sentido positivo são montadas com as proteínas virais, produzindo novos virions (Reproduzida, com autorização, de Talaro KP: *Foundations in Microbiology: Basic Principles*, 6th ed. McGraw-Hill, 2008. © The McGraw-Hill Companies, Inc.)

negativa), visto que o genoma de RNA de fita simples é complementar ao RNAm, convencionalmente designado de fita positiva (polaridade positiva). Os vírus de fita negativa devem dispor de sua própria RNA polimerase, visto que as células eucarióticas carecem de enzimas capazes de sintetizar o RNAm na ausência de um modelo de RNA.

Durante a replicação viral, todas as macromoléculas específicas do vírus são sintetizadas em uma sequência altamente organizada. Em algumas infecções virais, principalmente as que

envolvem vírus que contenham DNA de fita dupla, as proteínas virais iniciais são sintetizadas logo após a infecção, enquanto as proteínas tardias formam-se apenas mais tarde durante a infecção, após ocorrer síntese do DNA viral. Os genes iniciais podem ou não ser desligados quando os produtos tardios são sintetizados. Já a maior parte (senão toda a) da informação genética dos vírus contendo RNA é expressa ao mesmo tempo. Além desses controles temporais, existem também controles quantitativos, visto que nem todas as proteínas virais são

QUADRO 29.2 Vias de transcrição do ácido nucleico de várias classes de vírus

Tipo de ácido nucleico viral	Intermediários	Tipo de RNAm	Exemplo	Comentários
DNA de fd ±	Nenhum	RNAm +	A maioria dos vírus de DNA (p. ex., herpes-vírus, adenovírus)	
DNA de fs +	DNA de fd ±	RNAm +	Parvovírus	
RNA de fd ±	Nenhum	RNAm +	Reovírus	O virion contém RNA polimerase que transcreve cada segmento do RNAm
RNA de fs +	RNA de fd ±	RNAm +	Picornavírus, togavírus, flavivírus	O ácido nucleico viral é infeccioso e serve como RNAm. Quanto aos togavírus, o menor RNAm + também é formado para certas proteínas
RNAm de fs -	Nenhum	RNAm +	Rabdo vírus, paramixovírus, ortomixovírus	O ácido nucleico viral não é infeccioso; o virion contém RNA polimerase que forma RNAm + menores que o genoma. Quanto aos ortomixovírus, os RNAm + são transcritos a partir de cada segmento
RNA de fd +	DNA -, DNA ±	RNAm +	Retrovírus	O virion contém a transcriptase reversa; o RNA viral não é infeccioso, mas o DNA complementar a partir da célula transformada é

- indica fita negativa; + indica fita positiva; ± indica uma hélice contendo uma fita positiva e uma negativa; fs, fita simples; fd, fita dupla.

sintetizadas nas mesmas quantidades. As proteínas específicas do vírus ou micro-RNA podem regular a extensão da transcrição do genoma ou da tradução do RNAm viral.

Os pequenos vírus animais e os bacteriófagos são modelos adequados aos estudos da expressão gênica. Foram elucidadas as sequências totais de nucleotídeos de vários vírus, levando à descoberta de genes superpostos, em que algumas sequências no DNA são utilizadas na síntese de dois polipeptídeos diferentes pelo uso de duas estruturas distintas de leitura ou por duas moléculas de RNAm por meio da mesma estrutura de leitura, porém com diferentes fontes de início. Um sistema viral (adenovírus) revelou pela primeira vez o fenômeno de processamento do RNAm, denominado “junção” (*splicing*), pelo qual as sequências do RNAm que codificam determinada proteína são geradas a partir de sequências distintas no modelo, com a excisão das sequências interpostas não codificadas na transcrição. Recentemente, foi demonstrado que diversos vírus de DNA (herpes-vírus, e poliomavírus) codificam micro-RNAs; esses pequenos RNAs (com cerca de 22 nucleotídeos) funcionam em um novo nível de regulação gênica pós-transcricional, mediando a degradação dos RNAm-alvo ou por indução da inibição da tradução de tais RNAm.

A maior variação nas estratégias da expressão gênica é observada entre vírus que contenham RNA (Quadro 29.3). Alguns virions possuem polimerases (ortomixovírus, reovírus); certos sistemas utilizam mensagens subgenômicas, algumas geradas por junção (ortomixovírus, retrovírus); e determinados vírus sintetizam grandes precursores poliproteicos processados e clivados para formar os produtos gênicos finais (picornavírus, retrovírus). A protease viral do vírus da imunodeficiência humana é inibida por uma classe de fármacos antivirais chamados inibidores de protease.

O grau de atuação das enzimas específicas dos vírus nesses processos varia de um grupo para outro. Os vírus de DNA que se replicam no núcleo em geral utilizam DNA e RNA polimerases, bem como enzimas de processamento da célula

hospedeira. Os vírus maiores (herpes-vírus, poxvírus) são mais independentes das funções celulares que os vírus menores, razão pela qual os vírus maiores são mais suscetíveis à quimioterapia antiviral (ver Cap. 30), visto que existem mais processos específicos dos vírus à disposição como alvos para a ação farmacológica.

Os locais intracelulares em que ocorrem os diferentes eventos da replicação viral variam de um grupo para outro (Quadro 29.4). Entretanto, é possível formular algumas generalizações. A proteína viral é sintetizada no citoplasma, em polirribossomos constituídos de RNAm específico do vírus e ribossomos da célula hospedeira. Muitas proteínas virais sofrem modificações (glicosilação, acilação, clivagem, etc.). Em geral, o DNA viral é replicado no núcleo. O RNA do genoma viral costuma ser duplicado no citoplasma da célula, embora haja exceções.

C. Morfogênese e liberação

Os genomas virais recém-sintetizados e polipeptídeos do capsídeo unem-se para formar a progênie de vírus. Os capsídeos icosaédricos podem condensar-se na ausência de ácido nucleico, enquanto os nucleocapsídeos dos vírus com simetria helicoidal não podem se formar na ausência de RNA viral. Em geral, os vírus sem envelope acumulam-se em células infectadas, as quais eventualmente sofrem um processo de lise e liberação de partículas virais.

Os vírus com envelope amadurecem por um processo de brotamento. As glicoproteínas do envelope específicas do vírus são introduzidas nas membranas celulares; em seguida, os nucleocapsídeos virais brotam através da membrana nesses locais modificados e, ao fazê-lo, adquirem um envelope. Com frequência, o brotamento ocorre na membrana plasmática, embora possa envolver outras membranas da célula. Os vírus com envelope não são infecciosos até o adquirirem. Por conseguinte, a progênie de virions infecciosos tipicamente não se acumula no interior da célula infectada.

QUADRO 29.3 Comparação de estratégias de replicação de diversas famílias importantes de vírus de RNA

Característica	Agrupamento baseado no RNA genômico ^a					
	Vírus de fita positiva			Vírus de fita negativa		Vírus de fita dupla
	Picornaviridae	Togaviridae	Retroviridae	Orthomyxoviridae	Paramyxoviridae e Rhabdoviridae	Reoviridae
Estrutura do RNA do genoma	fs	fs	fs	fs	fs	fd
Polaridade do RNA genômico	Positivo	Positivo	Positivo	Negativo	Negativo	
Genoma segmentado	0	0	0 ^b	+	0	+
RNA genômico infeccioso	+	+	0	0	0	0
RNA genômico atua como mensageiro	+	+	+	0	0	0
Polimerase associada ao virion	0	0	+ ^c	+	+	+
Mensagens subgenômicas	0	+	+	+	+	+
Precursos de poliproteína	+	+	+	0	0	0

^a+, a propriedade indicada aplica-se à família viral; 0, a propriedade indicada não se aplica à família viral; fd, fita dupla; negativa, complementar ao RNA; positiva, mesma polaridade que o RNA; fs, fita simples.

^bOs retrovírus contêm um genoma diploide (duas cópias de genoma RNA não segmentado).

^cOs retrovírus contêm uma transcriptase reversa (DNA polimerase dependente de RNA).

QUADRO 29.4 Resumo dos ciclos de replicação das principais famílias de vírus

Família de vírus	Presença de envelope no virion	Localização intracelular ^a			Ciclo de multiplicação (horas) ^c
		Replicação do genoma	Formação do nucleocápsideo ^b	Maturação do virion	
Vírus de DNA					
Parvoviridae	0	N	N	N	
Polyomaviridae	0	N	N	N	48
Adenoviridae	0	N	N	N	25
Hepadnaviridae	+	N	C	M-E	
Herpesviridae	+	N	N	M	15 a 72
Poxviridae	0	C	C	C	20
Vírus de RNA					
Picornaviridae	0	C	C	C	6 a 8
Reoviridae	0	C	C	C	15
Togaviridae	+	C	C	M-P	10 a 24
Flaviviridae	+	C	C	M-E	
Retroviridae	+	N	C	M-P	
Bunyaviridae	+	C	C	M-G	24
Orthomyxoviridae	+	N	N	M-P	15 a 30
Paramyxoviridae	+	C	C	M-P	10 a 48
Rhabdoviridae	+	C	C	M-P	6 a 10

^aC, citoplasma; M, membranas; M-E, membranas do retículo endoplasmático; M-G, membranas do aparelho de Golgi, M-P, membranas plasmáticas; N, núcleo.

^bA síntese das proteínas virais sempre ocorre no citoplasma.

^cOs valores apresentados para a duração do ciclo de multiplicação são aproximados; as faixas indicam que vários membros de uma família replicam com cinéticas diferentes. Os diferentes tipos de células hospedeiras também influenciam a cinética da replicação viral.

Algumas vezes, a maturação viral é um processo ineficaz. Quantidades excessivas de componentes virais podem acumular-se e envolver-se na formação de corpúsculos de inclusão no interior da célula. Em consequência dos profundos efeitos deletérios da replicação viral, verifica-se o desenvolvimento subsequente de efeitos citopáticos celulares, ocorrendo morte da célula. Entretanto, existem casos em que a célula não é lesada pelo vírus, verificando-se a ocorrência de infecções persistentes a longo prazo (ver Cap. 30). A apoptose, um evento geneticamente programado que leva a autodestruição das células, pode ser regulada por mecanismos induzidos por vírus. Algumas infecções virais retardam a apoptose precoce, dando tempo suficiente para a produção de grande quantidade de progênie viral. Além disso, alguns vírus induzem ativamente a apoptose em estágios tardios, facilitando a propagação dos vírus para novas células.

GENÉTICA DOS VÍRUS ANIMAIS

A análise genética proporciona uma poderosa ferramenta para se elucidarem a estrutura e a função do genoma viral, seus produtos gênicos, bem como seu papel na infecção e na doença. Variantes virais podem ocorrer naturalmente, com alterações nas propriedades biológicas como resultado de mutações genéticas. A variação nas propriedades virais é de suma importância para a medicina humana. Os vírus que possuem antígenos estáveis em sua superfície (poliovírus, vírus do sarampo) podem ser controlados por vacinação. Outros vírus que existem em forma de muitos tipos antigênicos (rinovírus) ou que sofrem alterações frequentes (vírus *influenza* A) são de difícil controle por vacinação. A genética viral pode favorecer o desenvolvimento de vacinas mais eficazes. Alguns tipos de infecção viral sofrem repetidas recidivas (vírus *parainfluenza*) ou persistem (retrovírus) na presença de anticorpos, podendo ser mais bem controlados pelo uso de antivirais. A análise genética irá ajudar na identificação dos processos específicos dos vírus passíveis de atuar como alvos apropriados ao desenvolvimento da terapia antiviral.

Os seguintes termos são básicos para uma discussão da genética: o **genótipo** refere-se à constituição genética de um microrganismo; o **fenótipo** relaciona-se com as propriedades observadas de um microrganismo, produzidas pelo fenótipo em cooperação com o meio ambiente; a **mutação** é uma alteração do genótipo passível de ser herdada; o **genoma** é a soma dos genes de um microrganismo; o **vírus tipo selvagem** refere-se ao vírus original a partir do qual são produzidos mutantes e com o qual os mutantes são comparados; a expressão pode não caracterizar exatamente o vírus em sua forma isolada na natureza; os vírus isolados do hospedeiro natural são descritos como **vírus isolados de campo** ou **isolados primários**.

Mapeamento dos genomas virais

As técnicas rápidas e precisas de biologia molecular facilitaram a identificação dos produtos gênicos virais e o mapeamento desses produtos no genoma viral. Os mapeamentos bioquímico e físico podem ser efetuados muito mais rapidamente do que o mapeamento genético, por meio de técnicas genéticas clássicas.

Para os isolados que podem ser clonados, a análise da sequência e comparação com vírus conhecidos é usada com

frequência em vez das abordagens descritas a seguir para o mapeamento de genomas virais.

A técnica de mapeamento recombinante foi utilizada com os vírus *influenza* A, que possuem um genoma de oito segmentos de RNA, cada qual codificando uma proteína viral. Em condições apropriadas, os segmentos do genoma de RNA e os polipeptídeos de diferentes vírus *influenza* A migram a velocidades diversas em géis de poliacrilamida, permitindo a diferenciação das cepas. Pela análise dos produtos recombinantes formados entre diferentes vírus *influenza*, foi determinado o segmento de RNA que codifica cada proteína.

As endonucleases de restrição podem ser utilizadas para identificação de cepas específicas de vírus do DNA. O DNA viral é isolado e incubado com uma endonuclease específica até haver a clivagem de sequências de DNA suscetíveis a nucleases. Em seguida, os fragmentos são separados, de acordo com o tamanho, por eletroforese em gel. Os fragmentos grandes têm sua migração retardada pelo efeito de filtração do gel, de modo que se observa uma relação inversa entre o tamanho e a migração. A posição dos segmentos de DNA pode ser determinada por autorradiografia ou por técnicas de coloração especializadas. Essas técnicas de mapeamento físico são úteis na diferenciação de tipos virais em sistemas nos quais os vírus não podem ser cultivados (p. ex., papilomavírus).

É possível correlacionar os mapas físicos com os genéticos, o que permite que os produtos dos genes virais sejam mapeados em regiões do genoma, definidas pelos fragmentos das enzimas de restrição. A transcrição de RNAm durante o ciclo de replicação pode ser atribuída a fragmentos específicos de DNA. Com o uso da mutagênese, mutações podem ser introduzidas em regiões definidas do genoma. Podem ser utilizados fragmentos do genoma viral produzidos pela reação em cadeia da polimerase, em vez dos fragmentos das enzimas de restrição, em estudos de mapeamento e mutagênese.

Tipos de vírus mutantes

Os estudos genéticos clássicos com vírus animais exigem a disponibilidade de um método de ensaio quantitativo sensível e preciso, como o ensaio em placa para infecciosidade viral, e bons mutantes (resultantes de mutações isoladas) facilmente marcados e de estabilidade razoável. Alguns marcadores comumente utilizados são a morfologia da placa, o escape a anticorpos ou a resistência a antissoros neutralizantes, a perda de proteína viral, a resistência a fármacos, a variedade de hospedeiros e a incapacidade de crescer a temperaturas baixas ou altas. Os mutantes com esses marcadores são obtidos após tratamento com mutágeno, pela criação de uma mutação pelo emprego de técnicas moleculares ou após mutação espontânea.

Sequências virais clonadas são usadas atualmente para análise genética molecular. Os genomas dos vírus de RNA são clonados como cópias de cDNA, o que permite a análise genética de vírus que não podem ser cultivados e de vírus de RNA. Na atualidade, diferentes tipos de mutação podem ser introduzidos em DNAs virais clonados para a análise funcional de sequências de codificação e elementos de ação *cis* virais.

Os mutantes condicional-letais são mutantes letais (no sentido de não haver a produção de qualquer vírus infeccioso) em um conjunto de condições — denominadas **condições não permissivas** — mas que produzem uma progênie infecciosa

normal em outras condições — denominadas **condições permissivas**. Os mutantes termosensíveis crescem a temperaturas baixas (permissivas), mas não a temperaturas altas (não permissivas). Os mutantes com variedade de hospedeiros são capazes de crescer em um tipo de célula (célula permissiva), enquanto ocorre infecção abortiva em outro tipo de célula (célula não permissiva). Os estudos de infecção mista com pares de mutantes em condições permissivas e não permissivas podem fornecer informações sobre a função dos genes e os mecanismos de replicação viral em nível molecular.

Vírus defeituosos

Um vírus defeituoso é aquele que carece de um ou mais genes funcionais necessários para a replicação viral. Os vírus defeituosos necessitam da atividade auxiliar de outro vírus para alguma etapa do processo de replicação ou maturação.

Um tipo de vírus defeituoso é composto por vírus que carecem de parte do seu genoma (*i. e.*, mutante por deleção). A extensão da perda por deleção pode variar de uma curta sequência de bases até uma grande porção do genoma. Os mutantes por deleção espontânea podem interferir na replicação de vírus homólogos, sendo denominados **partículas virais de interferência defeituosa**. As partículas de interferência defeituosa perderam segmentos essenciais do genoma, porém contêm proteínas normais do capsídeo. Necessitam de vírus homólogo infeccioso como auxiliar para sua replicação e interferem na multiplicação desse vírus homólogo.

Outra categoria de vírus defeituosos exige um vírus não relacionado e competente para replicação como vírus auxiliar. São exemplos os vírus-satélites associados a adenovírus e o vírus da hepatite D (agente delta), que só se replicam na presença de adenovírus humano coinfecante ou vírus da hepatite B, respectivamente. Ainda não foi recuperado qualquer vírus não defeituoso isolado desse tipo de vírus defeituoso. A função auxiliar essencial desempenhada pelo vírus auxiliar varia conforme o sistema.

Os pseudovirions, um tipo diferente de partícula defeituosa, contêm DNA celular em vez do genoma viral. Durante a replicação viral, o capsídeo, algumas vezes, engloba porções aleatórias do ácido nucleico do hospedeiro em vez do ácido nucleico viral. Essas partículas assemelham-se a partículas virais comuns quando observadas à microscopia eletrônica, porém não se replicam. Teoricamente, os pseudovirions poderiam transduzir o ácido nucleico celular de uma célula para outra.

Em geral, os retrovírus transformadores são defeituosos. Uma porção do genoma viral sofreu deleção e foi substituída por um fragmento de DNA de origem celular, que codifica uma proteína transformadora. Esses vírus permitiram a identificação de oncogenes celulares (ver Cap. 43). É necessário outro retrovírus como auxiliar para a replicação do vírus transformador.

Interações entre vírus

Quando duas ou mais partículas infectam a mesma célula hospedeira, podem interagir de diversas maneiras. Elas podem estar estreitamente relacionadas, em geral dentro da mesma família, o suficiente para que a maior parte das interações ocorra. A interação genética resulta em alguma progênie geneticamente diferente de ambas as células originais. A progênie

produzida em consequência de interação não genética é semelhante aos vírus originais. Nas interações genéticas, as próprias moléculas de ácido nucleico interagem, enquanto os produtos dos genes estão envolvidos em interações não genéticas.

A. Recombinação

Resulta na produção de uma progênie viral (recombinante) com traços não encontrados em qualquer dos vírus parentais. O mecanismo clássico consiste em ruptura das fitas de ácido nucleico, de modo que parte do genoma de um vírus original se une a uma parte do genoma do segundo vírus. O vírus recombinante é geneticamente estável, produzindo uma progênie igual a ele próprio durante a replicação. Os vírus variam amplamente quanto à frequência com que sofrem recombinação. No caso de vírus com genomas segmentados — como, por exemplo, o vírus *influenza* —, a formação de recombinantes é decorrente de recombinação de fragmentos do genoma mais que a um verdadeiro evento de permuta (*crossing-over*) e ocorre com facilidade. (Ver Cap. 39.)

B. Complementação

Refere-se à interação de produtos gênicos virais em células infectadas por dois vírus, podendo um deles ou ambos serem defeituosos, o que resulta em replicação de um ou ambos em condições nas quais ocorreria normalmente a replicação. A base para complementação é a de que um vírus fornece um produto gênico para o qual o segundo é defeituoso, permitindo o crescimento desse segundo vírus. Os genótipos de ambos os vírus permanecem inalterados. Se ambos os mutantes forem defeituosos no mesmo produto gênico, serão incapazes de complementar o crescimento do outro.

C. Mistura fenotípica

Uma mistura fenotípica, ou associação de um genótipo com um fenótipo heterólogo, constitui um caso especial de complementação, processo que ocorre quando o genoma de um vírus se torna incorporado aleatoriamente a proteínas dos capsídeos especificadas por um vírus diferente ou por um capsídeo, consistindo em componentes de ambos os vírus. Se o genoma estiver envolto por um envelope proteico totalmente heterólogo, esse exemplo extremo de mistura fenotípica poderá ser denominado “mascaramento fenotípico” ou “transcapsidação”. Tal mistura não constitui alteração genética estável, visto que, durante a replicação, o vírus parenteral fenotipicamente misturado irá produzir uma progênie com capsídeos homólogos ao genótipo.

Em geral, a mistura fenotípica ocorre entre membros diferentes da mesma família de vírus; as proteínas do capsídeo intermisturadas devem ser capazes de interagir corretamente para formar um capsídeo intacto em nível estrutural. Todavia, a mistura fenotípica também pode ser observada entre vírus com envelope e, nesse caso, os vírus não precisam estar estreitamente relacionados. O nucleocapsídeo de um vírus torna-se revestido por um envelope especificado por outro vírus, fenômeno denominado “formação de pseudotipo”. Existem muitos exemplos de formação de pseudotipo entre os vírus de DNA tumorais (ver Cap. 43). O nucleocapsídeo do vírus da estomatite vesiculosa, um rhabdovírus, tem uma propensão incomum a ser envolvido na formação de pseudotipo com material do envelope não relacionado.

D. Interferência

A infecção de culturas de células ou de animais por dois vírus frequentemente resulta em inibição da multiplicação de um deles — efeito denominado interferência. A interferência em animais é distinta da imunidade específica. Além disso, não ocorre interferência com todas as combinações virais; dois vírus podem infectar e multiplicar-se na mesma célula com tanta eficiência quanto em infecções isoladas.

Diversos mecanismos já foram elucidados como causas de interferência: (1) um vírus pode inibir a capacidade de adsorção do segundo à célula, bloqueando seus receptores (retrovírus, enterovírus) ou destruindo-os (ortomixovírus); (2) um vírus pode competir com o segundo por componentes do aparelho de replicação (p. ex., polimerase, fator de iniciação da tradução); (3) o primeiro vírus pode fazer que a célula infectada produza um inibidor (interferon; ver Cap. 30), impedindo a replicação do segundo vírus.

Vetores virais

A tecnologia do DNA recombinante revolucionou a produção de materiais biológicos, hormônios, vacinas, interferon e outros produtos gênicos. Os genomas virais vêm sendo manipulados de modo a servirem como vetores de replicação e de expressão para genes tanto virais quanto celulares. Praticamente qualquer vírus pode ser convertido em vetor se houver conhecimento suficiente sobre as suas funções de replicação, controles de transcrição e sinais de empacotamento. A atual tecnologia de vetores virais está baseada em vírus do DNA (p. ex., o SV40, parvovírus, papilomavírus bovino, adenovírus, herpes-vírus, vírus da vacínia) e em vírus do RNA (p. ex., poliovírus, vírus Sindbis e retrovírus). Cada sistema apresenta vantagens e desvantagens distintas.

Os vetores de expressão eucariótica típicos contêm elementos reguladores virais (promotores ou intensificadores) que controlam a transcrição do gene clonado desejado, colocado em posição adjacente, sinais para terminação e poliadenilação eficientes de transcrições, bem como sequência intrônica delimitada por locais doadores e aceptores. Pode haver sequências que aumentam a tradução ou que afetam a expressão em determinado tipo celular. Os princípios da tecnologia do DNA recombinante são descritos e ilustrados no Capítulo 7. Essa abordagem oferece a possibilidade de se produzirem grandes quantidades de antígeno puro para estudos estruturais e para vacinas.

HISTÓRIA NATURAL (ECOLOGIA) E MODOS DE TRANSMISSÃO DOS VÍRUS

Ecologia é o estudo das interações entre os organismos vivos e seu ambiente. Os diferentes vírus desenvolveram mecanismos engenhosos e frequentemente complicados para sua sobrevivência na natureza e para sua transmissão de um hospedeiro para outro. O modo de transmissão utilizado por determinado vírus depende da natureza da interação entre o vírus e o hospedeiro.

Os vírus podem ser transmitidos das seguintes maneiras:

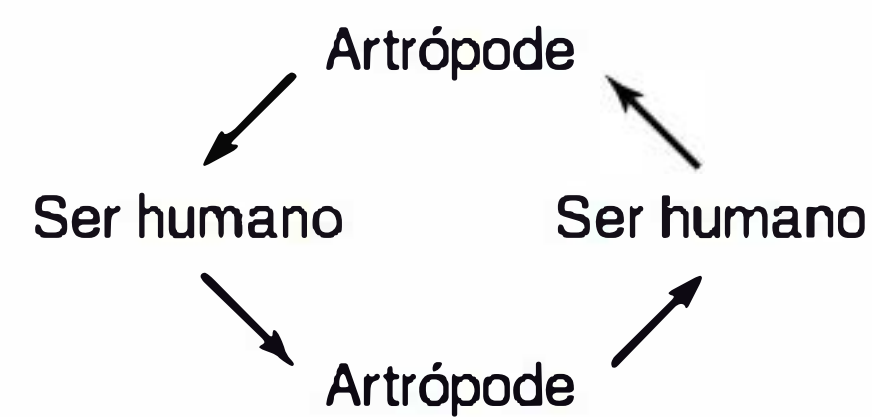
1. Transmissão direta de uma pessoa para outra por contato; os principais meios de transmissão incluem perdigotos ou aerossóis (p. ex., *influenza*, sarampo, varíola); por contato

sexual (p. ex., papilomavírus, hepatite B, herpes simples tipo 2, vírus da imunodeficiência humana); por contato mão-boca, mão-olhos ou boca-boca (p. ex., herpes simples, rinovírus, vírus Epstein-Barr); ou por sangue contaminado (p. ex., hepatite B, vírus da imunodeficiência humana).

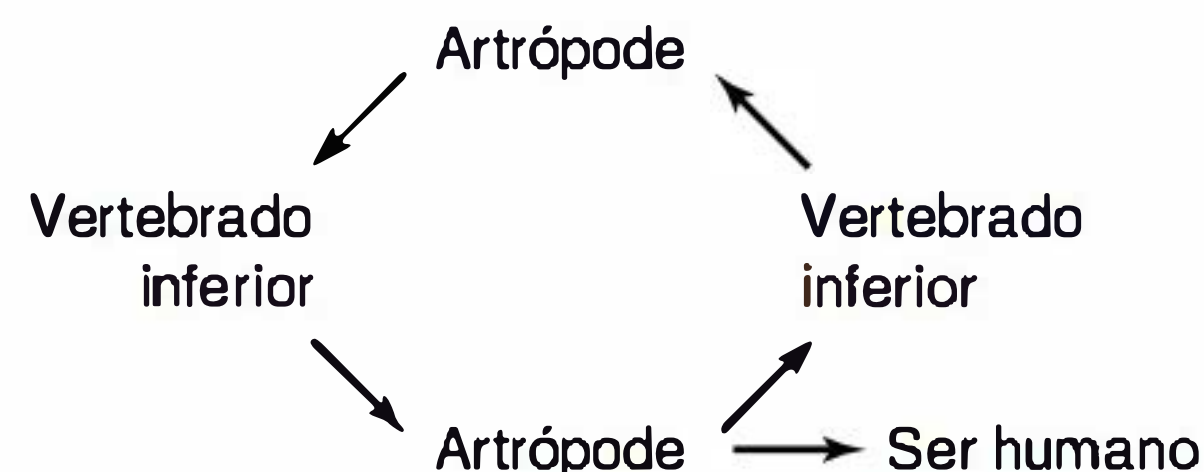
2. Transmissão indireta pela via orofecal (p. ex., enterovírus, rotavírus, hepatite A infecciosa) ou por fômites (p. ex., vírus Norwalk, rinovírus).
3. Transmissão de um animal para outro, sendo o ser humano um hospedeiro acidental. A transmissão pode ocorrer através de mordida (raiva) ou perdigotos ou aerossóis de locais contaminados por roedores (p. ex., arenavírus, antavírus).
4. Transmissão por um vetor artrópode (p. ex., arbovírus, hoje classificados principalmente como togavírus, flavivírus e bunivírus).

Foram reconhecidos pelo menos três diferentes padrões de transmissão entre os vírus transmitidos por artrópodes:

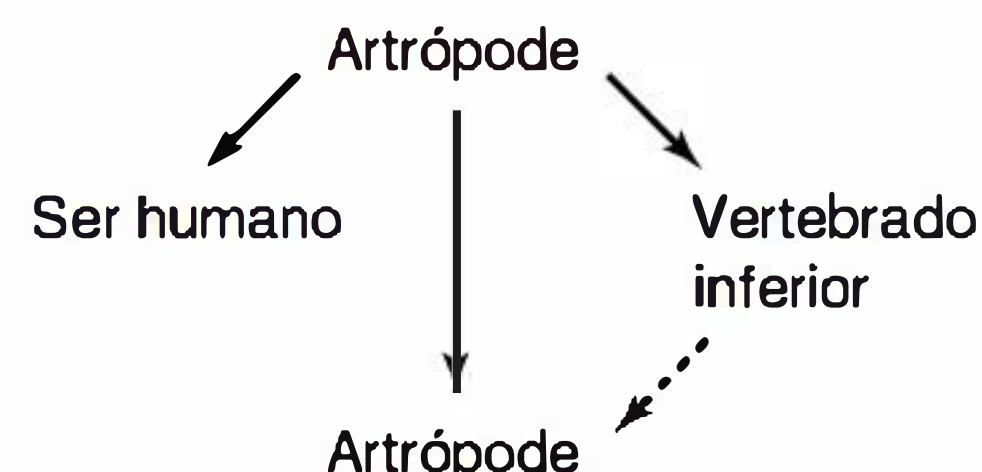
1. **Ciclo artrópode humano.** *Exemplos:* febre amarela urbana, dengue.



2. **Ciclo artrópode vertebrado inferior com infecção tangencial de seres humanos.** *Exemplos:* febre amarela da selva, encefalite de St. Louis. O ser humano infectado é um hospedeiro "terminal". Trata-se do mecanismo de transmissão mais comum.



3. **Ciclo artrópode-artrópode com infecção ocasional de seres humanos e vertebrados inferiores.** *Exemplos:* febre do carrapato do Colorado, encefalite de La Crosse.



Neste ciclo, o vírus pode ser transmitido do artrópode adulto para a sua progênie através dos ovos (passagem transovariana). Em consequência, o ciclo pode prosseguir com ou sem a intervenção de um hospedeiro vertebrado com viremia.

Nos vertebrados, a invasão da maioria dos vírus provoca uma reação violenta, em geral de curta duração. O resultado é decisivo. Ou o hospedeiro morre, ou sobrevive, mediante a produção de anticorpos que neutralizam o vírus. Seja qual

for a evolução, a permanência do vírus ativo é em geral curta, embora possam ocorrer infecções persistentes ou latentes que duram meses a anos (hepatite B, herpes simples, citomegalovírus, retrovírus). Nos vetores artrópodes dos vírus, a relação é em geral muito diferente. Os vírus exercem pouco ou nenhum efeito deletério e permanecem ativos no artrópode durante toda a vida natural do animal. Por conseguinte, os artrópodes, diferente dos vertebrados, atuam como hospedeiros permanentes e reservatórios.

Doenças virais emergentes

Devido a mudanças de longo alcance nas atitudes sociais, na tecnologia e no ambiente — associadas à reduzida eficácia das abordagens anteriores no controle das doenças —, o espectro das doenças infecciosas está se expandindo atualmente. Novos agentes estão surgindo, e a incidência de doenças antes consideradas sob controle vem aumentando com a evolução e a propagação dos patógenos. A expressão “doenças infecciosas emergentes” descreve esses fenômenos.

As doenças virais emergentes surgem após a ocorrência de um de três padrões gerais: reconhecimento de um novo agente, aumento abrupto de doenças causadas por um agente endêmico e invasão de uma nova população de hospedeiros.

Combinações de fatores contribuem para o aparecimento de doenças. Alguns fatores aumentam a exposição humana a patógenos antes obscuros, enquanto outros propiciam a disseminação de infecções anteriormente localizadas. Outros fatores ainda induzem alterações nas propriedades virais e nas respostas do hospedeiro à infecção. Esses fatores incluem: (1) alterações ambientais (desflorestamento, represamento ou outras alterações em ecossistemas aquáticos, enchentes ou secas, fome), (2) comportamento humano (comportamento sexual, uso de drogas, lazer ao ar livre); (3) fenômenos socioeconômicos e demográficos (guerra, pobreza, crescimento da população e migração, deterioração das condições urbanas), (4) viagens e comércio (estradas de rodagem, viagens aéreas internacionais), (5) produção de alimentos (globalização dos suprimentos de alimentos, mudanças nos métodos de processamento e acondicionamento dos produtos), (6) assistência à saúde (novos aparelhos médicos, transfusões de sangue, transplante de órgãos e tecidos, fármacos que causam imunossupressão, uso disseminado de antibióticos), (7) adaptação microbiana (alterações na virulência, desenvolvimento de resistência a fármacos, cofatores em doenças crônicas) e (8) medidas de saúde pública (condições sanitárias e medidas de controle de vetores inadequadas, restrição de programas de prevenção, falta de pessoas treinadas em números suficientes).

São exemplos de infecções virais emergentes em diferentes regiões do mundo o vírus Ebola, o vírus Nipah, a doença pulmonar por hantavírus, a infecção pelo vírus da imunodeficiência humana, a febre hemorrágica da dengue, o vírus do Nilo Ocidental, a febre do Vale do Rift e a encefalopatia espongiforme bovina (uma doença causada por príon).

O possível uso de órgãos animais como xenoenxertos em seres humanos também está sendo objeto de muita preocupação. Como o número de doadores humanos de órgãos disponíveis pode não suprir as necessidades de todos os pacientes

que necessitam de transplante, o xenotransplante de órgãos de primatas não humanos e porcos está sendo considerado uma alternativa. Há preocupação quanto à possível introdução acidental de novos patógenos virais em seres humanos a partir das espécies doadoras.

Agentes de bioterrorismo

Os agentes de bioterrorismo são microrganismos (ou toxinas) que podem ser usados para causar morte e doenças em seres humanos, animais ou plantas, com finalidades de terrorismo. Tais microrganismos podem ser geneticamente modificados para se ter sua virulência aumentada, torná-los resistentes a fármacos ou vacinas, ou reforçar sua capacidade de disseminação no ambiente.

Os agentes com uso potencial para fins de bioterrorismo são classificados em categorias de risco baseadas na facilidade de disseminação ou transmissão de pessoa para pessoa, nas taxas de mortalidade, na capacidade de causar pânico na população e na necessidade de capacitação dos órgãos de saúde pública. Os agentes virais da categoria de mais alto risco são o vírus da varíola e os das febres hemorrágicas; as bactérias de maior risco são o antraz (carbúnculo), o botulismo, a praga (peste bubônica) e a tularemia.

RESUMO DO CAPÍTULO

- Os vírus são os menores agentes infecciosos conhecidos, contendo somente um tipo de material nucleico (DNA ou RNA).
- Os vírus conhecidos são bastante diversos variando em tamanho, forma, material genético e pela presença ou ausência de envelope.
- Os vírus são classificados em grupos (denominados famílias) baseados em propriedades em comum, tais como morfologia do virion, estrutura genômica e estratégias de replicação.
- Os vírus são agentes infecciosos intracelulares, sendo multiplicados pela maquinária da célula hospedeira. O material nucleico viral codifica para proteínas virais, enquanto a célula hospedeira fornece energia, precursores bioquímicos e sua maquinária de biossíntese.
- Os passos de replicação viral incluem aderência à célula hospedeira (via receptores específicos), entrada na célula, desnudamento do genoma viral, regulação da transcrição viral, síntese das proteínas virais, replicação do ácido nucleico, montagem das novas partículas virais e liberação dos novos virions. A duração da replicação varia conforme o tipo do vírus. Durante a fase de liberação, pode ocorrer a morte ou danos à célula hospedeira. Nem todas as infecções levam uma nova progênie viral.
- Novas doenças virais podem ser consideradas como doenças infecciosas emergentes. Esses novos agentes podem ter evoluído a partir de mutações e se disseminado, infectando novos hospedeiros em potencial.
- Alguns vírus são agentes potenciais de bioterrorismo, baseados na facilidade de transmissão hospedeiro-hospedeiro e nas altas taxas de mortalidade.

QUESTÕES DE REVISÃO

- Alguns vírus são caracterizados pela simetria helicoidal do nucleocapsídeo viral. Qual das seguintes afirmativas sobre vírus com simetria helicoidal é a mais correta?
 - Todos os vírus com envelope e com simetria helicoidal são classificados na mesma família viral
 - Os nucleocapsídeos helicoidais são encontrados principalmente em vírus de DNA
 - Todos os vírus humanos com nucleocapsídeo helicoidal possuem envelope
 - Um excesso de partículas helicoidais vazias sem ácido nucleico é produzido normalmente em células infectadas
- Células infectadas por vírus com frequência desenvolvem mudanças morfológicas conhecidas como efeitos citopáticos. Qual das seguintes afirmativas sobre mudanças citopáticas induzidas por vírus é a mais correta?
 - São patognomônicas para um vírus infectante
 - Raramente estão associadas a morte celular
 - Podem incluir a formação de células gigantes
 - Podem ser vistas somente por microscopia eletrônica
- Os vírus em geral iniciam uma infecção por uma interação inicial com receptores na superfície das células. Qual das seguintes afirmativas é a mais correta sobre receptores celulares para vírus?
 - Os receptores celulares para vírus não têm função celular conhecida
 - Todos os vírus pertencentes a uma mesma família usam um mesmo receptor celular
 - Todas as células em um hospedeiro suscetível irão expressar o receptor viral
 - Infecções sucessivas de uma célula por um vírus podem envolver a interação com mais de um tipo de receptor
- Qual das seguintes alternativas indica o procedimento que pode ser usado para quantificar os títulos infecciosos de vírus?
 - Teste de placa
 - Microscopia eletrônica
 - Hemaglutinação
 - Reação em cadeia da polimerase
 - Ensaio imunoenzimático
- Qual das seguintes alternativas denota um princípio em relação ao ácido nucleico viral?
 - Os vírus contêm DNA e RNA
 - Alguns vírus contêm um genoma segmentado
 - O ácido nucleico viral purificado de alguns vírus geralmente é infeccioso
 - Os tamanhos dos genomas virais são similares entre os vírus humanos conhecidos
- Dois mutantes de poliovírus foram isolados: um (MutX) com mutação no gene X e um segundo (MutY) com mutação no gene Y. Se células forem infectadas com cada mutante isoladamente, não ocorre a produção de novos vírus. Se uma célula for coinfetada com MutX e MutY, qual das seguintes alternativas terá a maior probabilidade de ocorrer?
 - Poderá ocorrer um rearranjo dos segmentos genômicos, originando um vírus tipo selvagem viável
 - Os genomas poderão ser transcritos reversamente para o DNA, e ambos os mutantes poderão ser produzidos
 - Poderá ocorrer complementação entre os produtos gênicos mutantes
 - As células irão transformar-se em alta frequência e não poderão ser mortas por mutantes de poliovírus
- Qual dos seguintes vírus possui um genoma RNA infeccioso quando purificado?
 - Vírus *influenza*
 - Poliovírus
 - Papilomavírus
 - Vírus do sarampo
 - Rotavírus
- Qual dos seguintes grupos de vírus é capaz de estabelecer infecções latentes?
 - Poxvírus
 - Filovírus
 - Herpes-vírus
 - Vírus *influenza*
 - Calicivírus
- Alguns vírus codificam uma RNA polimerase viral dependente de RNA. Qual das seguintes afirmativas denota um princípio sobre as RNAs polimerases virais?
 - Todos os vírus de RNA portam moléculas de RNA polimerase no interior da partícula viral, pois são necessárias para iniciar o próximo ciclo infeccioso
 - Anticorpos contra a RNA polimerase viral neutralizam a infectividade viral
 - Os vírus de RNA de polaridade negativa fornecem sua própria RNA polimerase dependente de RNA, pois as células eucarióticas não possuem tais enzimas
 - A proteína da RNA polimerase viral também serve como a principal proteína do cerne da partícula viral
- Qual das seguintes afirmativas sobre a morfologia viral é verdadeira?
 - Todos os vírus de RNA têm forma esférica
 - Alguns vírus contêm flagelos
 - Algum vírus com genoma DNA contém um núcleo primitivo
 - As proteínas de superfície virais protegem o genoma viral das endonucleases
 - Os nucleocapsídeos helicoidais são encontrados em vírus de DNA de fita simples
- Muitos vírus podem ser cultivados em laboratório. Qual das seguintes afirmativas sobre a propagação viral não é verdadeira?
 - Alguns vírus podem propagar-se em meios livres de células
 - Alguns vírus de mamíferos podem ser cultivados em ovos de galinha
 - Alguns vírus com grande variedade de hospedeiros podem multiplicar-se em muitos tipos de células
 - Alguns vírus humanos podem crescer em camundongos
 - A maioria das preparações virais tem uma relação partícula: unidade infecciosa maior que um
- Infecções laboratoriais podem ser adquiridas quando se trabalha com vírus, a menos que sejam seguidas as boas práticas laboratoriais de biossegurança. Qual das seguintes alternativas não é uma boa prática de biossegurança?
 - Usar cabines de biossegurança
 - Usar equipamento pessoal de proteção (p. ex., jalecos, máscaras e luvas)
 - Não pipetar com a boca
 - Derramar resíduos experimentais na pia do laboratório
 - Não comer nem beber no laboratório

13. Os vírus pequenos estão na mesma faixa de tamanho comparável a:
- (A) Espécies de *Staphylococcus aureus*
 - (B) Globulina sérica
 - (C) Hemácias
 - (D) Ribossomos
 - (E) Mitocôndria
14. Qual das seguintes condições não é um importante fator na emergência de novas infecções virais?
- (A) Viagens internacionais
 - (B) Resistência a antibióticos
 - (C) Desflorestamento
 - (D) Guerra
 - (E) Transplantes de órgãos e tecidos
15. Os arbovírus são classificados em diferentes famílias virais baseados na seguinte característica:
- (A) Se replicam somente em seres humanos
 - (B) Contêm DNA e RNA
 - (C) São transmitidos por vetores
 - (D) Causam febre hemorrágica
 - (E) Causam encefalites

Respostas

- | | | | |
|------|------|-------|-------|
| 1. C | 5. B | 9. C | 13. D |
| 2. C | 6. C | 10. D | 14. B |
| 3. D | 7. B | 11. A | 15. C |
| 4. A | 8. C | 12. D | |

REFERÊNCIAS

- Centers for Disease Control and Prevention, Association of Public Health Laboratories: Guidelines for biosafety laboratory competency. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2011;60(suppl.):1.
- Espy MJ, Uhl JR, Sloan LM et al.: Real-time PCR in clinical microbiology: Applications for routine laboratory testing. *Clin Microbiol Rev* 2006;19:165.
- Girones R: Tracking viruses that contaminate environments. *Microbe* 2006;1:19.
- Guideline for hand hygiene in health-care settings. Recommendations of the Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee and the HICPAC/SHEA/APIC/IDSA Hand Hygiene Task Force. *MMWR Recomm Rep* 2002;51(RR-16):1.
- King AMQ, Adams MJU, Carstens, EB, Lefkowitz EJ (editors): *Virus Taxonomy: Classification and Nomenclature of Viruses. Ninth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses*. Academic Press, 2012.
- Knipe DM, Howley PM (editors-in-chief): *Fields Virology*, 5th ed. Lippincott Williams & Wilkins, 2007.
- Preventing emerging infectious diseases: A strategy for the 21st century. Overview of the updated CDC plan. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 1998;47(RR-15):1.
- Society for Healthcare Epidemiology of America/Association for Professionals in Infection Control/Infectious Diseases Society of America.
- Woolhouse MEJ: Where do emerging pathogens come from? *Microbe* 2006;1:511.

Patogênese e controle das doenças virais

PRINCÍPIOS DAS DOENÇAS VIRAIS

O processo fundamental da infecção viral consiste no ciclo de replicação do vírus. A resposta celular à infecção pode variar de efeitos não aparentes a efeitos citopatológicos, com a consequente morte celular, até hiperplasia ou câncer.

Doença viral refere-se a alguma anormalidade prejudicial decorrente de infecção do hospedeiro por vírus. A **doença clínica** em um hospedeiro consiste em sinais e sintomas manifestos. A **síndrome** refere-se a um grupo específico de sinais e sintomas. As infecções virais que não produzem sintomas no hospedeiro são conhecidas como inaparentes (infecções subclínicas). Com efeito, a maioria das infecções virais não leva à produção de doença (Fig. 30.1).

Os princípios importantes relacionados com as doenças virais compreendem os seguintes: (1) muitas infecções virais são subclínicas; (2) a mesma doença pode ser causada por uma variedade de vírus; (3) o mesmo vírus pode causar uma variedade de doenças; (4) a doença não tem relação com a morfologia viral; e (5) a evolução de qualquer caso específico é determinada pelos fatores virais e do hospedeiro, sendo influenciada pela genética de ambos.

Patogênese viral é o processo que ocorre quando um vírus infecta um hospedeiro. A **patogênese da doença** é um subconjunto de eventos durante uma infecção que resultam em manifestação de doença no hospedeiro. Um vírus é **patogênico** para determinado hospedeiro quando se mostra capaz de infectar e desencadear sinais de doença nesse hospedeiro. Uma cepa de determinado vírus é mais **virulenta** que outra quando costuma induzir doença mais grave em um hospedeiro suscetível. A virulência viral em animais sadios não deve ser confundida com a citopatogenicidade de células cultivadas; vírus altamente citocidas *in vitro* podem ser inócuos *in vivo* e, ao contrário, vírus não citocidas podem causar doença grave.

No Quadro 30.1, fornecemos uma comparação sobre as importantes características das duas categorias gerais de doenças virais agudas (locais e sistêmicas).

PATOGÊNESE DAS DOENÇAS VIRAIS

Para provocar doença, é necessário que os vírus penetrem em um hospedeiro, entrem em contato com células suscetíveis, sofram replicação e causem lesão celular. A compreensão dos mecanismos da patogênese viral em nível molecular é necessária para o planejamento de estratégias antivirais específicas e eficazes. Grande parte dos nossos conhecimentos acerca da

patogênese viral baseia-se em modelos animais, visto que tais sistemas podem ser mais facilmente manipulados e estudados.

Etapas da patogênese viral

As etapas específicas que a patogênese viral implica são as seguintes: penetração do vírus no hospedeiro, replicação viral primária, disseminação do vírus, lesão celular, resposta imunológica do hospedeiro, eliminação do vírus ou estabelecimento de infecção persistente, e disseminação viral.

A. Penetração e replicação primária

Para que ocorra infecção em um hospedeiro, é necessário que o vírus se fixe inicialmente às células de uma das superfícies corporais — pele, trato respiratório, gastrointestinal e urogenital ou conjuntiva — e penetre nelas. A maioria dos vírus penetra em seus hospedeiros através da mucosa dos tratos respiratórios ou gastrointestinal (Quadro 30.2). As principais exceções são os vírus introduzidos diretamente na corrente sanguínea por agulhas (vírus da hepatite B, vírus da imunodeficiência humana [HIV]), transfusões sanguíneas ou insetos vetores (arbovírus).

Em geral, os vírus replicam-se no local primário de entrada. Alguns, como o vírus *influenza* (infecções respiratórias) e os norovírus (infecções gastrointestinais), provocam doença na porta de entrada e não necessitam sofrer disseminação sistêmica adicional. Propagam-se localmente nas superfícies epiteliais, sem que haja a disseminação para locais distantes.

B. Propagação viral e tropismo celular

Muitos vírus provocam doenças em locais distantes do seu ponto de entrada (p. ex., enterovírus, que penetram através do trato gastrointestinal, mas causam doença do sistema nervoso central [SNC]). Após ocorrer replicação primária no local de entrada, esses vírus propagam-se no hospedeiro (Fig. 30.2). Os mecanismos de propagação viral são variáveis, porém a via mais comum é observada através da corrente sanguínea e dos vasos linfáticos. A presença do vírus no sangue é denominada **viremia**. Os virions podem estar livres no citoplasma (p. ex., enterovírus, togavírus) ou associados a tipos celulares específicos (p. ex., vírus do sarampo) (Quadro 30.3). Alguns vírus multiplicam-se mesmo no interior dessas células. A fase de viremia é curta em muitas infecções virais. Em alguns casos, ocorre propagação neuronal; esta aparentemente constitui o mecanismo pelo qual o vírus da raiva atinge o cérebro, provocando doença, e pelo qual o herpes-vírus simples segue seu trajeto até os gânglios, em que inicia infecções latentes.

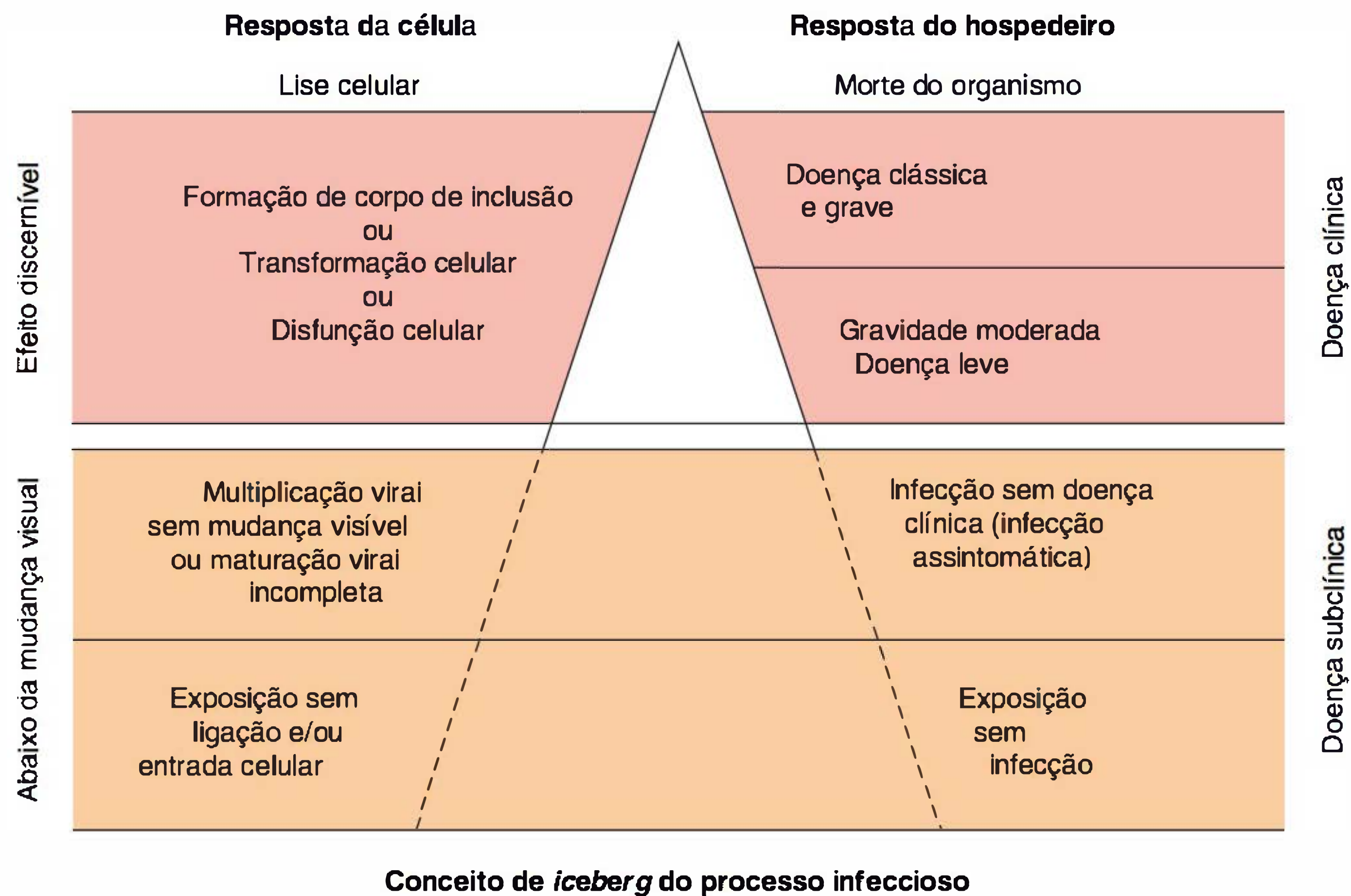


FIGURA 30.1 Tipos de resposta celular e do hospedeiro à infecção viral. (Reproduzida, com autorização, de Evans AS: Epidemiological concepts. In: Evans AS, Brachman PS [editors.]: *Bacterial Infections of Humans*, 3rd ed. Plenum, 1998. Reproduzida, com autorização, de Springer Science + Business Media.)

Os vírus tendem a exibir especificidades de órgãos e células. Dessa forma, o tropismo determina o padrão de doença sistêmica produzida durante uma infecção viral. O vírus da hepatite B, por exemplo, possui um tropismo por hepatócitos, sendo a hepatite a principal doença causada pelo vírus.

O tropismo celular e tecidual exibido por determinado vírus reflete, em geral, a presença de receptores específicos na superfície celular para tal vírus. Os receptores são componentes da superfície celular com os quais uma região da superfície viral (capsídeo ou envelope) pode interagir especificamente, iniciando a infecção. Os receptores são componentes celulares que atuam no metabolismo normal da célula, mas que também exibem afinidade por determinado vírus. A identidade de um

receptor celular específico é conhecida para alguns vírus, mas em muitos casos é desconhecida.

Os fatores que afetam a expressão dos genes virais constituem importantes determinantes do tropismo celular. As regiões de intensificação que exibem alguma especificidade para determinado tipo celular podem regular a transcrição de genes virais. Assim, por exemplo, o intensificador do poliomavírus JC é muito mais ativo nas células gliais do que em outros tipos celulares.

Outro mecanismo responsável pelo tropismo tecidual envolve enzimas proteolíticas. Certos paramixovírus não são infecciosos até que uma glicoproteína do envelope sofra clivagem proteolítica. Vários ciclos de replicação viral não irão ocorrer nos tecidos que não expressam as enzimas ativadoras apropriadas.

A propagação dos vírus pode ser determinada, em parte, por genes virais específicos. Estudos realizados com reovírus mostraram que a extensão da propagação a partir do trato gastrointestinal é determinada por uma das proteínas externas do capsídeo.

QUADRO 30.1 Características importantes de doenças virais agudas

	Infecções locais	Infecções sistêmicas
Exemplo de doença específica	Respiratório (rinovírus)	Sarampo
Local da patologia	Porta de entrada	Local distante
Período de incubação	Relativamente curto	Relativamente longo
Viremia	Ausente	Presente
Duração da imunidade	Variável – pode ser curta	Geralmente longa
Papel de anticorpos secretores (IgA) na resistência	Geralmente importante	Geralmente sem importância

C. Dano celular e doença clínica

A destruição das células infectadas por vírus nos tecidos-alvo e as alterações fisiológicas induzidas no hospedeiro pela lesão tecidual são, em parte, responsáveis pelo desenvolvimento de doença. Alguns tecidos, como o epitélio intestinal, têm a capacidade de sofrer rápida regeneração e suportar lesões extensas muito mais do que outros, como o cérebro. Alguns efeitos fisiológicos podem resultar do comprometimento não letal de funções celulares especializadas, como a perda de produção de hormônios. A doença clínica decorrente de infecção viral

QUADRO 30.2 Vias comuns das infecções virais em seres humanos

Via de entrada	Grupo virai	Produção de sintomas locais na porta de entrada	Produção de infecção generalizada mais doença específica nos órgãos
Trato respiratório	Parvovírus		B19
	Adenovírus	Maioria dos tipos	
	Herpes-vírus	Vírus Epstein-Barr, herpes-vírus simples	Vírus da varicela
	Poxvírus		Vírus da variola
	Picornavírus	Rinovírus	Alguns enterovírus
	Togavírus		Vírus da rubéola
	Coronavírus	Maioria dos tipos	
	Ortomixovírus	Vírus <i>influenza</i>	
	Paramixovírus	Vírus <i>parainfluenza</i> , vírus sincicial respiratório	Vírus da caxumba, vírus do sarampo
Boca, trato intestinal	Adenovírus	Alguns tipos	
	Calicivírus	Norovírus	
	Herpes-vírus	Vírus Epstein-Barr, herpes-vírus simples	Citomegalovírus
	Picornavírus		Alguns enterovírus, inclusive poliovírus e vírus da hepatite A
	Reovírus	Rotavírus	
Traumatismo leve	Papilomavírus	Maioria dos tipos	
	Herpes-vírus	Herpes-vírus simples	
	Poxvírus	Vírus do molusco contagioso, vírus <i>orf</i>	
Injeção	Hepadnavírus		Hepatite B
	Herpes-vírus		Vírus Epstein-Barr, citomegalovírus
	Retrovírus		Vírus da imunodeficiência humana
Mordidas	Togavírus		Muitas espécies, inclusive o vírus da encefalite equina ocidental
	Flavivírus		Muitas espécies, inclusive o vírus da febre amarela
	Rabdovírus		Vírus da raiva

resulta de uma complexa série de eventos, e muitos dos fatores que determinam a gravidade da doença permanecem desconhecidos. Os elementos da resposta do hospedeiro, como a produção de citocinas, podem resultar em sintomas generalizados associados a muitas infecções virais, como mal-estar e anorexia. A doença clínica é um indicador insensível de infecção viral, sendo as infecções virais inaparentes muito comuns.

D. Recuperação da infecção

O hospedeiro irá sucumbir à infecção viral ou recuperar-se dela. Os mecanismos de recuperação incluem as respostas imunológicas inata e adaptativa. O interferon (IFN) e outras citocinas, a imunidade humoral e a imunidade mediada por células, e possivelmente outros fatores de defesa do hospedeiro estão envolvidos. A importância relativa de cada componente difere de acordo com o vírus e a doença.

A importância dos fatores do hospedeiro na evolução das infecções virais é ilustrada por um incidente ocorrido na

década de 1940, em que 45.000 militares foram vacinados com a vacina do vírus da febre amarela contaminada pelo vírus da hepatite B. Embora esses indivíduos presumivelmente tenham sido submetidos a exposições comparáveis, ocorreu hepatite clínica em apenas 2% (914 casos), dos quais apenas 4% desenvolveram doença grave. As bases genéticas da **suscetibilidade do hospedeiro** continuam a ser determinadas para a maior parte das infecções.

Nas infecções agudas, a recuperação está associada à eliminação do vírus. Entretanto, existem circunstâncias em que o hospedeiro permanece persistentemente infectado pelo vírus. Essas infecções prolongadas são descritas adiante.

E. Disseminação do vírus

O último estágio da patogênese consiste em disseminação do vírus infeccioso no ambiente. Trata-se de uma etapa necessária para manter a infecção viral em populações de hospedeiros. Em geral, ocorre disseminação a partir das superfícies corporais

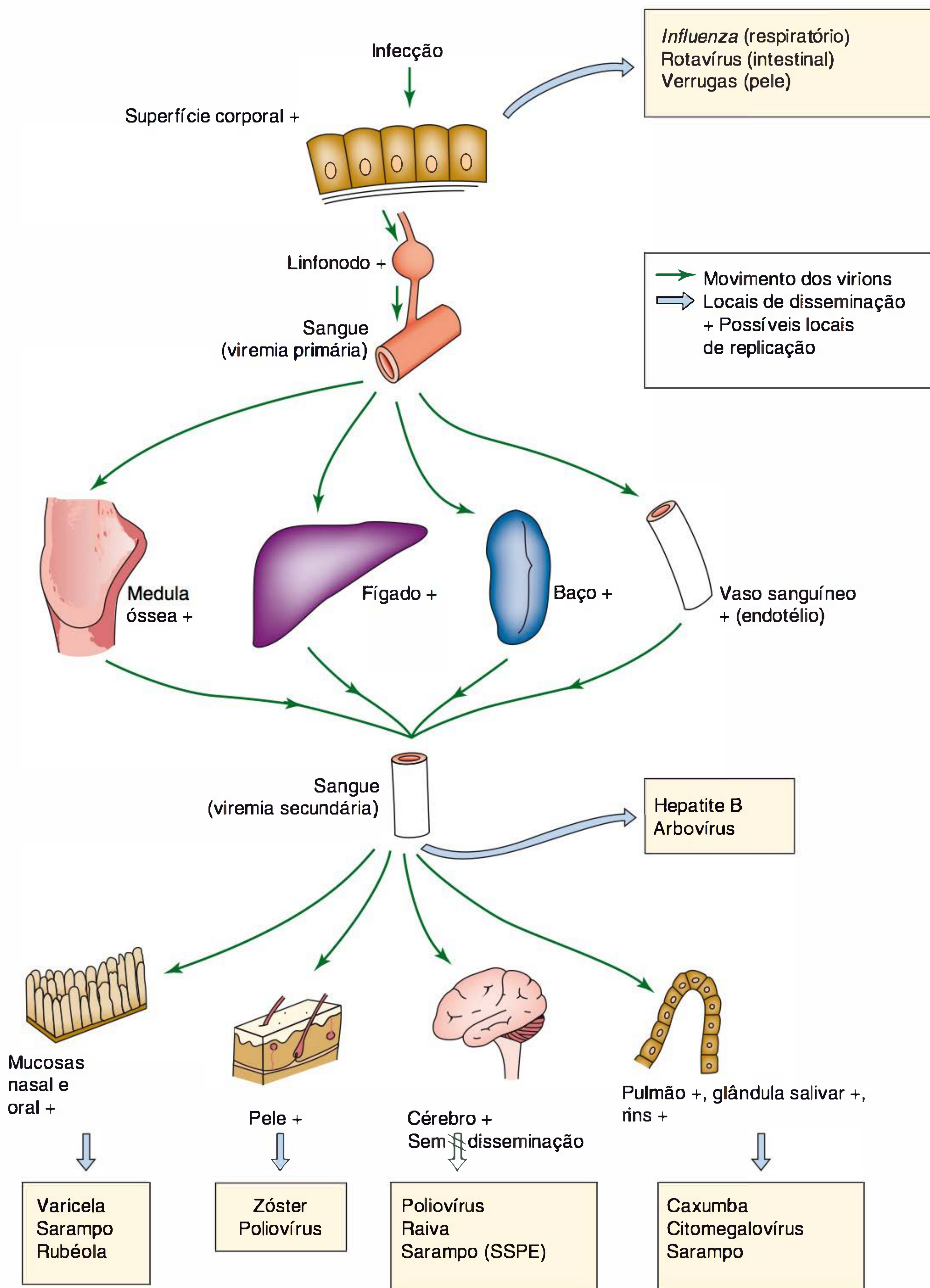


FIGURA 30.2 Mecanismos de propagação dos vírus através do corpo nas infecções virais humanas. O sinal + indica os possíveis locais de replicação viral e as setas grandes indicam os locais de disseminação do vírus, com exemplos ilustrativos de doenças nas quais essa via de excreção é importante. A transferência a partir do sangue ocorre por transfusão nos casos de hepatite B e por picada de mosquito em certas infecções por arbovírus. SSPE, panencefalite subaguda esclerosante. (Reproduzida, com autorização, de Mims CA, White DO: *Viral Pathogenesis and Immunology*. Blackwell, 1984.)

envolvidas na penetração do vírus (Fig. 30.2). A disseminação é observada em diferentes estágios da doença, dependendo do agente específico envolvido. Representa o período em que o

indivíduo infectado torna-se infeccioso para os contatos. Em algumas infecções virais, como a raiva, os seres humanos representam infecções terminais, não havendo disseminação.

QUADRO 30.3 Disseminação viral via corrente sanguínea^a

Tipo celular associado	Exemplos	
	Vírus de DNA	Vírus de RNA
Linfócitos	Vírus Epstein-Barr, citomegalovírus, vírus da hepatite B, vírus JC, vírus BK	Caxumba, sarampo, rubéola, vírus da imunodeficiência humana
Monócitos-macrófagos	Citomegalovírus	Poliovírus, vírus da imunodeficiência humana, vírus do sarampo
Neutrófilos		Vírus <i>influenza</i>
Hemácias	Parvovírus B19	Vírus da febre do carrapato do Colorado
Nenhum (livre no plasma)		Togavírus, picornavírus

^a Reproduzida, com autorização, de Tyler KL, Fields BN: Pathogenesis of viral infections. In Fields BN, Knipe DM, Howley PM et al (editors). *Fields Virology*, 3rd ed. Lippincott-Raven, 1996.

Resposta imunológica do hospedeiro

O resultado das infecções virais reflete a interação entre o vírus e os fatores do hospedeiro. Os mecanismos não específicos de resposta imunológica do hospedeiro em geral são estimulados logo após a ocorrência de uma infecção viral. Entre as respostas da imunidade inata, a mais proeminente é a indução de IFN (ver adiante). Essas respostas auxiliam na inibição do crescimento viral no momento em que o microrganismo induz a resposta imunológica humoral e mediada por células.

Tanto os componentes humorais quanto os celulares da resposta imunológica estão envolvidos no controle das infecções virais. Os vírus desencadeiam uma resposta tecidual diferente da resposta às bactérias patogênicas. Enquanto os leucócitos polimorfonucleares (PMN) constituem a principal resposta celular à inflamação aguda causada por bactérias piogênicas, a infiltração por células mononucleares e linfócitos caracteriza a reação inflamatória das lesões virais sem complicações.

As proteínas codificadas pelos vírus atuam como alvos da resposta imunológica. As células infectadas por vírus podem ser lisadas por linfócitos T citotóxicos em consequência do reconhecimento dos polipeptídeos virais na superfície celular. A imunidade humoral protege o hospedeiro contra reinfecção pelo mesmo vírus. Os anticorpos neutralizantes dirigidos contra as proteínas do capsídeo bloqueiam o desencadeamento da infecção viral, provavelmente no estágio de fixação, entrada ou desnudamento do vírus. O anticorpo IgA secretor é importante na proteção contra infecção por vírus através do trato respiratório ou gastrointestinal.

As características específicas de determinados vírus podem ter profundos efeitos sobre a resposta imunológica do hospedeiro. Alguns vírus infectam e lesam as células do sistema imunológico. O exemplo mais notável é o retrovírus humano associado à síndrome da imunodeficiência adquirida (Aids), que infecta os linfócitos T e destrói sua capacidade funcional (ver Cap. 44).

A suscetibilidade do hospedeiro e a resposta à infecção são determinadas geneticamente; essas diferenças são frequentes nos genes da resposta imunológica. Por exemplo, a suscetibilidade à bronquiolite desencadeada por meio de infecção pelo vírus sincicial respiratório foi associada aos genes da resposta imune inata.

Os vírus desenvolveram diversas maneiras que servem para suprimir a resposta imunológica do hospedeiro ou escapar dela, evitando, desta maneira, sua erradicação. Frequentemente, as proteínas virais envolvidas na modulação da resposta do hospedeiro não são essenciais para o crescimento do vírus em cultura de tecidos, sendo suas propriedades percebidas somente em experimentos de patogênese em modelos animais. Além de infectar células do sistema imunológico e inibir sua função (HIV), os vírus podem infectar neurônios que expressam pouco ou nenhuma molécula do complexo principal de histocompatibilidade classe I (*major histocompatibility complex I* [MHC I]) (herpes-vírus), ou podem codificar proteínas imunomodulatórias que inibem a função dos MHC (adenovírus, herpes-vírus), ou inibir a atividade das citocinas (sarampo, varíola). Os vírus podem sofrer mutações e modificar seus locais antigênicos ou proteínas do virion (vírus *influenza*, HIV), ou podem atenuar o nível de expressão de proteínas da superfície viral (herpes-vírus). Diferentes microRNAs virais podem direcionar transcrições celulares específicas, reprimindo, assim, diferentes proteínas integrais importantes na resposta imune inata do hospedeiro. A maioria dos vírus possui estratégias anti-IFN (ver adiante).

Foi observado outro tipo de distúrbio imunopatológico em seres humanos imunizados com vacinas contendo vírus mortos do sarampo ou vírus sincicial respiratório (não mais utilizadas). Alguns indivíduos desenvolveram respostas imunológicas singulares que trouxeram graves consequências quando mais tarde foram expostos ao vírus infectante de ocorrência natural. A febre hemorrágica da dengue com a síndrome do choque, a qual se desenvolve em indivíduos que já apresentaram pelo menos uma infecção anterior por outro sorotipo da dengue, pode representar uma manifestação natural do mesmo tipo de imunopatologia.

Outro efeito adverso potencial da resposta imunológica consiste no desenvolvimento de autoanticorpos. Se o antígeno viral induzir a produção de anticorpos que fortuitamente reconhecem um determinante antigênico sobre uma proteína celular nos tecidos normais, podem ocorrer lesão celular ou perda da função, sem qualquer relação com a infecção viral. Na atualidade, desconhece-se a magnitude deste problema potencial na doença humana.

Comparação entre a patogênese de uma doença viral cutânea e a de uma doença do sistema nervoso central

A Figura 30.3 ilustra a patogênese da varíola do camundongo, uma doença da pele, e a da poliomielite humana, uma doença do SNC. Ambos os vírus multiplicam-se no local primário de entrada, antes de sofrer disseminação sistêmica para os órgãos-alvo.

No camundongo, o vírus da varíola penetra no corpo através de minúsculas escoriações da pele e multiplica-se nas células epidérmicas. Ao mesmo tempo, é transportado pelos vasos linfáticos até os linfonodos regionais, onde também ocorre a multiplicação do vírus. As poucas partículas virais que

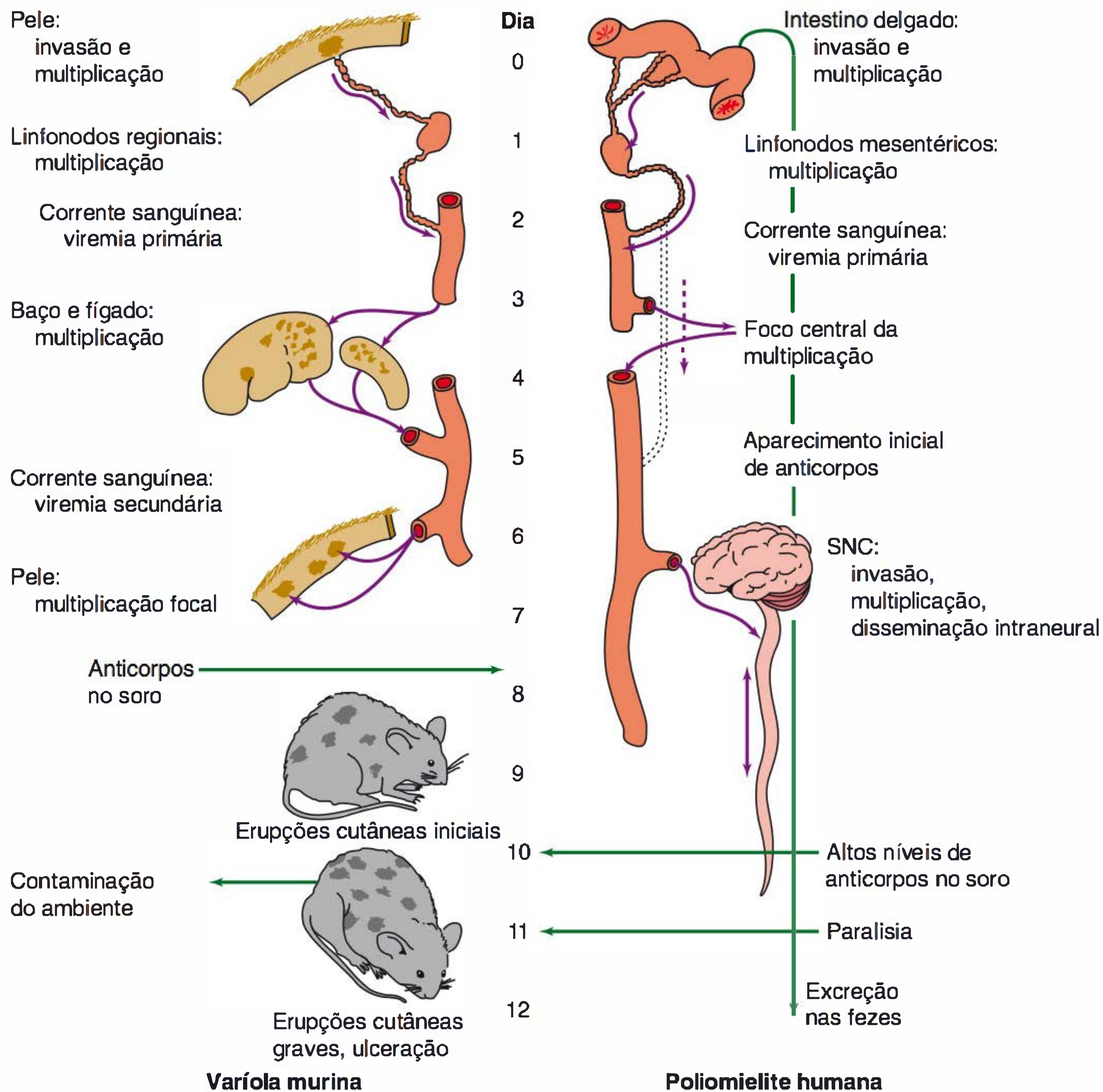


FIGURA 30.3 Ilustrações esquemáticas da patogênese da varíola murina e da poliomielite. SNC, sistema nervoso central. (Cortesia de F. Fenner.)

penetram no sangue através dos vasos linfáticos eferentes são capturadas pelos macrófagos do fígado e do baço, órgãos em que os vírus se multiplicam rapidamente. Após a liberação do fígado e do baço, o vírus segue seu trajeto através da corrente sanguínea e passa a localizar-se na camada epidérmica basal da pele, nas células da conjuntiva e próximo aos folículos linfáticos no intestino. Em certas ocasiões, também pode localizar-se nas células epiteliais dos rins, pulmões, glândulas submaxilares e pâncreas. Ocorre lesão primária no local de entrada do vírus, que se manifesta em forma de intumescimento localizado que aumenta rapidamente de tamanho, torna-se edematoso, sofre ulceração e prossegue até a formação de cicatriz. Em seguida, surge uma erupção generalizada, responsável pela liberação de grandes quantidades de vírus no ambiente.

Na poliomielite, o vírus penetra pelo trato alimentar, multiplica-se localmente nos locais iniciais de implantação viral (tonsilas, placas de Peyer) ou nos linfonodos que drenam esses tecidos, começando a aparecer na garganta e nas fezes. Ocorre propagação viral secundária, através da corrente sanguínea, para outros tecidos suscetíveis — especificamente outros linfonodos e o SNC, no interior do qual o vírus se propaga ao longo

das fibras nervosas. Se houver uma elevada taxa de multiplicação quando o vírus se propagar através do SNC, os neurônios motores serão destruídos, e ocorrerá paralisia. A disseminação do vírus no ambiente não depende da propagação viral secundária para o SNC. A propagação para o SNC é facilmente interrompida pela presença de anticorpos induzidos por infecção anterior ou vacinação.

Persistência viral: infecções virais crônicas e latentes

As infecções são **agudas** quando um vírus infecta pela primeira vez um hospedeiro suscetível. Em geral, as infecções virais são autolimitadas. Todavia, algumas vezes o vírus persiste por longo tempo no hospedeiro. A interação prolongada entre vírus e hospedeiro pode assumir várias formas. As **infecções crônicas** (também chamadas **infecções persistentes**) são aquelas em que o vírus replicante pode ser continuamente detectado, quase sempre em níveis baixos, podendo haver ou não sintomas clínicos leves. As **infecções latentes** são aquelas em que o vírus persiste em uma forma oculta (escondida ou críptica) na maior

parte do tempo quando não são produzidas novas partículas virais. Ocorrem exacerbações intermitentes da doença clínica, podendo o vírus infeccioso ser isolado durante essas exacerbações. As sequências virais podem ser detectadas por técnicas moleculares em tecidos com infecções latentes. As **infecções inaparentes ou subclínicas** são aquelas que não produzem sinais manifestos da presença do vírus.

Diversos vírus de animais provocam infecções crônicas, e a persistência, em certos casos, depende da idade do hospedeiro quando é infectado. Nos seres humanos, por exemplo, a infecção pelo vírus da rubéola e a infecção pelo citomegalovírus, quando contraídas *in utero*, caracteristicamente resultam em persistência limitada do vírus, provavelmente devido ao desenvolvimento da capacidade imunológica de reagir à infecção à medida que o lactente amadurece. Os lactentes infectados pelo vírus da hepatite B com frequência apresentam infecção persistente (portadores crônicos), sendo a maioria dos portadores assintomática (ver Cap. 35). Nas infecções crônicas por vírus do RNA, a população viral às vezes sofre várias alterações genéticas e antigênicas.

Em geral, os herpes-vírus provocam infecções latentes. Os herpes-vírus simples penetram nos gânglios sensoriais e persistem em um estado não infeccioso (Fig. 30.4). Podem ocorrer reativações periódicas, durante as quais surgem lesões que contêm vírus infecciosos em locais periféricos (p. ex., vesículas

febris). O vírus da varicela (varicela-zóster) também se torna latente nos gânglios sensoriais. As recidivas, que são raras, ocorrem depois de vários anos, seguindo habitualmente a distribuição de um nervo periférico (zóster). Outros membros da família dos herpes-vírus também estabelecem infecções latentes, como o citomegalovírus e o vírus Epstein-Barr. Todos esses vírus podem ser reativados por imunossupressão. Por conseguinte, as infecções reativadas por herpes-vírus podem representar uma grave complicação em indivíduos submetidos à terapia imunossupressora.

As infecções virais persistentes podem desempenhar um papel muito importante na doença humana. As infecções virais persistentes estão associadas a certos tipos de câncer nos seres humanos (ver Cap. 43), bem como a doenças degenerativas progressivas do SNC de seres humanos (ver Cap. 42). A Figura 30.5 traz exemplos de diferentes tipos de infecção viral persistente.

As encefalopatias espongiiformes formam um grupo de infecções crônicas, progressivas e fatais do SNC causadas por agentes não convencionais transmissíveis, denominados príons (ver Cap. 42) e que não são considerados vírus. Os melhores exemplos desse tipo de infecção por vírus “lento” são o distúrbio degenerativo do SNC (*scrapie*) em carneiros, a encefalopatia espongiiforme bovina no gado, bem como o kuru e a doença de Creutzfeldt-Jakob que ocorrem em seres humanos.

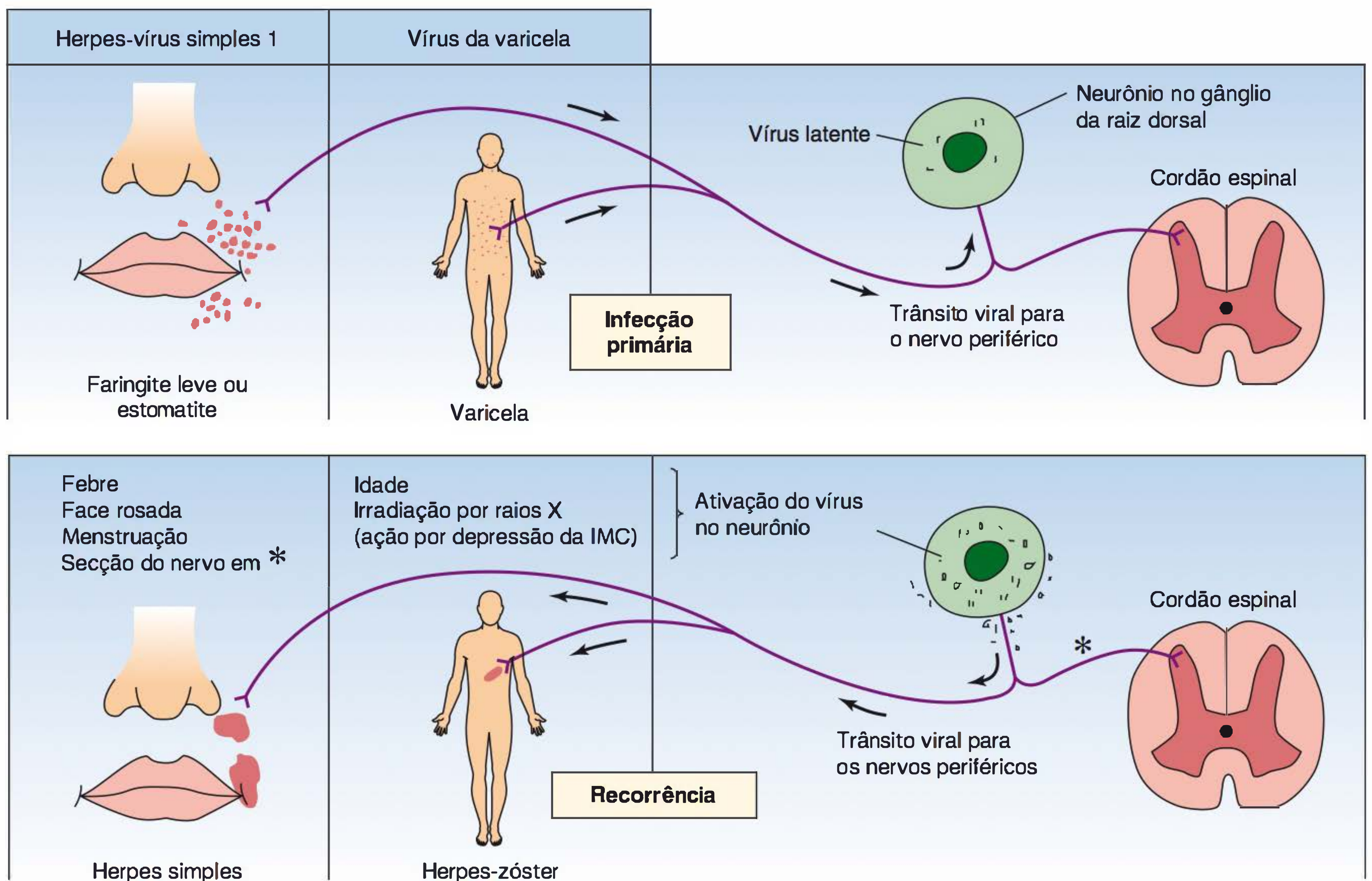


FIGURA 30.4 Infecções latentes por herpes-vírus. São apresentados exemplos do herpes-vírus simples e do vírus varicela-zóster. Ocorrem infecções primárias na infância ou na adolescência, seguidas pelo estabelecimento do vírus latente em gânglios cerebrais ou espinhais. A ativação subsequente provoca herpes simples ou herpes-zóster recorrente. As recidivas são raras no caso do zóster. IMC, imunidade mediada por células. (Reproduzida, com autorização, de Mims CA, White DO: *Viral Pathogenesis and Immunology*. Blackwell, 1984.)

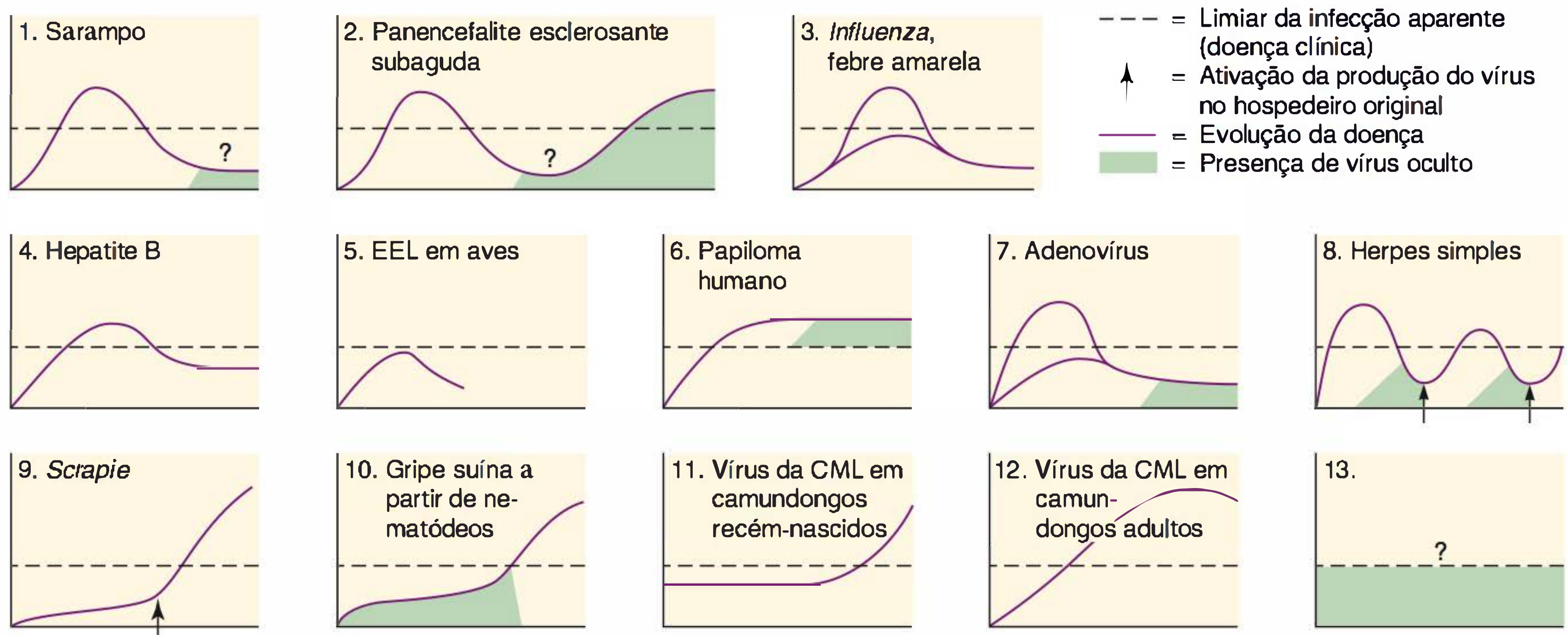


FIGURA 30.5 Diferentes tipos de interação entre vírus e hospedeiro: infecção aparente (doença clínica), inaparente (subclínica), crônica, latente, oculta e lenta. (1) O sarampo segue uma evolução aguda e quase sempre clinicamente aparente, que resulta em imunidade duradoura. (2) O sarampo também pode estar associado à persistência de infecção latente na panencefalite esclerosante subaguda (ver Cap. 40). (3) A febre amarela e a *influenza* obedecem a um padrão semelhante ao do sarampo, exceto quanto ao fato de que a infecção pode ser com mais frequência subclínica, do que clínica. (4) Na hepatite viral tipo B, a recuperação da doença clínica pode estar associada à infecção crônica, caracterizada por persistência do vírus totalmente ativo no sangue. (5) Algumas infecções são, em determinadas espécies, sempre subclínicas, como a encefalomielite equina do leste (EEL) em algumas espécies de aves, que funcionam então como reservatório do vírus. (6) No papiloma humano, a evolução da infecção é crônica, quando o câncer cervical se desenvolve e o vírus está oculto (não replicante). (7) A infecção de seres humanos por determinados adenovírus pode ser clínica ou subclínica. Pode ocorrer infecção latente prolongada, durante a qual o vírus é encontrado em pequenas quantidades; os vírus também podem persistir após a doença. (8) A reativação periódica do herpes-vírus simples latente, que pode sofrer recidiva durante toda a vida nos seres humanos, ocorre com frequência depois de um episódio agudo inicial de estomatite na infância. (9) A infecção pode permanecer latente durante longo tempo, antes de ser ativada. São exemplos dessas infecções "lentas", caracterizadas por longos períodos de incubação, o *scrapie* em carneiros e o kuru em seres humanos (que se acredita que sejam causados por príons, não por vírus). (10) Em suínos que ingeriram nematódeos pulmonares contendo vírus, a gripe suína permanece oculta até que o estímulo apropriado induza a produção de vírus e, por sua vez, doença clínica. (11) O vírus da coriomeningite linfocítica (CML) pode estabelecer-se em camundongos mediante infecção *in utero*. Verifica-se o desenvolvimento de uma forma de tolerância imunológica, em que não ocorre a ativação das células T específicas do vírus. Ocorre a produção de anticorpos contra as proteínas virais; esses anticorpos e o vírus da CML circulante formam complexos de antígeno-anticorpo, que provocam doença por imunocomplexos no hospedeiro. A presença do vírus da CML em tal infecção crônica (vírus circulante com doença leve ou inaparente) pode ser revelada por transmissão a um hospedeiro indicador, como, por exemplo, camundongos adultos isentos de vírus. (12) Todos os camundongos adultos desenvolvem os sintomas agudos clássicos da CML e com frequência morrem. (13) Possibilidade de infecção latente por vírus oculto não facilmente ativado. A prova da presença desses vírus continua sendo uma tarefa difícil que, entretanto, está atraindo a atenção de pesquisadores do câncer (ver Cap. 43).

Resumo das infecções respiratórias virais agudas

Muitos tipos de vírus têm acesso ao corpo humano através do trato respiratório, principalmente em forma de perdigotos ou saliva. Trata-se da via mais frequente de entrada dos vírus no hospedeiro. Ocorre infecção bem-sucedida apesar dos mecanismos protetores normais do hospedeiro, inclusive o muco que recobre a maioria das superfícies, a ação ciliar, as coleções de células linfoides, os macrófagos alveolares e a IgA secretora. Muitas infecções permanecem localizadas no trato respiratório, embora alguns vírus provoquem sintomas característicos de doença após disseminação sistêmica (p. ex., varicela, sarampo, rubéola; Quadro 30.2, Figura 30.2).

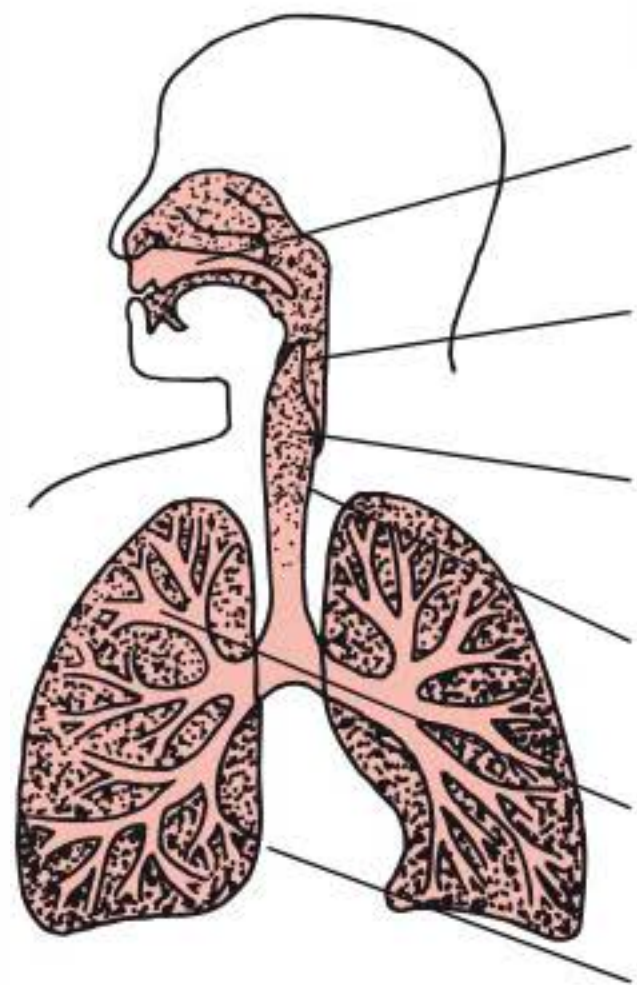
As infecções respiratórias impõem grande impacto negativo em todo o mundo, sendo uma das principais causas de morbidade e de mortalidade em crianças menores de 5 anos, superando o percentual das doenças gastrointestinais (segunda causa mundial).

Os sintomas de doença exibidos pelo hospedeiro dependem de a infecção estar concentrada no trato respiratório superior ou no inferior (Quadro 30.4). Apesar de o diagnóstico definitivo exigir isolamento do vírus, a identificação de uma sequência gênica viral ou a demonstração de elevação nos títulos de anticorpos, frequentemente se pode deduzir a doença viral específica com base nos principais sintomas observados, na idade do paciente, na época do ano e em qualquer padrão da doença na comunidade.

A gravidade da infecção respiratória pode variar desde inaparente até fulminante. Em geral, a doença mais grave é observada em lactentes infectados por determinados paramixovírus e em indivíduos idosos ou adultos cronicamente doentes infectados pelo vírus *influenza*.

Resumo das infecções virais do trato gastrointestinal

Muitos vírus iniciam a infecção através do trato alimentar. Alguns poucos agentes, como o herpes-vírus simples e o vírus

QUADRO 30.4 Infecções virais do trato respiratório

Síndromes	Principais sintomas	Causas virais mais comuns ^a		
		Bebês	Crianças	Adultos
Resfriado comum	Obstrução nasal, corrimento nasal	Rino Adeno	Rino Adeno	Rino Corona
Faringite	Dor de garganta	Adeno Herpes simples	Adeno Coxsackie	Adeno Coxsackie
Laringite/crupe	Rouquidão, tosse "de cachorro"	<i>Parainfluenza</i> <i>Influenza</i>	<i>Parainfluenza</i> <i>Influenza</i>	<i>Parainfluenza</i> <i>Influenza</i>
Traqueobronquite	Tosse	<i>Parainfluenza</i> <i>Influenza</i>	<i>Parainfluenza</i> <i>Influenza</i>	<i>Influenza</i> Adeno
Bronquiolite	Tosse, dispneia	Sincicial respiratório <i>Parainfluenza</i>	Rara	Rara
Pneumonia	Tosse, dor no peito	Sincicial respiratório <i>Influenza</i>	<i>Influenza</i> <i>Parainfluenza</i>	<i>Influenza</i> Adeno

^aVírus respiratórios mais comumente reportados variam, dependendo do tipo de estudo, da população estudada, dos métodos de detecção e de outros fatores (p. ex., época do ano).

Epstein-Barr, provavelmente infectam as células da boca. Os vírus no trato intestinal são expostos a elementos adstringentes envolvidos na digestão dos alimentos — ácido, sais biliares (detergentes) e enzimas proteolíticas. Em consequência, todos os vírus capazes de iniciar uma infecção por essa via mostram-se resistentes aos ácidos e sais biliares. Além disso, os vírus também podem deparar-se com a presença da IgA secretora específica do vírus e com inibidores inespecíficos da replicação viral.

Gastrenterite aguda é a expressão utilizada para designar uma doença gastrointestinal de curta duração com sintomas que variam desde diarreia aquosa leve até doença febril grave, caracterizada por vômitos, diarreia e prostração. Os rotavírus, o norovírus e os calicivírus constituem as principais causas da gastrenterite. Lactentes e crianças em geral são acometidos com maior frequência.

Alguns vírus causadores de infecções entéricas utilizam proteases do hospedeiro para facilitar a infecção. Em geral, a digestão proteolítica altera o capsídeo viral por clivagem parcial de uma proteína de superfície viral, que facilita a ocorrência de um evento específico, como a fixação do vírus ou a fusão com a membrana.

Os enterovírus, os coronavírus e os adenovírus também infectam o trato gastrointestinal, todavia, essas infecções com frequência são assintomáticas. Alguns enterovírus, especialmente os poliovírus e o vírus da hepatite A, constituem importantes causas de doença sistêmica, mas não acarretam sintomas intestinais.

Resumo das infecções cutâneas virais

A pele atua como barreira firme e impermeável à entrada de vírus. Todavia, alguns vírus são capazes de romper essa barreira e iniciar uma infecção no hospedeiro (Quadro 30.2). Certos vírus penetram no corpo através de pequenas escoriações da pele (poxvírus, papilomavírus, herpes-vírus simples), enquanto outros são introduzidos pela picada de artrópodes vetores (arbovírus) ou hospedeiros vertebrados infectados (vírus da raiva, vírus da hepatite B), e outros, ainda, são inoculados durante

transfusões sanguíneas ou outras manipulações que envolvem agulhas contaminadas, como acupuntura e tatuagem (vírus da hepatite B, HIV). Várias espécies de poliomavírus, incluindo o vírus das células de Merkel, têm sido detectadas na pele. Contudo, é ainda desconhecido como esses poliomavírus iniciam um processo infeccioso.

Alguns poucos agentes permanecem localizados e causam lesões no local de entrada (papilomavírus e molusco contagioso); contudo, a maioria propaga-se para outros locais. A camada epidérmica é destituída de vasos sanguíneos e fibras nervosas, de modo que os vírus que infectam células epidérmicas tendem a permanecer localizados. Os vírus introduzidos mais profundamente na derme têm acesso aos vasos sanguíneos, linfáticos, células dendríticas e macrófagos, e em geral se propagam, causando infecções sistêmicas.

Muitas das erupções cutâneas generalizadas, associadas a infecções virais, surgem em consequência da propagação do vírus para a pele através da corrente sanguínea, após sua replicação em algum outro local. Essas infecções originam-se por outra via (p. ex., as infecções pelo vírus do sarampo ocorrem através do trato respiratório), de modo que a pele se torna infectada a partir do meio interno.

As lesões nas erupções cutâneas são denominadas máculas, pápulas, vesículas ou pústulas. As máculas, causadas por dilatação local de vasos sanguíneos da derme, evoluirão para pápulas se houver edema e infiltração celular na área. Ocorrem vesículas quando a epiderme é afetada; as vesículas se transformarão em pústulas se a reação inflamatória atrair leucócitos PMN para a lesão. Em seguida, verifica-se a formação de úlceras e crostas. Ocorrem erupções hemorrágicas e petequiais quando há o comprometimento mais grave dos vasos da derme.

Com frequência, as lesões cutâneas não desempenham papel algum na transmissão dos vírus. O vírus infeccioso não é eliminado a partir da erupção maculopapular do sarampo ou das erupções associadas às infecções por arbovírus. Já as lesões cutâneas são importantes na disseminação dos poxvírus e do herpes-vírus simples. Verifica-se a presença de partículas virais infecciosas em títulos elevados no líquido dessas erupções vesicopustulares, sendo tais partículas capazes de dar início à

infecção por contato direto com outros hospedeiros. Todavia, mesmo nesses casos, acredita-se que os virions nas secreções orofaríngeas podem ser mais importantes para a transmissão da doença do que as lesões cutâneas.

Resumo das infecções virais do sistema nervoso central

A invasão do SNC por vírus é sempre um problema grave. Os vírus podem alcançar o cérebro por duas vias: pela corrente sanguínea (disseminação hematogênica) e pelas fibras nervosas periféricas (disseminação neuronal). Pode ocorrer o acesso do vírus, a partir do sangue, por crescimento no endotélio dos pequenos vasos cerebrais, transporte passivo através do endotélio vascular, passagem para o líquido cerebrospinal (LCS) através do plexo coroide ou transporte no interior de monócitos, leucócitos ou linfócitos infectados. Uma vez rompida a barreira hematoencefálica, é possível ocorrer disseminação mais extensa por todo o cérebro e a medula espinal. Existe tendência a haver uma correlação entre o nível de viremia alcançado por um vírus neurotrópico transportado pelo sangue e a sua capacidade de invasão neural.

A outra via de acesso ao SNC é fornecida pelos nervos periféricos. Os virions podem ser captados nas terminações motoras ou nervosas sensoriais e transportados no interior dos axônios, através dos espaços endoneurais, ou por infecção das células de Schwann. Os herpes-vírus são transportados em axônios, sendo liberados nos neurônios dos gânglios das raízes dorsais.

As vias de propagação não se mostram mutuamente excludentes, de modo que um vírus pode utilizar mais de uma dessas vias. Muitos vírus, como o herpes-vírus, togavírus, flavivírus, enterovírus, rabdovírus, paramixovírus e bunivírus, podem infectar o SNC e provocar meningite, encefalite ou ambas. A encefalite provocada pelo herpes-vírus simples constitui a causa mais comum de encefalite esporádica em seres humanos.

As reações patológicas a infecções virais por citocidas do SNC consistem em necrose, inflamação e fagocitose por células gliais. A causa dos sintomas em algumas outras infecções do SNC, como a raiva, não está bem elucidada. A encefalite pós-infecciosa, que ocorre após o sarampo (cerca de 1 em 1.000 casos) e, mais raramente, após a rubéola, caracteriza-se por desmielinização sem degeneração neuronal, constituindo provavelmente doença autoimune.

Existem vários distúrbios neurodegenerativos raros, denominados infecções por vírus lentos, que são uniformemente fatais. Essas infecções caracterizam-se por um longo período de incubação (meses a anos), seguido de início da doença clínica e deterioração progressiva, resultando em morte em semanas a meses. Em geral, apenas o SNC é acometido. Algumas infecções por vírus lento, como a leucoencefalopatia multifocal progressiva (poliomavírus JC) e a panencefalite esclerosante subaguda (vírus do sarampo), são provocadas por vírus típicos. Diferentemente, as encefalopatias espongiiformes subagudas, exemplificadas pelo *scrapie*, são as doenças priônicas, causadas por agentes não convencionais conhecidos como príons. Nessas infecções, ocorrem alterações neuropatológicas características, porém não se observa qualquer resposta inflamatória ou imunológica. O

poliomavírus JC causa infecções sintomáticas, assintomáticas e crônicas, que são normalmente controladas pelo sistema imunológico competente. Contudo, em condições de imunossupressão, devido ao tratamento médico, ou por infecção por HIV, por exemplo, esse vírus escapa do controle imune, causando doença neurológica grave.

Resumo das infecções virais congênitas

Poucos vírus causam doença no feto humano. A maioria das infecções virais maternas não resulta em viremia e comprometimento fetal. Entretanto, se o vírus atravessar a placenta e ocorrer infecção *in utero*, o feto poderá sofrer lesão grave.

Os três princípios envolvidos na produção de defeitos congênitos são: (1) a capacidade do vírus de infectar a mulher grávida e ser transmitido ao feto; (2) o estágio da gestação em que ocorre a infecção; e (3) a capacidade do vírus de causar lesão diretamente ao feto (por infecção fetal) ou indiretamente, (por infecção da mãe) com a consequente alteração do ambiente fetal (p. ex., febre). A Figura 30.6 mostra a sequência dos eventos que podem ocorrer antes e depois da invasão viral do feto.

Na atualidade, o vírus da rubéola e o citomegalovírus constituem os agentes primários responsáveis por defeitos congênitos em seres humanos (ver Caps. 33 e 40). Além disso, podem ocorrer infecções congênitas pelo herpes-vírus simples, vírus varicela-zóster, vírus da hepatite B, vírus do sarampo, vírus da caxumba e HIV, parvovírus e alguns enterovírus (Quadro 30.5).

As infecções *in utero* podem resultar em morte fetal, nascimento prematuro, atraso do crescimento intrauterino ou infecção pós-natal persistente. Em consequência, podem ocorrer malformações de desenvolvimento, como defeitos cardíacos congênitos, catarata, surdez, microcefalia e hipoplasia dos membros. O tecido fetal prolifera rapidamente. A



FIGURA 30.6 Infecção viral do feto. (Cortesia de L Catalano e J Sever.)

QUADRO 30.5 Aquisição de infecções perinatais importantes

Vírus	Frequência do tempo de infecção			Incidência neonatal (por 1.000 nascidos vivos)
	Pré-natal (no útero)	Natal (durante o nascimento)	Pós-natal (após o nascimento)	
Rubéola	+	-	Rara	0,1 a 0,7
Citomegalovírus	+	++	+	5 a 25
Herpes simples	+	++	+	0,03 a 0,5
Varicela-zóster	+	Rara	Rara	Rara
Hepatite B	+	++	+	0 a 7
Enterovírus	+	++	+	Incomum
HIV	+	++	Rara	Variável
Parvovírus B19	+	-	Rara	Rara

infecção e a multiplicação do vírus podem destruir as células ou alterar sua função. Os vírus líticos, como o herpes-vírus simples, podem resultar em morte fetal. Os vírus menos citolíticos, como o da rubéola, podem reduzir a velocidade de divisão celular. Se isso ocorrer durante uma fase crítica do desenvolvimento dos órgãos, poderão surgir defeitos estruturais e anomalias congênitas.

Muitos desses vírus podem provocar doença grave em recém-nascidos (Quadro 30.5). Tais infecções podem ser contraídas da mãe, durante o parto (natais), a partir de secreções genitais, fezes ou sangue contaminados. Com menor frequência, as infecções podem ser adquiridas, durante as primeiras semanas após o parto (pós-natais), de fontes maternas, membros da família, da equipe hospitalar ou de transfusões de sangue. O HIV pode ser transmitido pelo leite materno produzido por mães infectadas.

Efeito da idade do hospedeiro

A idade do hospedeiro representa um fator na patogenidade viral. As formas mais graves de doença são com frequência induzidas em recém-nascidos. Além da maturação da resposta imunológica com a idade, parecem existir alterações relacionadas com a idade na suscetibilidade de determinados tipos de célula à infecção viral. Em geral, podem ocorrer infecções virais em todos os grupos etários, embora possam ter maior impacto em diferentes momentos da vida. São exemplos a rubéola, que é mais grave durante a gestação; a infecção por rotavírus, de maior gravidade em lactentes; e a encefalite de St. Louis, mais grave no idoso.

Diagnóstico das infecções virais

Há diferentes modos nos quais as infecções virais podem ser diagnosticadas (Fig. 30.7) (ver Cap. 47). Os principais métodos usados hoje são os métodos rápidos. Esses métodos incluem a detecção de antígenos, usando anticorpos monoclonais

específicos para diferentes antígenos virais*, testes de reação de cadeia polimerase (*polymerase chain reaction* [PCR]) e sondas genéticas para a detecção de sequências específicas no genoma viral. Os testes de PCR podem ser multiplex, permitindo a detecção de múltiplos vírus simultaneamente. A cultura das partículas virais e os testes sorológicos clássicos fornecem resultados de forma mais demorada, porém são úteis no estudo epidemiológico. Em um futuro próximo, tecnologias baseadas no ácido nucleico, usando, por exemplo, técnica de microarranjo de alta densidade (*microarray*)**, provavelmente mudarão a abordagem do diagnóstico viral. Nesse momento, o conhecimento do específico agente viral associado a uma determinada patologia em geral não altera a conduta terapêutica preconizada.

PREVENÇÃO E TRATAMENTO DAS INFECÇÕES VIRAIS

Quimioterapia antiviral

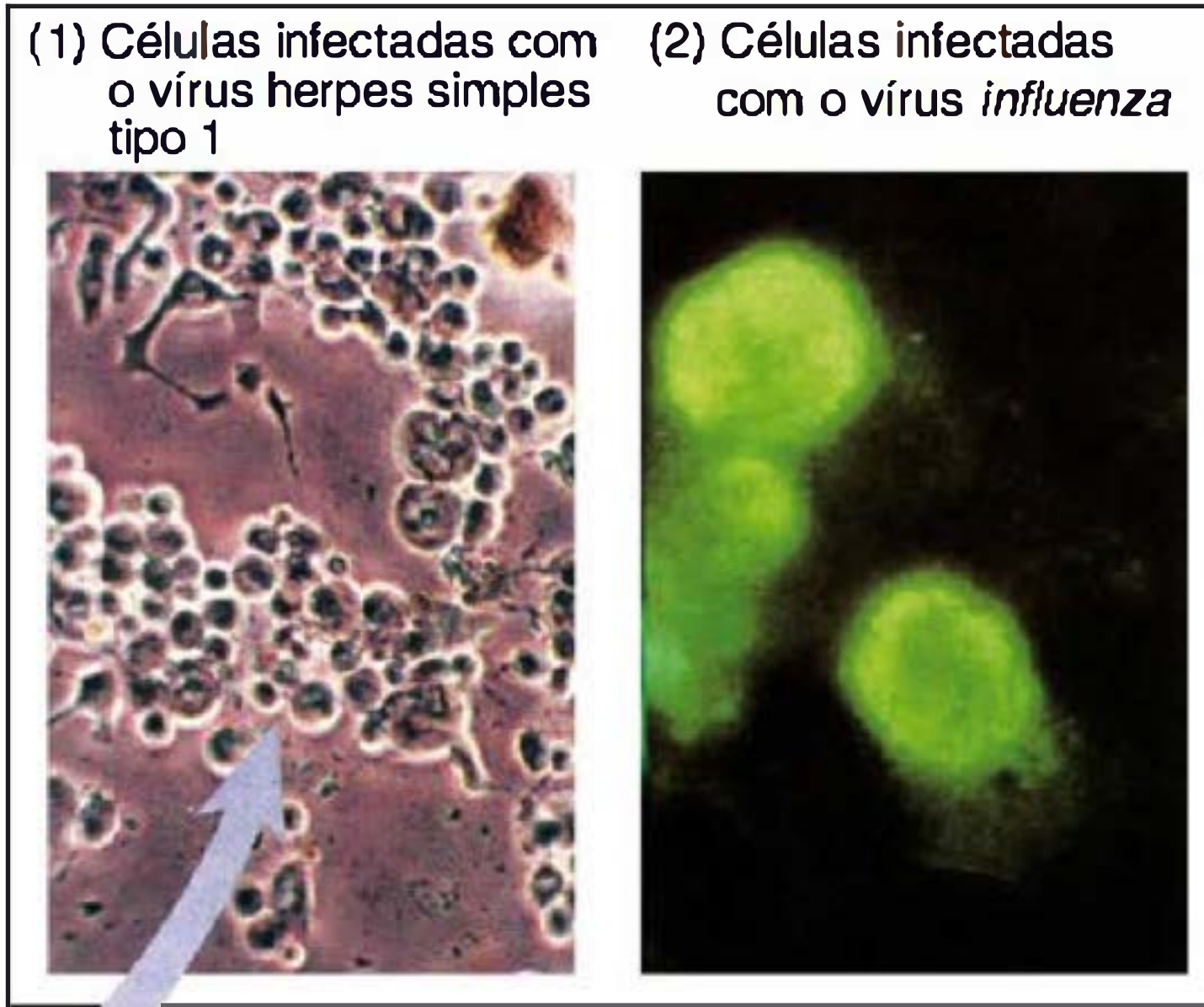
Diferente dos vírus, as bactérias e os protozoários não dependem do mecanismo celular do hospedeiro para sua multiplicação, de modo que os processos específicos desses microrganismos provêm alvos fáceis para o desenvolvimento de antibacterianos e antiprotozoários. Como os vírus são parasitos intracelulares obrigatórios, os antivirais devem ser capazes de inibir seletivamente as funções virais sem lesar o hospedeiro, tornando o desenvolvimento de tais fármacos bastante difícil. Outra limitação é que muitos ciclos de replicação viral ocorrem durante o período de incubação, e o vírus dissemina-se antes de surgirem os sintomas, tornando o tratamento com fármacos relativamente ineficaz.

* N. de R.T. Uma técnica importante é a imunocromatografia, que está sendo utilizada como alternativa aos métodos tradicionais, pois concentra a reação Ag-Ac em uma única fase sólida, que é mantida e utilizada em temperatura ambiente, proporcionando melhor praticidade no seu uso. Além disso, ao contrário dos testes convencionais que em geral levam horas, a imunocromatografia produz um resultado em geral entre 10 e 30 minutos, sendo assim, um teste rápido, podendo ser utilizado como teste de rastreamento. Outra vantagem é a alta sensibilidade e especificidade semelhantes aos testes de Elisa de 3ª geração e com o custo mais baixo. Estes testes também não exigem equipamento ou treinamento específico complicado para sua realização ou interpretação. Isso significa que o teste muitas vezes pode ser realizado pelo próprio agente de saúde, dispensando o envio do material biológico para centros de saúde especializados. O teste de imunocromatografia para HIV, por exemplo, usa uma combinação de proteínas recombinantes dos vírus HIV-1 e HIV-2, imobilizada na nitrocelulose (região teste) para detecção de anticorpos anti-HIV em sangue ou soro do indivíduo. Os anticorpos presentes nas amostras se ligam a anticorpos monoclonais anti-IgG e anti-IgM humanas marcados. O complexo, que flui pela membrana, se liga aos antígenos (gp41 e gp36) na área T, formando uma banda rosa clara.

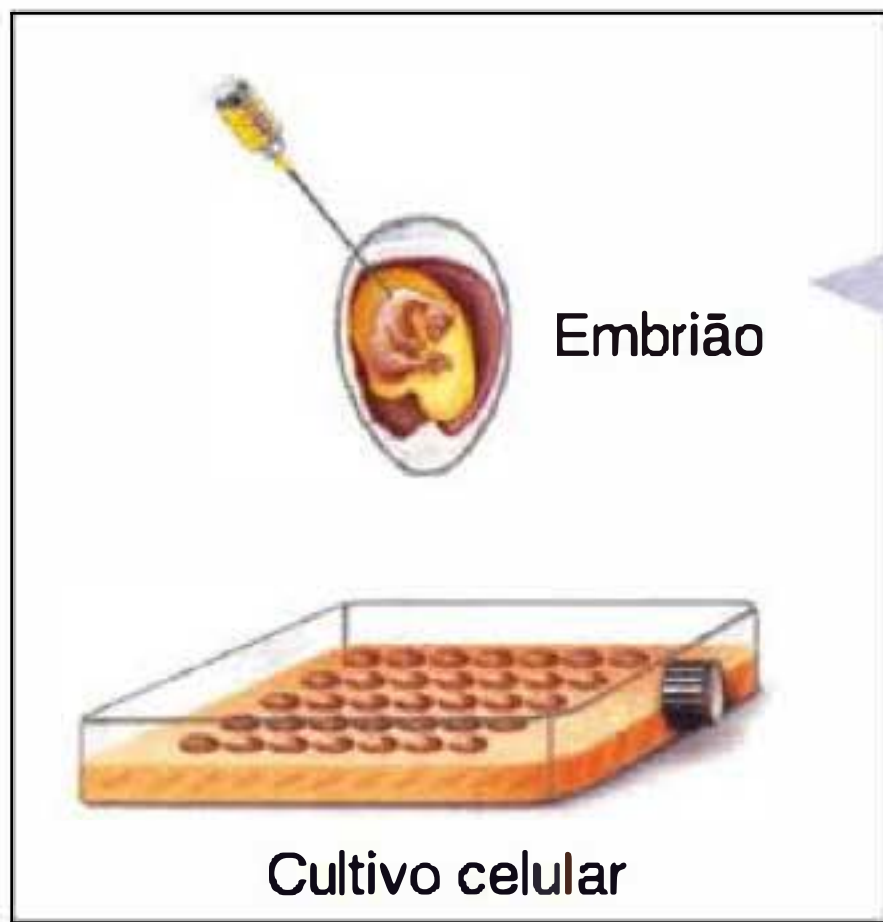
** N. de R.T. Microarranjo, é uma técnica que detecta os níveis de expressão de transcritos em larga escala, ou seja, medindo muitos (em alguns casos todos os) transcritos simultaneamente. Um microarranjo, ou DNA-chip, consiste em um arranjo pré-definido de moléculas de DNA (fragmentos de DNA genômico, cDNAs ou oligonucleotídeos) quimicamente ligadas à uma superfície sólida, usualmente lâminas de microscópio revestidas com compostos que conferem carga positiva. Os microarranjos também podem ser preparados em membranas de náilon positivamente carregadas. Esses microarranjos são utilizados na detecção e quantificação de ácidos nucleicos (RNAm na forma de cDNA ou DNA genômico) provenientes de amostras biológicas, as quais são postas para hibridar com o DNA fixado no *array* (hibridação por complementariedade de bases). A detecção é possível pois as amostras são marcadas com fluorocromos cianina 3 (Cy3) ou cianina 5 (Cy5).



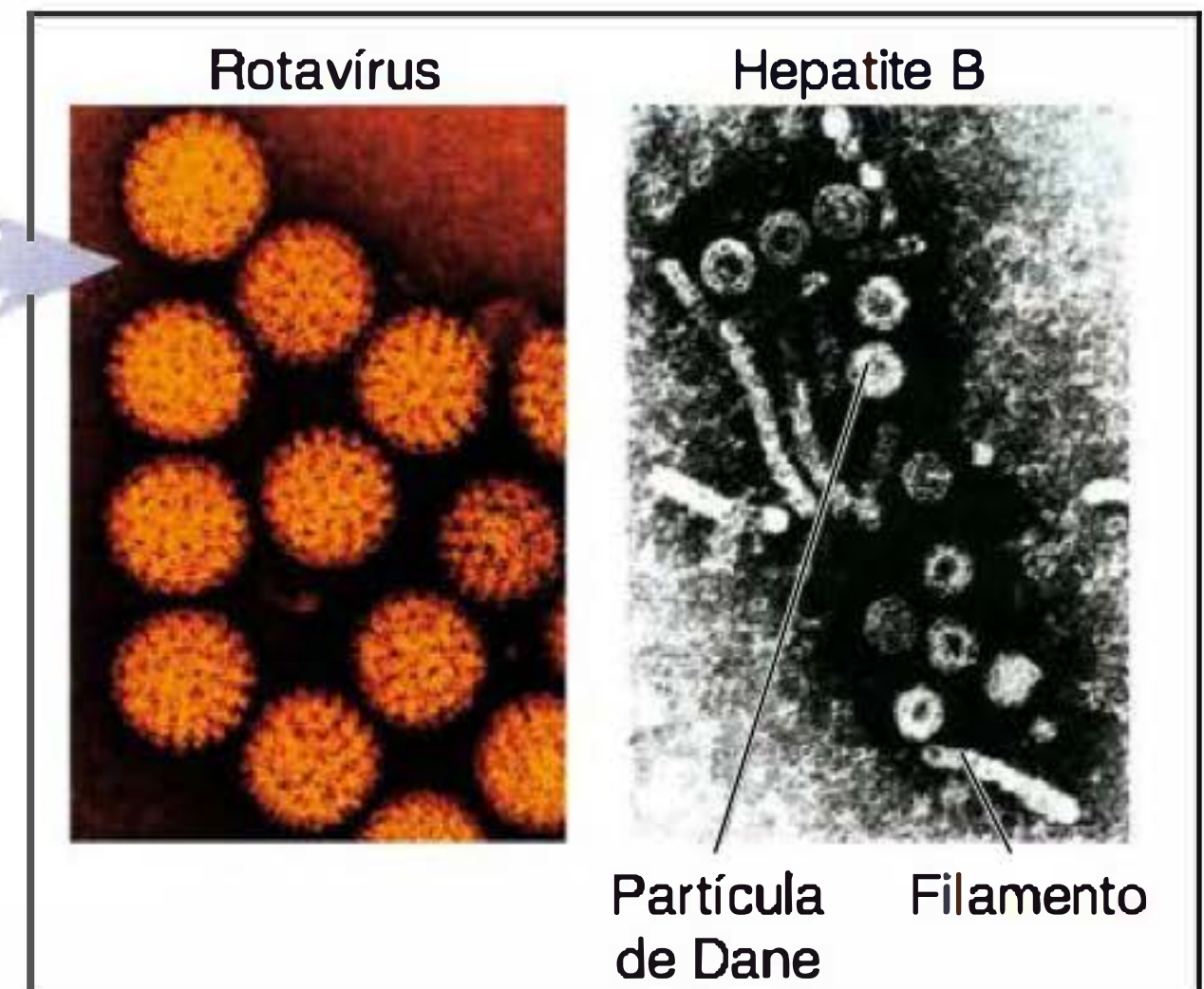
Sinais e sintomas: Manifestações clínicas típicas da infecção viral podem ser observadas no paciente. Nesse caso, a figura revela lesões típicas do vírus herpes simples tipo 1.



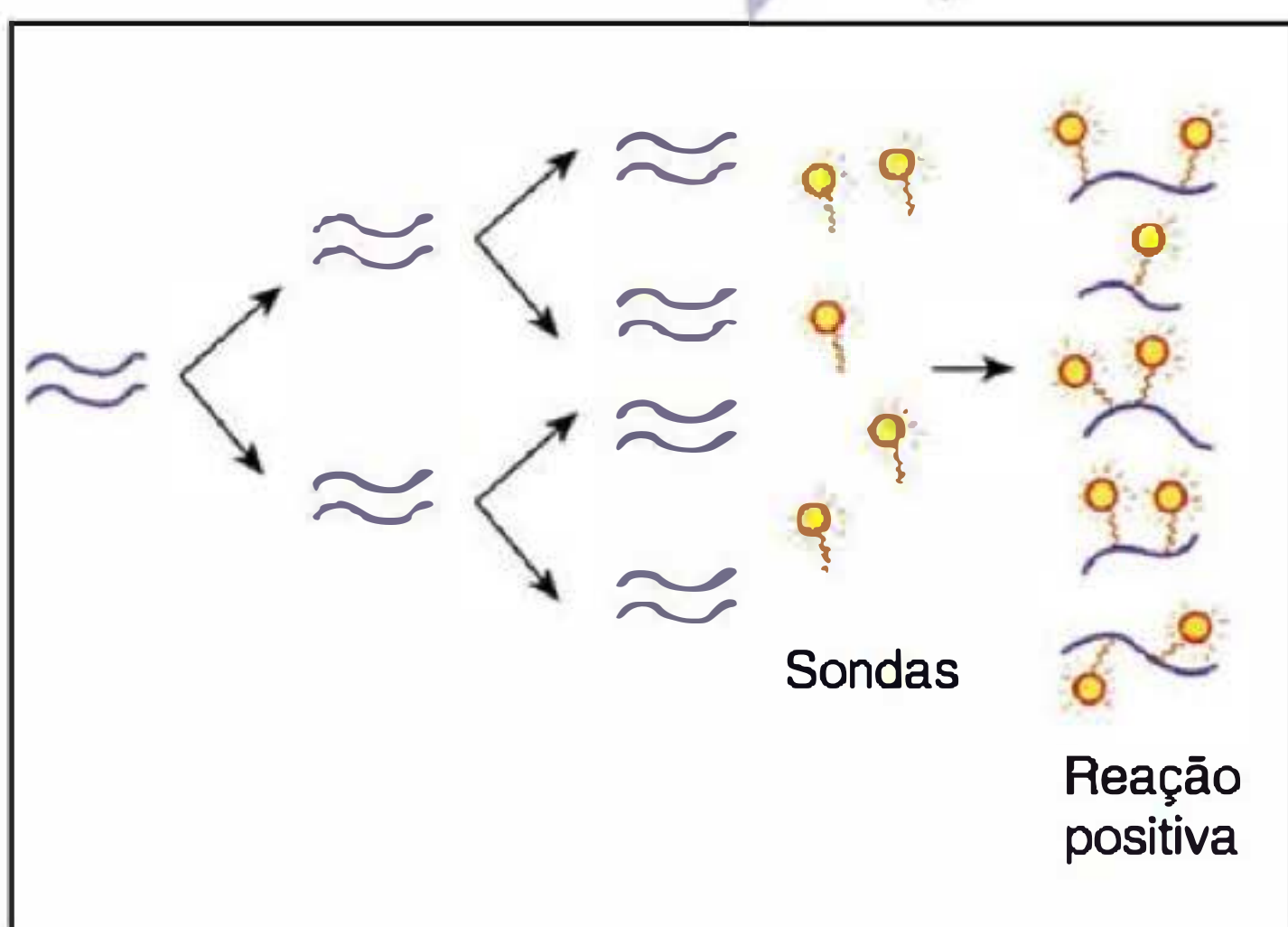
Células coletadas do paciente (espécime clínico) são examinadas buscando evidências de infecção viral, tais como efeito citopático (1) ou detecção de antígenos virais na superfície da célula hospedeira (p. ex., por imunofluorescência) (2).



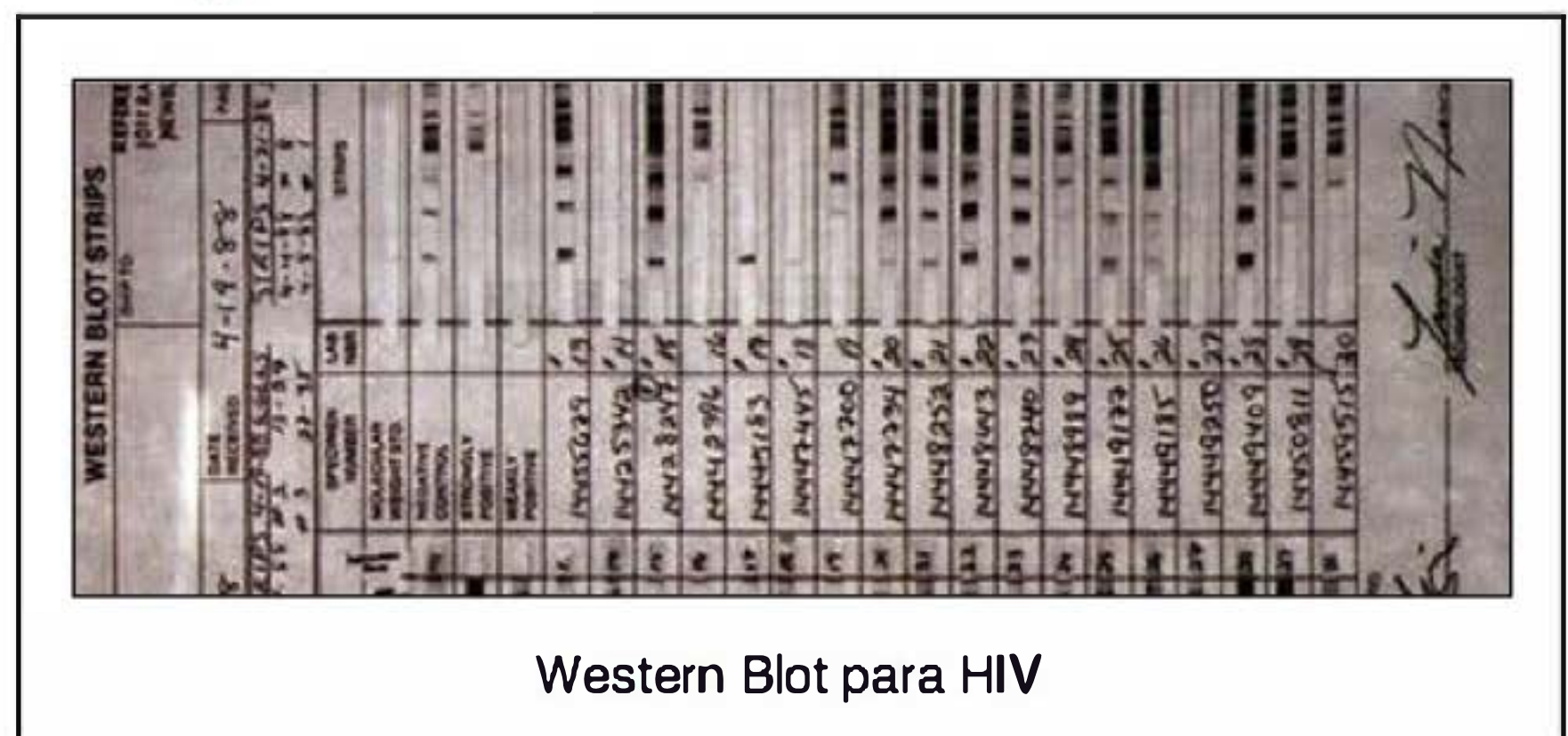
Técnicas de cultivo. Os vírus requerem um hospedeiro vivo para se multiplicar.



A microscopia eletrônica é usada para observação direta do vírus. Os vírus apresentam uma estrutura única que pode ser usada na sua diferenciação em família ou gênero.



Análise genética da reação em cadeia da polimerase (PCR): detecção do ácido nucleico viral usando sondas específicas.



Testes sorológicos para detecção de anticorpos específicos.

FIGURA 30.7 Sumário dos métodos usados no diagnóstico das infecções virais. Testes de detecção de antígenos e ensaios de ácido nucleicos estão entre os testes mais comuns usados no diagnóstico laboratorial, uma vez que os resultados podem ser obtidos de forma rápida. (Reproduzido, com autorização, de Talaro KP: *Foundations in Microbiology: Basic Principles*, 6th ed. McGraw-Hill, 2008. © The McGraw-Hill Companies, Inc.)

QUADRO 30.6 Exemplos de compostos antivirais usados no tratamento de infecções virais

Fármaco	Análogo do nucleosídeo	Mecanismo de ação	Espectro viral
Aciclovir	Sim	Inibidor da polimerase viral	Herpes simples, varicela-zóster
Amantadina	Não	Bloqueio do desnudamento viral	<i>Influenza A</i>
Cidofovir	Não	Inibidor da polimerase viral	Citomegalovírus, herpes simples, poliomavírus
Didanosina (ddl)	Sim	Inibidor da transcriptase reversa	HIV-1, HIV-2
Entecavir	Sim	Inibidor da transcriptase reversa	HBV
Foscarnete	Não	Inibidor da polimerase viral	Herpes-vírus, HIV-1, HBV
Fuzeon	Não	Inibidor da fusão do HIV (bloqueia a entrada viral)	HIV-1
Ganciclovir	Sim	Inibidor da polimerase viral	Citomegalovírus
Indinavir	Não	Inibidor da protease do HIV	HIV-1, HIV-2
Lamivudina (3TC)	Sim	Inibidor da transcriptase reversa	HIV-1, HIV-2, HBV
Lopinavir	Não	Inibidor da protease do HIV	HIV-1
Maraviroc	Não	Inibidor de entrada (bloqueia a ligação com CCR5)	HIV-1
Nevirapina	Não	Inibidor da transcriptase reversa	HIV-1
Osetamivir	Não	Inibidor da neuraminidase viral	<i>Influenza A e B</i>
Raltegravir	Não	Inibidor da integrase	HIV-1
Ribavirina	Sim	Talvez bloqueie a cobertura do RNAm viral	Vírus sincicial respiratório, <i>influenza A e B</i> , febre de Lassa, hepatite C, outros
Ritonavir	Não	Inibidor da protease do HIV	HIV-1, HIV-2
Saquinavir	Não	Inibidor da protease do HIV	HIV-1, HIV-2
Estavudina (d4T)	Sim	Inibidor da transcriptase reversa	HIV-1, HIV-2
Trifluridina	Sim	Inibidor da polimerase viral	Herpes simples, citomegalovírus, vacínia
Valaciclovir	Sim	Inibidor da polimerase viral	Herpes-vírus
Vidarabina	Sim	Inibidor da polimerase viral	Herpes-vírus, vacínia, HBV
Zalcitabina (ddC)	Sim	Inibidor da transcriptase reversa	HIV-1, HIV-2, HBV
Zidovudina (AZT)	Sim	Inibidor da transcriptase reversa	HIV-1, HIV-2, HTLV-1

HBV, vírus da hepatite B; HIV-1, HIV-2, vírus da imunodeficiência humana tipos 1 e 2; HTLV-1, vírus da leucemia de células T humanas tipo 1.

Há necessidade de antivirais ativos contra vírus para os quais não existem vacinas, ou as existentes não são altamente eficazes — talvez devido à multiplicidade de sorotipos (p. ex., rinovírus) ou a uma mudança constante do vírus (p. ex., vírus *influenza*, HIV). Os antivirais podem ser empregados para tratar infecções bem caracterizadas quando as vacinas contra esses patógenos não se mostram eficazes. São necessários antivirais para reduzir a morbidade e a perda econômica associadas às infecções virais, bem como tratar o crescente número de pacientes imunossuprimidos que correm risco elevado de infecção.

Os estudos de virologia molecular estão tendo sucesso na identificação das funções específicas dos vírus, que podem atuar como alvos para a terapia antiviral. Os estágios mais apropriados como alvos nas infecções virais são a fixação do vírus à célula hospedeira; o desnudamento do genoma viral; a síntese do ácido nucleico viral; a tradução de proteínas virais; a organização e liberação de partículas virais da progênie. Na verdade, tem sido muito difícil desenvolver antivirais capazes de distinguir os processos de multiplicação virais daqueles do hospedeiro.

Entretanto, foram desenvolvidos vários compostos que se mostraram valiosos no tratamento de certas doenças virais,

particularmente o herpes-vírus e as infecções pelo HIV (Quadro 30.6). São fornecidos alguns exemplos adiante. Os mecanismos de ação variam entre os agentes virais. Com frequência, o fármaco deve ser ativado por enzimas na célula antes de poder atuar como inibidor da replicação viral; os agentes mais seletivos são ativados por uma enzima codificada pelo vírus no interior da célula infectada.

São necessárias pesquisas futuras para se aprender como minimizar o aparecimento de vírus resistentes a fármacos, reduzir a citotoxicidade e planejar antivirais mais específicos com base nos conhecimentos moleculares da estrutura e replicação dos agentes virais, bem como desenvolver fármacos contra infecções virais, as quais ainda não possuem tratamento efetivo.

A. Análogos dos nucleosídeos

A maioria dos antivirais disponíveis consiste em análogos dos nucleosídeos. Estes fármacos inibem a replicação das polimerases essenciais necessárias à replicação do ácido nucleico. Além disso, alguns análogos podem ser incorporados ao ácido nucleico e bloquear sua síntese ou alterar sua função.

Os análogos podem inibir as enzimas celulares, bem como as enzimas codificadas pelo vírus. Os análogos mais efetivos são aqueles capazes de inibir especificamente enzimas codificadas pelo vírus, com a mínima inibição das enzimas análogas das células do hospedeiro. Em geral, surgem variantes virais resistentes ao fármaco com o decorrer do tempo, algumas vezes de maneira muito rápida. O uso de combinações de antivirais pode retardar o aparecimento de variantes resistentes (p. ex., a “terapia triplíce” utilizada no tratamento da infecção pelo HIV).

São exemplos de análogos dos nucleosídeos o aciclovir (acicloguanosina), lamivudina (3TC), ribavirina, vidarabina (adenina arabinosídeo) e zidovudina (azidotimidina; AZT).

Os análogos dos nucleosídeos diferem pela presença de um grupo fosfato. A capacidade de permanecer nas células por longos períodos aumenta sua potência. O cidofovir é um exemplo.

B. Inibidores da transcriptase reversa

A nevirapina foi o primeiro membro da classe dos inibidores não nucleosídeos da transcriptase reversa. Não exige fosforilação para sua atividade nem compete com os trifosfatos de nucleosídeo. O fármaco atua mediante sua ligação direta à transcriptase reversa, rompendo o local catalítico da enzima. Mutantes resistentes surgem rapidamente.

C. Inibidores da protease

O saquinavir foi o primeiro inibidor da protease a ser aprovado para o tratamento da infecção pelo HIV. Consiste em um agente peptidomimético desenvolvido por um modelo computadorizado como molécula capaz de se encaixar no local ativo da enzima protease do HIV. Esses fármacos inibem a protease viral necessária no estágio avançado do ciclo de replicação para clivar os precursores do polipeptídeo *gag* e *gag-pol*, formando o cerne do virion maduro e ativando a transcriptase reversa que será utilizada no ciclo de infecção seguinte. A inibição da protease produz partículas virais não infecciosas. Os inibidores da protease abrangem o indinavir e o ritonavir, bem como outros fármacos não citados.

D. Outros tipos de agentes antivirais

Constatou-se que vários outros tipos de composto possuem alguma atividade antiviral em certas condições.

O **fuzeon** é um grande peptídeo que bloqueia a etapa de fusão da membrana celular com o vírus envolvido na entrada do HIV-1 nas células. As amins sintéticas, como a **amantadina** e a **rimantadina**, que inibem especificamente os vírus *influenza A*, ao bloquear o desnudamento viral, devem ser administradas de modo profilático para exercer um efeito protetor significativo.

O **foscarnete** (ácido fosfonofórmico) é um análogo orgânico do pirofosfato inorgânico, que inibe seletivamente as DNA-polimerases e as transcriptases reversas virais no local de ligação do pirofosfato.

A **metisazona** tem interesse histórico como inibidor dos poxvírus. Foi o primeiro antiviral a ser descrito e teve contribuição na campanha de erradicação da varíola. O fármaco bloqueia um estágio avançado da replicação viral, resultando na formação de partículas virais imaturas não infecciosas.

Interferons

Os interferons (IFNs) são proteínas codificadas pelo hospedeiro, membros da grande família das citocinas, as quais inibem a

QUADRO 30.7 Propriedades dos interferons humanos

Propriedade	Tipo		
	Alfa	Beta	Gama
Nomenclatura corrente	IFN- α	IFN- β	IFN- γ
Designação antiga	Leucócito	Fibroblasto	Interferon imune
Designação do tipo	Tipo I	Tipo I	Tipo II
Número de genes que codificam para a família	≥ 20	1	1
Principal fonte celular	A maioria dos tipos celulares	A maioria dos tipos celulares	Linfócitos
Agente indutor	Vírus; RNAfd	Vírus; RNAfd	Mitógenos
Estabilidade a pH de 2,0	Estável	Estável	Lábil
Glicosilação	Não	Sim	Sim
Íntrons nos genes	Não	Não	Sim
Homologia com o IFN- α	80 a 95%	30%	< 10%
Localização cromossômica dos genes	9	9	12
Tamanho da proteína secretada (número de aminoácidos)	165	166	143
Receptor de IFN	IFNAR	IFNAR	IFNGR
Localização cromossômica dos genes receptores de IFN	21	21	6

IFN, interferon.

replicação viral. São produzidos muito rapidamente (em horas) em resposta à infecção viral ou a outros indutores e fazem parte da primeira linha de defesa do organismo contra a infecção viral. O IFN- α foi a primeira citocina a ser identificada. Os IFNs têm papel fundamental na resposta imunológica inata antiviral. Também modulam a imunidade humoral e a celular, e exercem amplas atividades reguladoras relacionadas com o crescimento celular, mas o foco aqui são seus efeitos antivirais.

A. Propriedades dos IFNs

Existem várias espécies de IFNs, classificadas em três grupos gerais, designados por IFN- α , IFN- β e IFN- γ (Quadro 30.7). Os IFN- α e β são considerados de tipo I ou interferons virais, enquanto o IFN- γ é considerado de tipo II ou imune. A família do IFN- α é grande e codificada, no mínimo, por 20 genes do genoma humano. As famílias dos IFN- β e γ são codificadas por um de cada gene. As três famílias de genes divergiram, de modo que as sequências da codificação não estão mais estreitamente relacionadas.

Os diferentes IFNs assemelham-se quanto ao tamanho, porém as três classes são antigenicamente distintas. Os IFN- α e β são resistentes a pH baixo. Os IFN- β e γ são glicosilados, porém os açúcares não são necessários à atividade biológica, de modo que os IFNs clonados, produzidos em bactérias, são biologicamente ativos.

B. Síntese dos IFNs

Os IFNs são produzidos por todas as espécies de vertebrados. Em geral, as células normais não sintetizam IFN até que sejam

induzidas a fazê-lo. A infecção por vírus constitui um potente estímulo que leva à indução; os vírus do RNA são indutores mais fortes de IFNs do que os vírus do DNA. Os IFNs também podem ser induzidos pelo RNA de filamento duplo, por endotoxina bacteriana e por pequenas moléculas, como a tilorona. O IFN- γ não é produzido em resposta à maioria dos vírus, mas é induzido por estimulação de mitógenos.

As diferentes classes de IFN são produzidas por diferentes tipos de célula. Os IFN- α e β são sintetizados por vários tipos celulares, enquanto o IFN- γ é produzido principalmente por linfócitos, especialmente células T e células destruidoras naturais (*natural killer* [NK]). As células dendríticas são potentes produtoras de IFN; sob as mesmas condições em um desafio viral, as células dendríticas podem secretar até 1000 vezes mais IFNs que os fibroblastos.

C. Atividade antiviral e outros efeitos biológicos

Os IFNs foram reconhecidos pela primeira vez em virtude da sua capacidade de interferir na infecção viral em culturas de células. São rapidamente detectados após infecção viral em animais saudáveis quanto aos demais aspectos; em seguida, observa-se uma diminuição da produção viral (Fig. 30.8). Os anticorpos só aparecem no sangue do animal vários dias após a redução da produção do vírus. Essa relação temporal sugere que o IFN desempenha um papel primário na defesa não específica do hospedeiro contra infecções virais. Tal conclusão também é apoiada por observações de que os indivíduos com agamaglobulinemia em geral se recuperam de infecções virais primárias quase tão bem quanto as pessoas saudáveis.

Os IFNs não protegem as células infectadas por vírus que as produziram, também não são um agente antiviral para a própria célula produtora; movem-se para outras células, em que induzem um estado antiviral, desencadeando a síntese de outras proteínas que inibem a replicação viral. As moléculas de IFN ligam-se a receptores específicos da superfície celular nas células-alvo. Os IFN- α e β possuem o mesmo receptor, ao passo que o IFN- γ reconhece um receptor diferente. A ligação dos receptores desencadeia a fosforilação da tirosina e a ativação dos fatores de transcrição (*signal transducer and activator of transcription*

[STAT]) no citoplasma, que, em seguida, transloca-se no núcleo e faz a mediação da transcrição de genes por interferon – induzíveis (o que ocorre minutos após a ligação com o interferon), resultando na síntese de diversas enzimas que se acredita sejam instrumentais no desenvolvimento de um estado antiviral. Diversas vias parecem envolvidas, tais como as seguintes: (1) uma proteinoquinase dependente de RNA de fita dupla, PKR, que fosforila e inativa o fator de iniciação celular eIF-2, prevenindo, assim, a formação do complexo de iniciação necessário à síntese das proteínas virais; (2) uma oligonucleotídeo sintetase, 2-5A sintetase, que ativa a endonuclease celular, RNase L, a qual degrada o RNAm; (3) uma fosfodiesterase, que inibe a elongação da cadeia peptídica; e (4) uma óxido nítrico sintetase, induzida pelo IFN- γ em macrófagos. Entretanto, estas explicações não revelam por que o estado antiviral atua seletivamente contra os RNAs virais e não contra os RNAs celulares. Outras etapas na replicação viral também podem ser inibidas pelos IFNs.

Os IFNs são quase sempre específicos de espécie em função, mas não específicos para um determinado vírus. A replicação de uma ampla variedade de vírus de DNA e RNA pode ser inibida. Quando o IFN é adicionado às células antes da infecção, ocorre acentuada inibição da replicação viral, mas próxima da função celular normal. Os IFNs são extremamente potentes; assim, são necessárias quantidades muito pequenas para seu funcionamento. Estimou-se que menos de 50 moléculas de IFN por célula são suficientes para induzir um estado antiviral.

D. Mecanismos virais para anular a ação dos IFNs

Os vírus exibem diferentes mecanismos que bloqueiam as atividades inibidoras dos IFNs sobre a replicação viral, processo necessário para transpor tal linha de defesa do hospedeiro. Os exemplos incluem as proteínas virais específicas que podem bloquear a indução da expressão dos IFNs (herpes-vírus, papilomavírus, filovírus, vírus da hepatite C, rotavírus), podem bloquear a ativação da proteinoquinase PKR essencial (adenovírus, herpes-vírus), podem ativar um inibidor celular da PKR (vírus *influenza*, poliovírus), podem bloquear a transdução de sinais induzidos pelos IFNs (adenovírus, herpes-vírus, vírus da hepatite B), ou podem neutralizar o IFN- γ ao atuarem como receptores da IFN solúvel (vírus do mixoma).

E. Estudos clínicos

Originalmente, esperava-se que os IFNs pudessem ser a solução para a prevenção de muitas doenças virais, como as infecções respiratórias nas quais podem estar envolvidos muitos vírus diferentes. Entretanto, seu uso mostrou-se pouco prático, visto que, para serem eficazes, é necessário que se administrem altas doses antes da exposição ao vírus ou no início da infecção, antes do aparecimento dos sinais clínicos da doença. O IFN- α recombinante é benéfico no controle das infecções virais do fígado pelas hepatites B e C (Cap. 35), apesar da ocorrência comum de recidiva após a suspensão do tratamento. A aplicação tópica de IFN aos olhos pode suprimir a ceratite herpética e acelerar a cicatrização.

Diversas preparações de IFN estão aprovadas para uso clínico. Os IFNs exibem muitos efeitos colaterais tóxicos, a maior parte por manifestações sistêmicas e hematológicas.

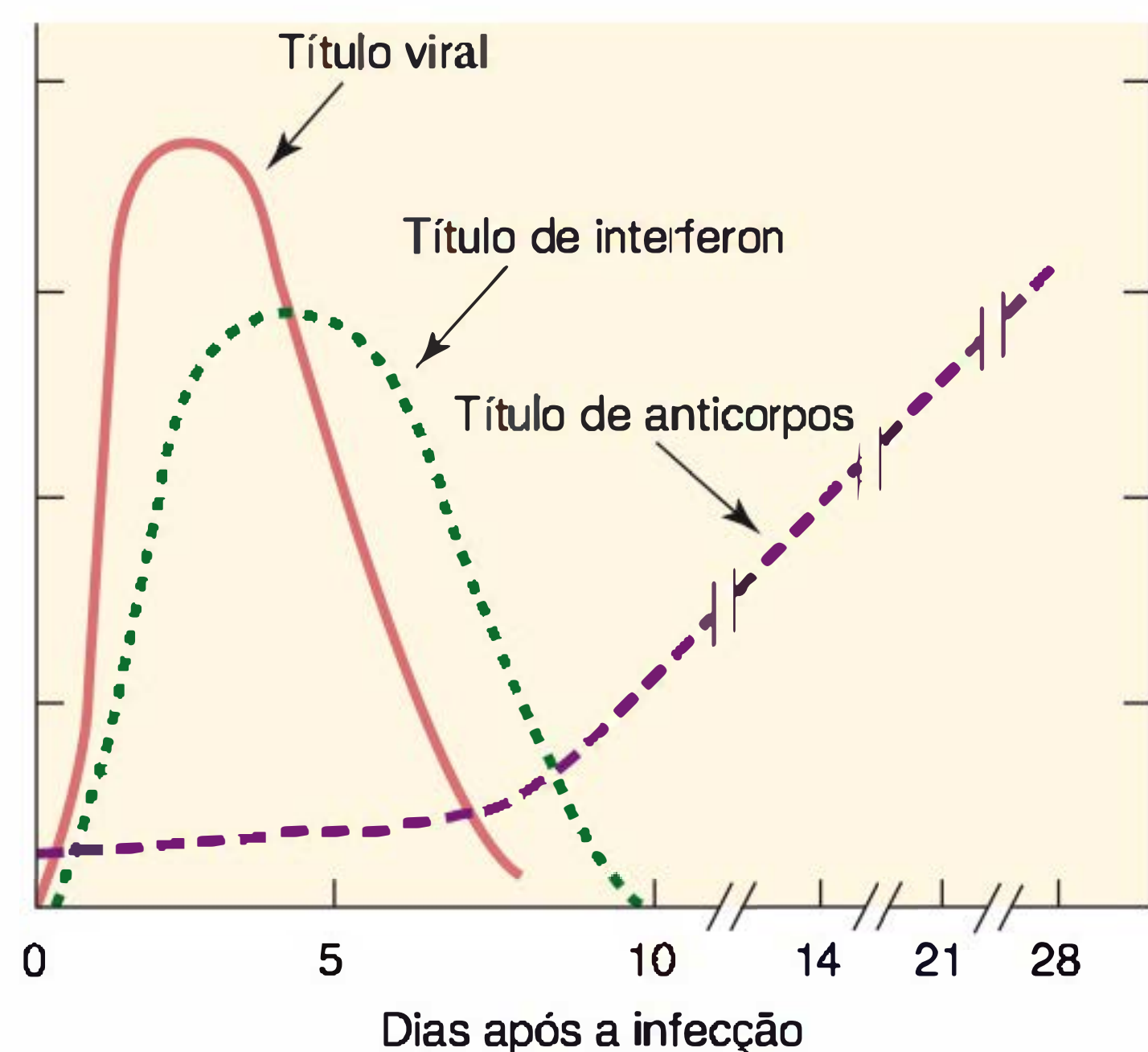


FIGURA 30.8 Ilustração da cinética do interferon (IFN) e da síntese dos anticorpos após infecção viral respiratória. As relações temporais sugerem que os IFNs estão envolvidos na resposta precoce do sistema de defesa do hospedeiro contra infecções virais.

Vacinas virais

O propósito das vacinas virais é utilizar a resposta imunológica do hospedeiro para evitar a ocorrência de doença viral.

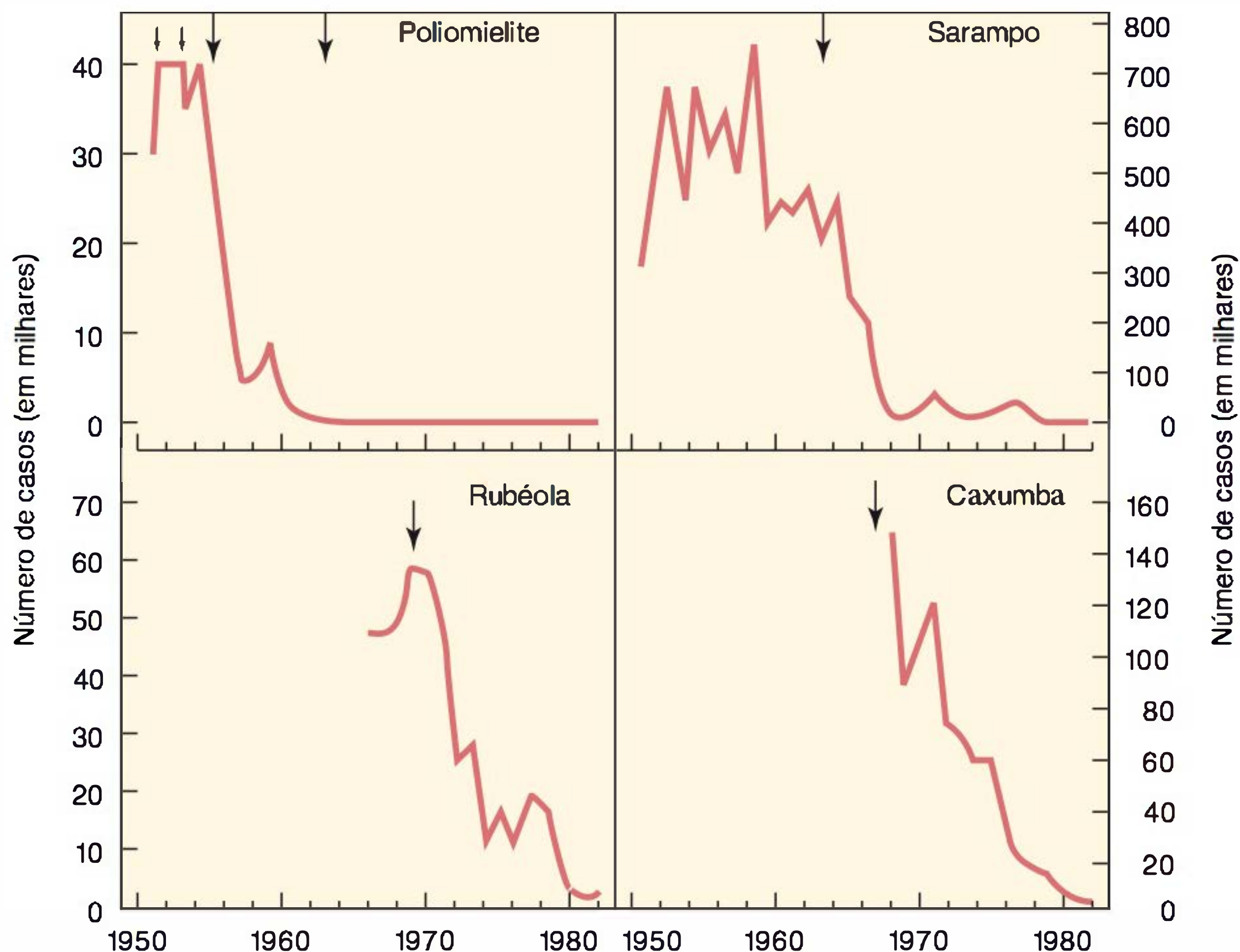


FIGURA 30.9 Incidência anual de várias doenças virais nos EUA. A data da introdução da vacina é indicada pelas setas. (Dados dos Centers for Disease Control and Prevention.)

Diversas vacinas mostraram-se notavelmente eficazes ao reduzir a incidência anual de doenças virais (Fig. 30.9). A vacinação constitui o método de prevenção de infecções virais graves mais eficaz em termos de custo.

A. Princípios gerais

A imunidade à infecção viral baseia-se no desenvolvimento de resposta imunológica contra antígenos específicos localizados na superfície das partículas virais ou das células infectadas por vírus. No caso dos vírus com envelope, os antígenos importantes consistem nas glicoproteínas de superfície. Embora os animais infectados possam desenvolver anticorpos contra proteínas do cerne do virion ou contra proteínas não estruturais envolvidas na replicação viral, acredita-se que a resposta imunológica desempenhe um papel pequeno ou mesmo nenhum papel no desenvolvimento da resistência à infecção.

Existem vacinas para a prevenção de várias doenças humanas importantes. As vacinas atualmente disponíveis (Quadro 30.8) são descritas de modo pormenorizado nos capítulos que tratam de cada família de vírus e das doenças causadas por eles.

A patogênese de determinada infecção viral influi nos objetivos da imunoprofilaxia. A imunidade das mucosas (IgA local) é importante na resistência a infecções por vírus que se replicam nas mucosas (rinovírus, vírus *influenza*, rotavírus) ou invadem pela mucosa (papilomavírus). Os vírus cuja propagação é virêmica (poliovírus, das hepatites A e B, febre amarela, varicela, caxumba e sarampo) são controlados por anticorpos séricos. A imunidade celular também está envolvida na proteção contra as infecções sistêmicas (sarampo, herpes).

Certas características de um vírus ou de uma doença viral podem complicar o desenvolvimento de uma vacina eficaz. A

existência de vários sorotipos, conforme se observa com os rinovírus, e a ocorrência de um grande número de reservatórios animais, como no caso do vírus *influenza*, dificultam a produção de vacinas. A integração do DNA viral no DNA cromossômico do hospedeiro (retrovírus) e a infecção de células do sistema imunológico do hospedeiro (HIV) são outros obstáculos.

B. Vacinas com vírus mortos

As vacinas inativadas (de vírus mortos) são produzidas mediante a purificação de preparações virais e, em seguida, inativação da infecciosidade viral, de modo que haja lesão mínima das proteínas estruturais do vírus; com frequência, utiliza-se o tratamento com formol diluído (Quadro 30.9). Para algumas doenças, as vacinas feitas a partir de vírus mortos são as únicas disponíveis.

As vacinas com vírus mortos, preparadas a partir de virions completos, em geral estimulam a produção de anticorpos circulantes contra as proteínas de revestimento do vírus, conferindo certo grau de resistência.

As vantagens das vacinas inativadas são a ausência de reversão para a virulência pelo vírus da vacina e possibilidade de produzir vacinas quando não se dispõe de vírus atenuados aceitáveis.

As vacinas com vírus mortos apresentam as seguintes desvantagens:

1. É necessário ter extremo cuidado na sua fabricação, a fim de certificar-se de que não haja vírus virulento vivo residual na vacina.
2. A imunidade conferida é frequentemente de curta duração, precisando ser reforçada, o que não apenas envolve o problema logístico de encontrar repetidamente as pessoas que necessitam de imunização, mas também gera

QUADRO 30.8 Vacinas virais aprovadas nos EUA (2011)

Uso	Vacina	Tipo	Substrato celular
Comum	Hepatite A	Morta	Fibroblastos diploides humanos (MRC-5)
	Hepatite B	Subunidade (HBsAg)	Levedura (DNA recombinante)
	Influenza A e B	Morta	Ovos de galinha embrionados
	Influenza A e B	Viva (intranasal)	Ovos de galinha embrionados
	Sarampo	Viva	Fibroblastos de embriões de galinha
	Caxumba	Viva	Ovos de galinha embrionados e fibroblastos de embriões de galinha
	Papiloma	Subunidade (L1)	Levedura (DNA recombinante)
	Poliovírus (IPV)	Morta	Células de rins de macaco (Vero)
	Poliovírus (OPV)	Viva	Células de rins de macaco
	Raiva	Morta	Fibroblastos diploides humanos (MRC-5) ou células diploides de pulmão de feto de macaco <i>rhesus</i> ou fibroblastos de galinha
	Rotavírus ^a	Viva	Células de rins de macaco (Vero)
	Rubéola	Viva	Fibroblastos diploides humanos (WI-38)
	Varicela	Viva	Fibroblastos diploides humanos (MRC-5)
	Zóster	Viva	Fibroblastos diploides humanos (MRC-5)
Situações especiais	Adenovírus ^b	Viva	Fibroblastos diploides humanos (WI-38)
	Encefalite japonesa ^c	Morta	Cérebro de camundongo
	Varíola	Viva	Linfa de bezerro
	Febre amarela ^c	Viva	Ovos de galinha embrionados

^aUma vacina viva contra rotavírus foi retirada do mercado em 1999 devido a uma associação com intussuscepção de crianças. A vacina aprovada em 2006 é diferente e não tem sido associada à intussuscepção.

^bUtilizada nos EUA por militares; pouco disponível.

^cUsada em viagens para áreas endêmicas.

HBsAg, antígeno de superfície do vírus da hepatite B, IPV, vacina de pólio inativada; OPN, vacina da pólio oral.

preocupação quanto aos possíveis efeitos (reações de hipersensibilidade) decorrentes da administração repetida de proteínas estranhas.

3. A administração parenteral de vacina com vírus mortos, mesmo quando estimula a produção de níveis satisfatórios de anticorpos circulantes (IgM, IgG), algumas vezes tem proporcionado uma proteção limitada, visto que a resistência local (IgA) não é induzida adequadamente na porta

de entrada natural do vírus ou no local primário de multiplicação do vírus selvagem — por exemplo, nasofaringe, no caso dos vírus respiratórios; trato alimentar, no caso dos poliovírus (ver Fig. 30.10 e Caps. 36 e 39).

4. A resposta celular às vacinas inativadas é em geral deficiente.

QUADRO 30.9 Comparação das características das vacinas virais mortas e vivas

Características	Vacinas mortas	Vacinas vivas
Número de doses	Várias	Única
Necessidade de adjuvante	Sim	Não
Duração da imunidade	Curta	Longa
Eficácia da proteção (mimetiza melhor a infecção natural)	Menor	Maior
Imunoglobulinas produzidas	IgG	IgA e IgG
Produção de imunidade de mucosa	Fraca	Sim
Produção de imunidade mediada por células	Fraca	Sim
Vírus virulento residual na vacina	Possível	Não
Reversão da virulência	Não	Possível
Excreção do vírus vacinal e transmissão para contatos não imunes	Não	Possível
Interferência de outros vírus no hospedeiro	Não	Possível
Estabilidade à temperatura ambiente	Alta	Baixa

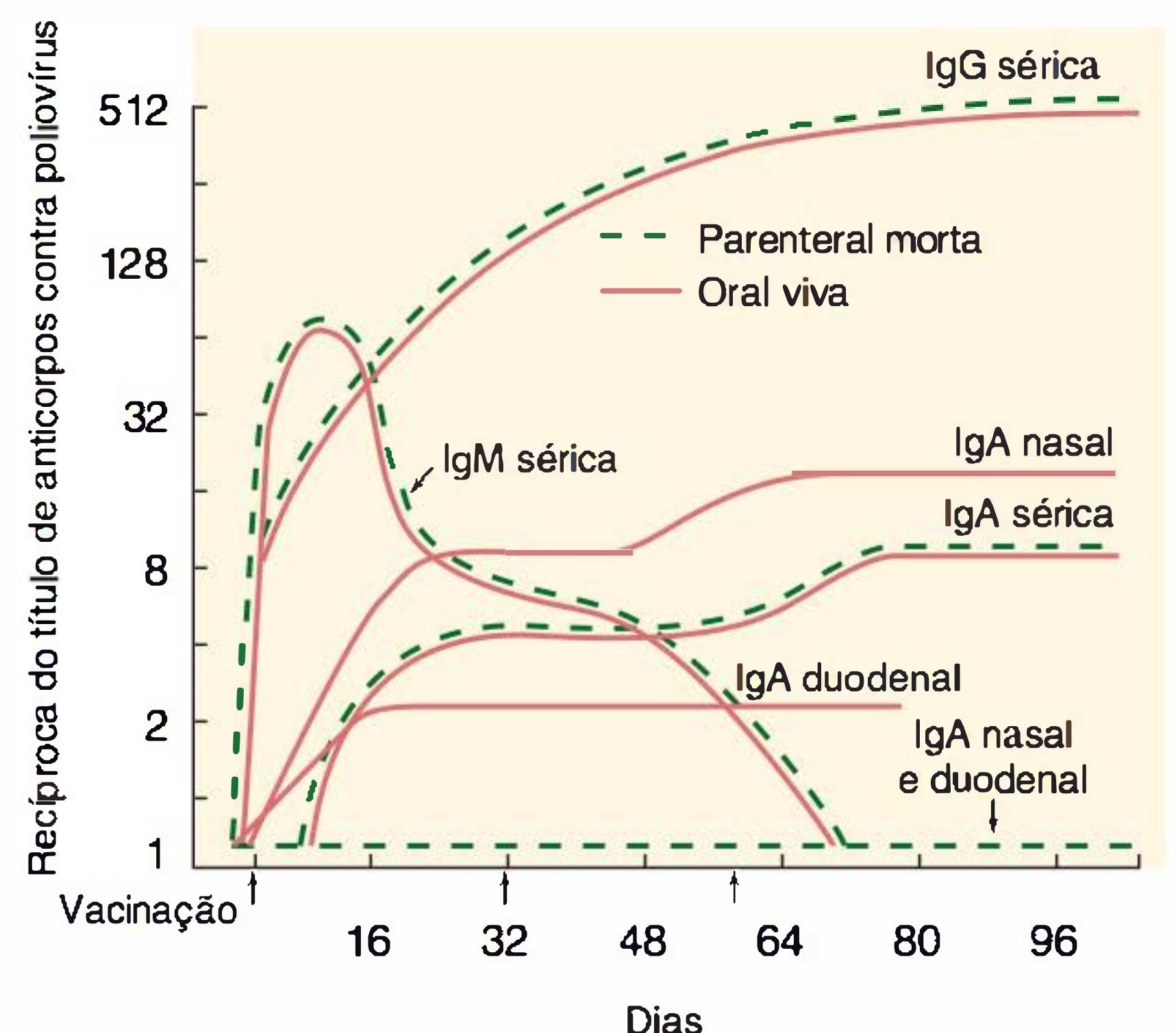


FIGURA 30.10 Resposta dos anticorpos séricos e secretores à vacina com poliovírus vivos atenuados administrada por via oral e à inoculação intramuscular de vacina com poliovírus mortos. (Reproduzida, com autorização, de Ogra PL, Fishaut M, Gallagher MR: Viral vaccination via the umcosal routes. *Rev Infect Dis* 1980; 2:352. Com autorização, Oxford University Press.)

5. Algumas vacinas com vírus mortos induzem hipersensibilidade por ocasião da infecção subsequente, talvez devido a uma resposta imunológica desequilibrada a antígenos da superfície viral que não consegue mimetizar a infecção por vírus naturais.

C. Vacinas com vírus vivos atenuados

As vacinas com vírus vivos utilizam mutantes virais que, do ponto de vista antigênico, superpõem-se ao vírus do tipo selvagem, embora sejam restritos em alguma etapa na patogênese da doença (Quadro 30.9).

A base genética da atenuação da maior parte das vacinas virais é desconhecida, uma vez que são selecionadas empiricamente por passagens seriadas em animais ou culturas de células (em geral a partir de uma espécie diferente do hospedeiro natural). Com o conhecimento obtido sobre os genes virais envolvidos na patogênese da doença, protótipos de vacinas atenuadas podem ser desenvolvidos em laboratório.

As vacinas com vírus vivos atenuados têm a vantagem de atuar como a infecção natural no que concerne a seu efeito sobre a imunidade. Os vírus multiplicam-se no hospedeiro e tendem a estimular a produção mais duradoura de anticorpos, induzir uma boa resposta celular e a produção de anticorpos, bem como o desenvolvimento de resistência na porta de entrada (Fig. 30.10).

Entre as desvantagens das vacinas com vírus vivos atenuados estão as seguintes:

1. Risco de reversão para maior virulência durante a multiplicação na pessoa vacinada. Embora a reversão não constitua o principal problema na prática, existe como possibilidade.
2. Os estoques de vacina podem ser contaminados por agentes estranhos não reconhecidos, que infectam de modo latente o substrato da cultura (ovos, culturas celulares primárias). Os vírus encontrados em vacinas incluíram o vírus da leucose aviária, o poliomavírus SV40 de símios e o citomegalovírus de símios. O problema dos contaminantes estranhos pode ser contornado pelo uso de células normais multiplicadas de modo seriado em cultura (p. ex., linhagens de células diploides humanas) como substrato para a cultura de vírus destinados a vacinas.
3. A conservação e o prazo de validade limitada das vacinas atenuadas também representam problemas, embora isso possa ser superado, em alguns casos, pelo uso de estabilizadores virais (p. ex., $MgCl_2$ para a vacina contra poliomielite).
4. A interferência por infecção concomitante causada por vírus do tipo selvagem e ocorrência natural pode inibir a replicação do vírus da vacina e reduzir sua eficácia. Esse problema foi observado com as cepas do vírus da pólio para vacina, que podem ser inibidas por infecções concomitantes causadas por vários enterovírus.

D. Uso adequado das vacinas atuais

Nunca é demais enfatizar o fato de que uma vacina eficaz não protege contra determinada doença até que seja administrada na dose apropriada aos indivíduos suscetíveis. A impossibilidade de atingir todos os setores da população com ciclos completos de imunização reflete-se na contínua ocorrência de sarampo em indivíduos não vacinados. As crianças em idade pré-escolar de áreas pobres constituem o grupo menos adequadamente vacinado nos EUA.

O termo imunidade coletiva ou de grupo (*herd immunity*) se refere ao risco que uma infecção entre indivíduos suscetíveis

em uma população específica seja reduzida pela presença de um número de indivíduos imunes nessa mesma população. Esse efeito é refletido em uma queda drástica da incidência de doença, mesmo quando todos os indivíduos suscetíveis não tenham sido vacinados. No entanto, o limite da imunidade necessária para esse efeito protetor indireto depende de muitos fatores, incluindo a transmissibilidade do agente infeccioso, a natureza da imunidade induzida pela vacina e a distribuição dos indivíduos imunes. Indivíduos protegidos pela imunidade coletiva continuam suscetíveis à infecção pela exposição, podendo resultar em surto epidêmico, quando o percentual desses indivíduos aumenta (como ocorrido em surtos de sarampo entre estudantes universitários nos EUA).

Certas vacinas virais são recomendadas para uso pelo público geral. Outras vacinas são recomendadas apenas para os indivíduos que correm risco especial devido a ocupação, viagens ou estilo de vida. Em geral, as vacinas feitas com vírus vivos são contraindicadas para mulheres grávidas.

Existe uma possibilidade teórica de que a resposta humoral possa ser diminuída ou de que possa haver interferência quando duas ou mais vacinas com vírus vivos são administradas ao mesmo tempo. Entretanto, na prática, a administração simultânea de vacinas com vírus vivos pode ser segura e eficaz. A poliovacina oral trivalente com vírus vivos ou uma vacina combinada de vírus vivos do sarampo, caxumba e rubéola é eficaz. A resposta humoral a cada componente dessa vacina combinada é comparável à resposta humoral observada em cada uma delas quando administrada separadamente.

E. Perspectivas futuras

A biologia molecular e as modernas tecnologias estão se associando a fim de permitir novas abordagens para o desenvolvimento de vacinas. Muitas dessas abordagens evitam a incorporação do ácido nucleico viral no produto final, melhorando a segurança da vacina. Exemplos do que está ocorrendo neste campo são listados a seguir. O sucesso definitivo dessas novas abordagens ainda não foi estabelecido.

1. O uso das técnicas de DNA recombinante para se inserir o gene que codifica a proteína de interesse no genoma de um vírus avirulento que possa ser administrado como vacina (tal como o vírus vacínia).
2. Inclusão na vacina somente dos componentes subvirais necessários à estimulação dos anticorpos protetores, minimizando dessa maneira a ocorrência de reações adversas da vacina.
3. Uso de proteínas purificadas isoladas de vírus purificados ou sintetizados a partir de genes clonados (uma vacina recombinante do vírus da hepatite B contendo proteínas sintetizadas em células de leveduras). A expressão de genes clonados algumas vezes pode resultar na formação de partículas virais vazias.
4. O uso de peptídeos sintéticos que correspondem a determinantes antigênicos de uma proteína viral, evitando-se, assim, qualquer possibilidade de reversão da virulência, uma vez que não existe ácido nucleico viral — embora a resposta imunológica induzida por peptídeos sintéticos seja consideravelmente mais fraca que a induzida pela proteína intacta.
5. Desenvolvimento de vacinas comestíveis, em que plantas transgênicas sintetizando antígenos para vírus patogênicos

podem fornecer vias de baixo custo para a administração de vacinas.

6. O uso de vacinas de DNA — uma abordagem potencialmente simples, barata e segura — nas quais plasmídeos recombinantes contendo o gene para a proteína de interesse são injetados no hospedeiro, e o DNA produz a proteína imunizante.
7. Administração local de vacina para estimular a produção de anticorpos locais na porta de entrada do vírus (como vacinas em aerossol para vírus de doenças respiratórias).

RESUMO DO CAPÍTULO

- Patogênese viral é definida como o processo de infecção do hospedeiro pelo agente viral.
- A maioria dos vírus entra no hospedeiro através dos tratos gastrintestinal e respiratório.
- A maioria das infecções virais é subclínica ou não apresenta nenhuma sintomatologia clínica visível.
- A maioria das infecções virais é autolimitada e é prontamente controlada pelo sistema imunológico do hospedeiro. Entretanto, algumas podem resultar em infecções persistentes com tendência a cronificação.
- Tanto a resposta imune inata quanto adaptativa (humoral ou de base celular) são importantes no controle das infecções virais.
- Os interferons são citocinas fundamentais na resposta imune inata antiviral do hospedeiro.
- Tanto os fatores de virulência do agente viral quanto os fatores do hospedeiro determinam o desfecho das infecções virais.
- Alguns vírus causam infecções localizadas no sítio primário de infecções, já outros se disseminam e produzem infecções em diferentes tecidos e órgãos.
- Poucos vírus podem causar infecção intrauterina, resultando em sérias complicações para o feto como doenças congênitas e morte.
- Existem relativamente poucos fármacos antivirais em virtude da dificuldade em inibir seletivamente diferentes funções virais, mas não as funções celulares. Há diferentes fármacos para infecções contra o vírus da imunodeficiência adquirida e contra o vírus herpes simples.
- A vacinação é o método mais eficiente na prevenção das infecções virais. Várias vacinas estão disponíveis para diferentes agentes virais.
- Tanto vacinas formuladas com vírus mortos, como atenuados estão disponíveis. Cada tipo apresenta vantagens e desvantagens.

QUESTÕES DE REVISÃO

1. Os interferons são uma parte importante das defesas do hospedeiro contra as infecções virais. Qual é o principal modo de ação do interferon?
 - (A) Está presente no soro dos indivíduos sadios, exercendo um papel de vigilância viral
 - (B) Reveste as partículas virais e bloqueia sua fixação às células
 - (C) Induz a síntese de uma ou mais proteínas celulares que inibem a tradução e a transcrição
 - (D) Protege a célula infectada por vírus que a produziu a partir da morte celular
2. Uma menina de 9 meses foi encaminhada a uma unidade de emergência por causa de febre e tosse persistente. Ao exame físico, percebem-se ruídos no pulmão esquerdo, no qual foi visto um infiltrado na radiografia de pulmão. Foi diagnosticada pneumonia. Qual das seguintes alternativas é a causa mais provável deste quadro?
 - (A) Rotavírus
 - (B) Rinovírus
 - (C) Adenovírus
 - (D) Vírus sincicial respiratório
 - (E) Vírus Coxsackie
3. Qual das seguintes alternativas é um princípio fundamental da doença viral?
 - (A) Um tipo de vírus induz uma única síndrome (doença)
 - (B) Muitas infecções virais são subclínicas e não causam doença clínica
 - (C) O tipo de doença causado por um vírus pode ser estimado pela morfologia viral
 - (D) Uma doença tem uma única causa viral
4. A pele é uma barreira impenetrável à entrada dos vírus em geral, mas uns poucos vírus são capazes de romper essa barreira e iniciar uma infecção no hospedeiro. Qual das seguintes alternativas é um exemplo de vírus que penetra através de abrasões na pele?
 - (A) Adenovírus
 - (B) Rotavírus
 - (C) Rinovírus.
 - (D) Papilomavírus
 - (E) Vírus *influenza*
5. Um homem de 40 anos de idade é portador de HIV/Aids, caracterizado por baixa contagem de CD4 e alta carga viral. A terapia com antirretrovirais altamente ativos (HAART, na sigla em inglês) será iniciada. Um dos agentes sob consideração é um análogo do nucleosídeo que inibe a transcriptase reversa e é ativo contra o HIV e o HBV. Esse agente é:
 - (A) Aciclovir
 - (B) Amantadina
 - (C) Ribavirina
 - (D) Saquinavir
 - (E) Lamivudina
 - (F) Fuzeon
6. Em relação ao paciente com HIV/Aids da questão anterior, um agente peptidomimético que bloqueia a clivagem mediada por vírus dos precursores da proteína estrutural viral é escolhido como a segunda opção. Esse agente é:
 - (A) Aciclovir
 - (B) Amantadina
 - (C) Ribavirina
 - (D) Saquinavir
 - (E) Lamivudina
 - (F) Fuzeon
7. Uma mulher de 63 anos de idade é hospitalizada para tratamento de leucemia. Um dia após a admissão, desenvolveu febre, tremores, cefaleia e mialgia. Segundo a paciente, o marido apresentara quadro semelhante poucos dias antes. Existe uma preocupação com um surto de doença viral respiratória entre a equipe que atende no setor de quimioterapia e entre os pacientes dessa enfermaria. Uma amina sintética que inibe o vírus *influenza A* por bloqueio do desnudamento viral é escolhida como tratamento profilático da equipe e dos pacientes. Essa amina é:
 - (A) Aciclovir
 - (B) Amantadina

- (C) Ribavirina
(D) Saquinavir
(E) Lamivudina
(F) Fuzeon
8. Qual das seguintes afirmativas descreve uma vantagem das vacinas de vírus mortos sobre as vacinas de vírus atenuados?
- (A) As vacinas de vírus mortos induzem respostas imunológicas de maior espectro que as induzidas por vacinas de vírus atenuados
(B) As vacinas de vírus mortos mimetizam melhor a infecção natural do que as vacinas de vírus atenuados
(C) As vacinas de vírus mortos não apresentam risco de transmitir o vírus vacinal a contatos suscetíveis
(D) As vacinas de vírus mortos são eficazes contra as infecções por vírus respiratórios, pois induzem boa imunidade de mucosa
9. Qual é o tipo de vacina contra a hepatite B empregado nos EUA?
- (A) Vacina de peptídeos sintéticos
(B) Vacina de vírus mortos
(C) Vacina de vírus atenuados
(D) Vacina de subunidades produzidas com o emprego de DNA recombinante
10. Qual das seguintes frases descreve acuradamente os anticorpos neutralizantes virais?
- (A) São direcionados contra determinantes da proteína viral localizados no exterior da partícula viral
(B) Aparecem no hospedeiro logo após a infecção viral, antes do interferon
(C) São dirigidos contra sequências de ácido nucleico viral
(D) São induzidos somente por doenças causadas por vírus
(E) São de pouca importância para a imunidade a infecções virais
11. Muitos vírus utilizam o trato respiratório como porta de entrada para iniciar infecções. Qual dos seguintes grupos virais não segue esta premissa?
- (A) Adenovírus
(B) Coronavírus
(C) Hepadnavírus
(D) Paramixovírus
(E) Poxvírus
12. Qual das seguintes vacinas virais licenciadas é uma vacina de subunidade preparada por tecnologia do DNA recombinante?
- (A) Sarampo-caxumba-rubéola.
(B) Varicela
(C) Hepatite A
(D) Papiloma
(E) Rotavírus
(F) Raiva
13. Qual dos seguintes vírus é a causa mais comum de infecções neonatais nos EUA?
- (A) Rubéola
(B) Parvovírus B19
(C) Hepatite B
(D) Citomegalovírus
(E) Varicela
(F) HIV
14. Qual das seguintes afirmações em relação aos interferons é *menos* precisa
- (A) Os interferons são proteínas que influenciam as defesas do hospedeiro por diversos mecanismos, como, por exemplo, a indução de um estado antiviral
(B) Os interferons são sintetizados apenas por células infectadas por um vírus
(C) Os interferons inibem uma grande variedade de tipos virais, não apenas a espécie que induziu sua produção
(D) Os interferons inibem a síntese de uma ribonuclease que degrada o RNAm viral
15. Todas as seguintes afirmações em relação às vacinas virais são verdadeiras, *exceto*:
- (A) Nas vacinas atenuadas, o vírus perde sua habilidade de causar infecção, porém mantém sua capacidade de induzir anticorpos neutralizantes
(B) Nas vacinas atenuadas, a possibilidade de reversão da virulência é uma preocupação relevante
(C) As vacinas inativadas em geral induzem uma imunidade de mucosa com produção de IgA
(D) As vacinas inativadas promovem imunidade protetora principalmente por produção de IgG

Respostas

- | | | | |
|------|------|-------|-------|
| 1. C | 5. E | 9. D | 13. D |
| 2. D | 6. D | 10. A | 14. B |
| 3. B | 7. B | 11. C | 15. C |
| 4. D | 8. C | 12. D | |

REFERÊNCIAS

- Bonjardim CA: Interferons (IFNs) are key cytokines in both innate and adaptive antiviral immune responses—and viruses counteract IFN action. *Microbes Infect* 2005;7:569.
- Dropulic LK, Cohen JI: Update on new antivirals under development for the treatment of double-stranded DNA virus infections. *Clin Pharmacol Ther* 2010;88:610.
- Espy MJ, Uhl JR, Sloan LM et al.: Real-time PCR in clinical microbiology: Applications for routine laboratory testing. *Clin Microbiol Rev* 2006;19:165.
- Hawley RJ, Eitzen EM Jr: Biological weapons—a primer for microbiologists. *Annu Rev Microbiol* 2001;55:235.
- McGavern DB, Kang SS: Illuminating viral infections in the nervous system. *Nat Rev Immunol* 2011;11:318.
- Pereira L, Maidji E, McDonagh S, Tabata T: Insights into viral transmission at the uterine-placental interface. *Trends Microbiol* 2005;13:164.
- Plotkin SA: Correlates of vaccine-induced immunity. *Clin Infect Dis* 2008;47:401.
- Randall RE, Goodbourn S: Interferons and viruses: An interplay between induction, signalling, antiviral responses and virus countermeasures. *J Gen Virol* 2008;89:1.
- Rathinam VAK, Fitzgerald KA: Innate immune sensing of DNA viruses. *Virology* 2011;411:153.
- Recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP): General recommendations on immunization. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2011;60(2).
- Recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP): Immunization of health-care personnel. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2011;60(7).
- Recommended adult immunization schedule—United States, 2012. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2012;61(4).
- Tregoning JS, Schwarze J: Respiratory viral infections in infants: Causes, clinical symptoms, virology, and immunology. *Clin Microbiol Rev* 2010;23:74.
- Virgin S: Pathogenesis of viral infection. In Knipe DM, Howley PM (editors-in-chief). *Fields Virology*, 5th ed. Lippincott Williams & Wilkins, 2007.

Parvovírus

Os parvovírus são os vírus de DNA mais simples de animais. Em virtude da pequena capacidade de codificar o seu genoma, a replicação viral depende das funções desempenhadas pelas células do hospedeiro ou por vírus auxiliares coinfectantes. O parvovírus B19 é patogênico para seres humanos e exibe tropismo para as células progenitoras eritroides. Constitui a causa de eritema infeccioso (“quinta doença”), um exantema infantil comum; de uma síndrome de poliartralgia-atrite em adultos normais; de crise aplásica em pacientes com distúrbios hemolíticos; de anemia crônica em indivíduos imunocomprometidos; e de morte fetal. O bocavírus humano tem sido detectado em amostras respiratórias de crianças com doença respiratória aguda e em amostras de fezes, mas seu papel na doença não foi comprovado.

PROPRIEDADES DOS PARVOVÍRUS

No Quadro 31.1, fornecemos uma lista das propriedades importantes dos parvovírus. É interessante assinalar que existem parvovírus tanto defeituosos quanto de replicação autônoma.

Estrutura e composição

As partículas icosaédricas sem envelope têm 18 a 26 nm de diâmetro (Fig. 31.1), peso molecular de $5,5$ a $6,2 \times 10^6$ e densidade de

QUADRO 31.1 Propriedades Importantes dos Parvovírus

Virion: icosaédrico, 18 a 26 nm de diâmetro, 32 capsômeros
Composição: DNA (20%), proteína (80%)
Genoma: DNA de fita simples, linear, 5,6 kb, MM de 1,5 a 2,0 milhões
Proteínas: uma principal (VP2) e uma menor (VP1)
Envelope: ausente
Replicação: núcleo, dependente das funções de divisão das células hospedeiras
Características marcantes:
Vírus muito simples
Patógeno humano, B19, possui tropismo para os precursores de eritrócitos
Um gênero é defeitivo para a replicação, exigindo um vírus auxiliar

MM, massa molecular.

flutuação de $1,39$ a $1,42 \text{ g/cm}^3$. Os virions mostram-se extremamente resistentes à inativação, sendo estáveis a pH de 3 a 9, bem como suportando o aquecimento a 56°C durante 60 minutos; entretanto, podem ser inativados por formol, β -propiolactona e agentes oxidantes.

Os virions contêm duas proteínas de revestimento, codificadas por uma sequência de DNA superposta; assim, a VP2 é idêntica à sequência da porção carboxi da VP1. A proteína do capsídeo principal, VP2, representa cerca de 90% da proteína do virion. O genoma consiste em DNA de fita simples linear, de cerca de 5 kb. Um vírus autônomo, o B19, contém 5.596 nucleotídeos, enquanto um parvovírus defeituoso, o AAV-2, contém 4.680 bases. Em geral, os parvovírus autônomos só produzem capsídeo para as fitas de DNA complementares ao RNAm viral; os vírus defeituosos tendem a formar capsídeos para os filamentos de DNA de ambas as polaridades com igual frequência em virions distintos.

Classificação

Existem duas subfamílias de Parvoviridae: os **Parvovirinae**, que infectam vertebrados, e os **Densovirinae**, que infectam insetos. Os Parvovirinae compreendem diversos gêneros. O parvovírus humano B19 é o membro mais comum do gênero *Erythrovirus*. Há três genótipos humanos pertencentes ao gênero *Bocavirus*. O vírus da panleucopenia felina e o parvovírus canino, ambos sérias causas de doenças veterinárias, são classificados como membros do gênero *Parvovirus*, e são isolados de muitos outros animais. O gênero *Dependovirus* contém membros defeituosos e que dependem de um vírus auxiliar (um adenovírus ou herpesvírus) para sua replicação. Os “vírus associados a adenovírus” humanos não foram relacionados com qualquer doença.

Replicação dos parvovírus

O parvovírus B19 humano é extremamente difícil de ser cultivado. O vírus exibe elevado tropismo para as células eritroides humanas. O receptor celular do B19 é o antígeno do grupo sanguíneo P (globosídeo). O antígeno P é expresso nos eritrócitos maduros, progenitores eritroides, megacariócitos, células endoteliais, placenta, fígado e coração fetais, o que ajuda a explicar o estreito tropismo por tecidos do vírus B19. É possível que a integrina $\alpha 5\beta 1$ possa funcionar como correceptor para a entrada do vírus B19 na célula hospedeira.

Os parvovírus dependem extremamente das funções celulares para sua replicação. A replicação do DNA viral ocorre

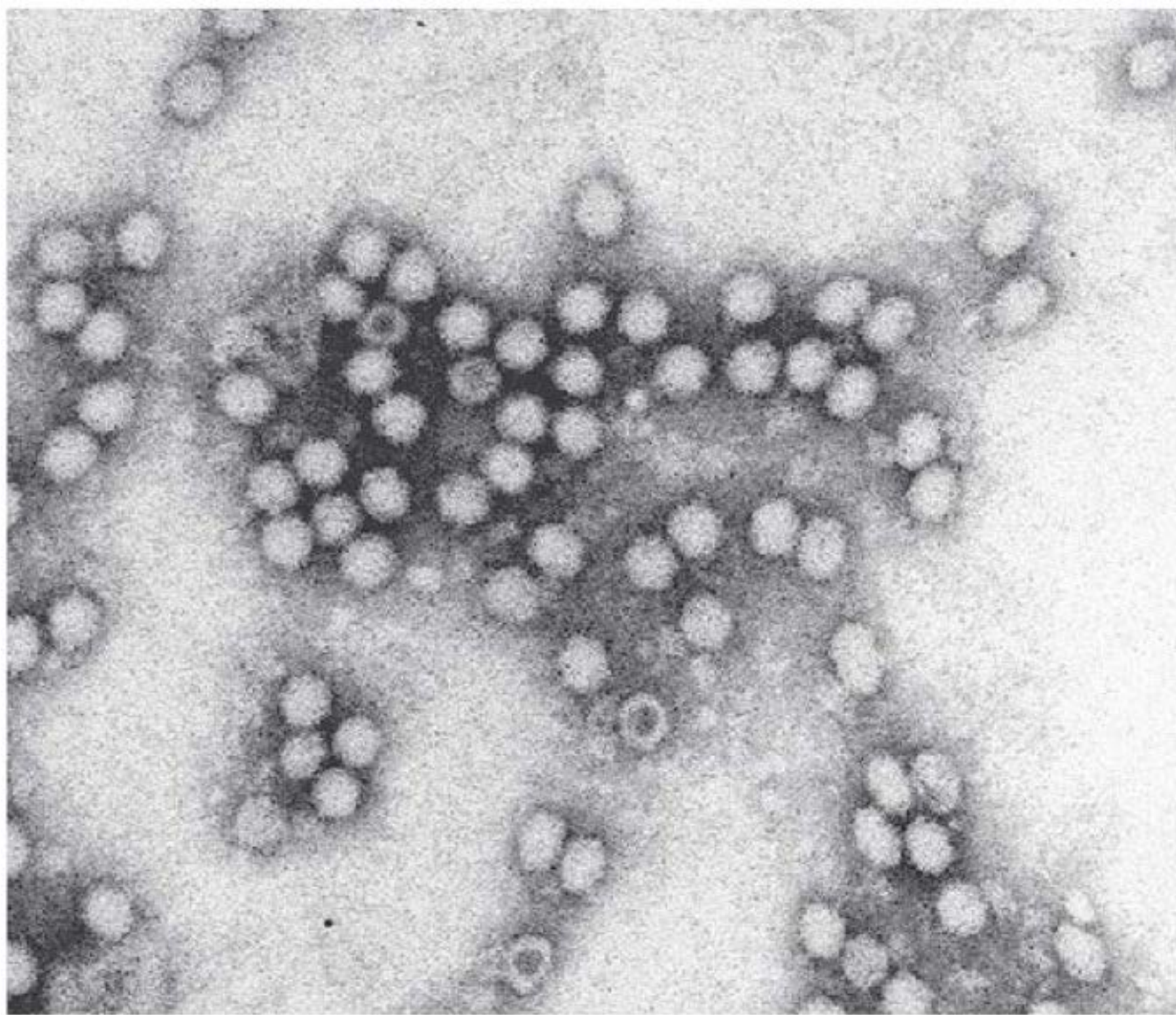


FIGURA 31.1 Micrografia eletrônica de partículas do parvovírus. (Cortesia de FA Murphy e EL Palmer.)

no núcleo. Os parvovírus carecem da capacidade de estimular as células em repouso a iniciarem a síntese do DNA. Assim, somente infectam células que estejam em processo de divisão celular. Uma ou mais DNA polimerases celulares estão envolvidas na replicação viral. Além disso, uma proteína não estrutural denominada NS1 também é necessária nesse processo, resultando em morte celular.

INFECÇÕES POR PARVOVÍRUS EM SERES HUMANOS

Patogênese e patologia

A evolução típica da infecção por parvovírus humano B19 em adultos está ilustrada na Figura 31.2. O B19 foi implicado como agente etiológico de várias doenças (Quadro 31.2). As células imaturas da linhagem eritroide constituem os principais alvos do parvovírus B19 humano. Por conseguinte, acredita-se que os principais locais de replicação do vírus em pacientes sejam a medula óssea do adulto, algumas células sanguíneas e o fígado fetal. A replicação viral provoca morte celular, interrompendo a produção de eritrócitos. Em pacientes imunocomprometidos, ocorrem infecções persistentes pelo vírus B19, resultando em anemia crônica. Nos casos de morte fetal, é possível que a infecção crônica tenha provocado anemia grave no feto.

Como os parvovírus não defectivos necessitam de células hospedeiras em divisão para que possam replicar, as doenças conhecidas causadas por parvovírus refletem a especificidade por alvos (Fig. 31.3).

São produzidos anticorpos IgM e IgG específicos do vírus após infecções pelo parvovírus B19. Ocorrem infecções persistentes por parvovírus em pacientes com imunodeficiência que são incapazes de produzir anticorpos neutralizantes contra o vírus, resultando em anemia. A persistência de baixos níveis do DNA do vírus B19 e, em menor extensão, do DNA do vírus tipo 2 também foi detectada no sangue, na pele, nas tonsilas, no fígado e no líquido sinovial de voluntários imunocompetentes.

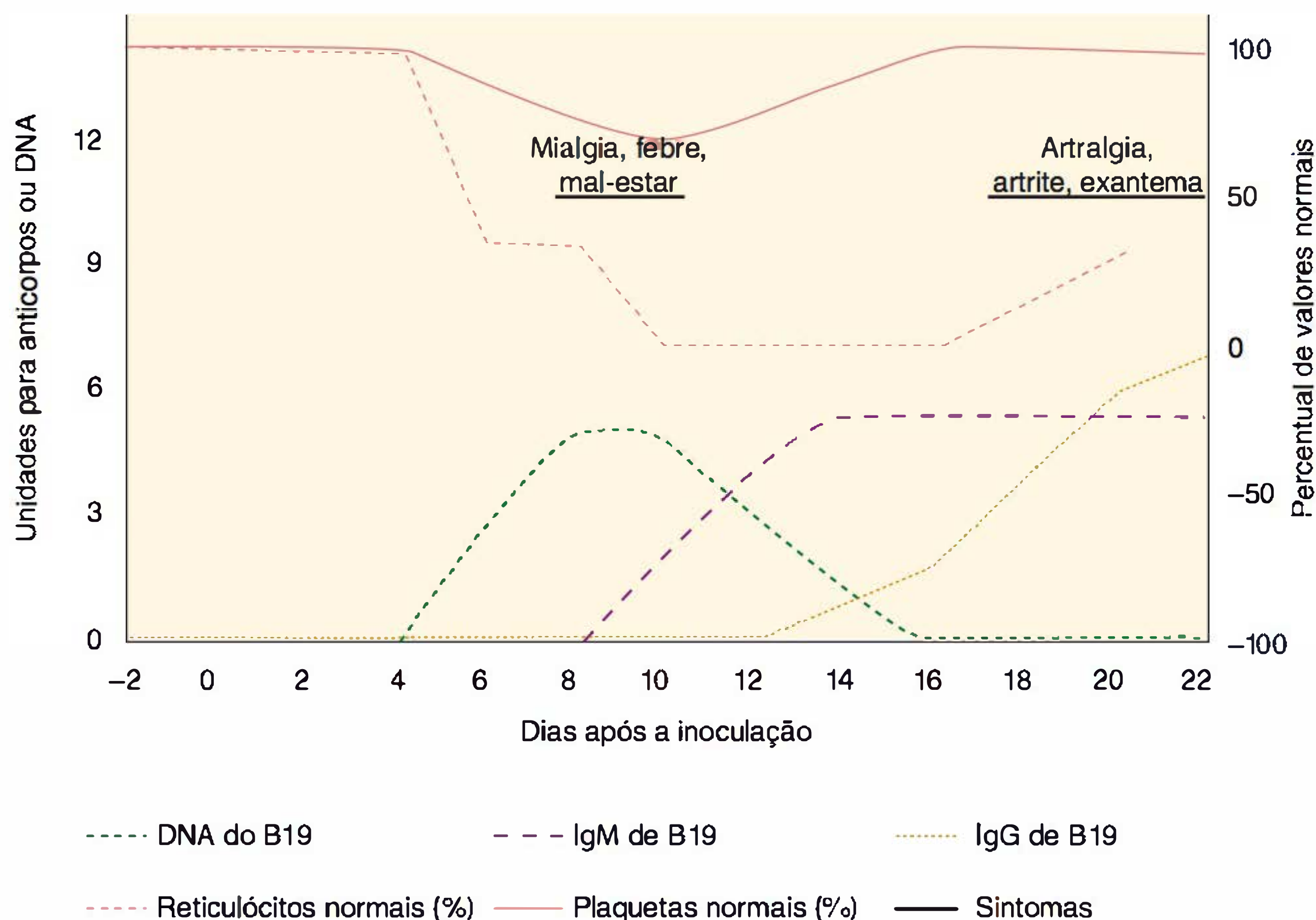


FIGURA 31.2 Dados clínicos e laboratoriais durante a evolução da infecção por parvovírus B19 em voluntários adultos. A primeira fase da doença com sintomas gripais coincide com a viremia (6 a 12 dias); a segunda fase da doença com erupções ocorre por volta do 18 dia. (Reproduzida, com autorização, de Anderson LJ: Human parvovirus B19. In Richman DD, Whitley RJ, Hayden FG [editores]. *Clinical Virology*, 3rd ed. Washington DC: ASM Press, 2009; data taken from Anderson MJ, Higgins PG, Davis LR, et al.: Experimental parvoviral infection in humans. *J Infect Dis* 1985;152:257-265.)

QUADRO 31.2 Doenças humanas associadas ao parvovírus B19

Síndrome	Hospedeiro ou condição	Manifestações clínicas
Eritema infeccioso	Crianças (quinta doença) Adultos	Eritema cutâneo Artralgia-artrite
Crise aplástica transitória	Hemólise subjacente	Anemia aguda grave
Aplasia eritroide pura	Imunodeficiências	Anemia crônica
Hidropsia fetal	Feto	Anemia fatal

Reproduzido, com autorização, de Young NS: Parvoviruses. In Fields BN, Knipe DM, Howley PM (editors-in-chief). *Fields Virology*, 3rd ed. Lippincott-Raven, 1996.

O exantema associado a eritema infeccioso é, pelo menos em parte, mediado por imunocomplexos.

O parvovírus B19 pode ser encontrado no sangue e nas secreções respiratórias de pacientes infectados. A transmissão ocorre presumivelmente por via respiratória. Não há evidências de excreção do vírus nas fezes ou na urina. O vírus pode ser transmitido por via parenteral, através de transfusões sanguíneas ou hemoderivados infectados (concentrados de imunoglobulina e coagulados), bem como verticalmente da mãe para o feto. Como o parvovírus B19 é resistente a tratamentos que inativam vírus com envelope, pode ser encontrado em alguns concentrados de fatores da coagulação. A prevalência de anticorpos contra o parvovírus B19 é mais alta entre os hemofílicos do que entre a população geral; entretanto, o nível mínimo de vírus em hemoderivados capaz de causar infecções é desconhecido.

A patogênese da infecção pelo bocavírus humano não é bem conhecida. Como este tem sido encontrado em amostras respiratórias, presume-se que infecta o trato respiratório e seja

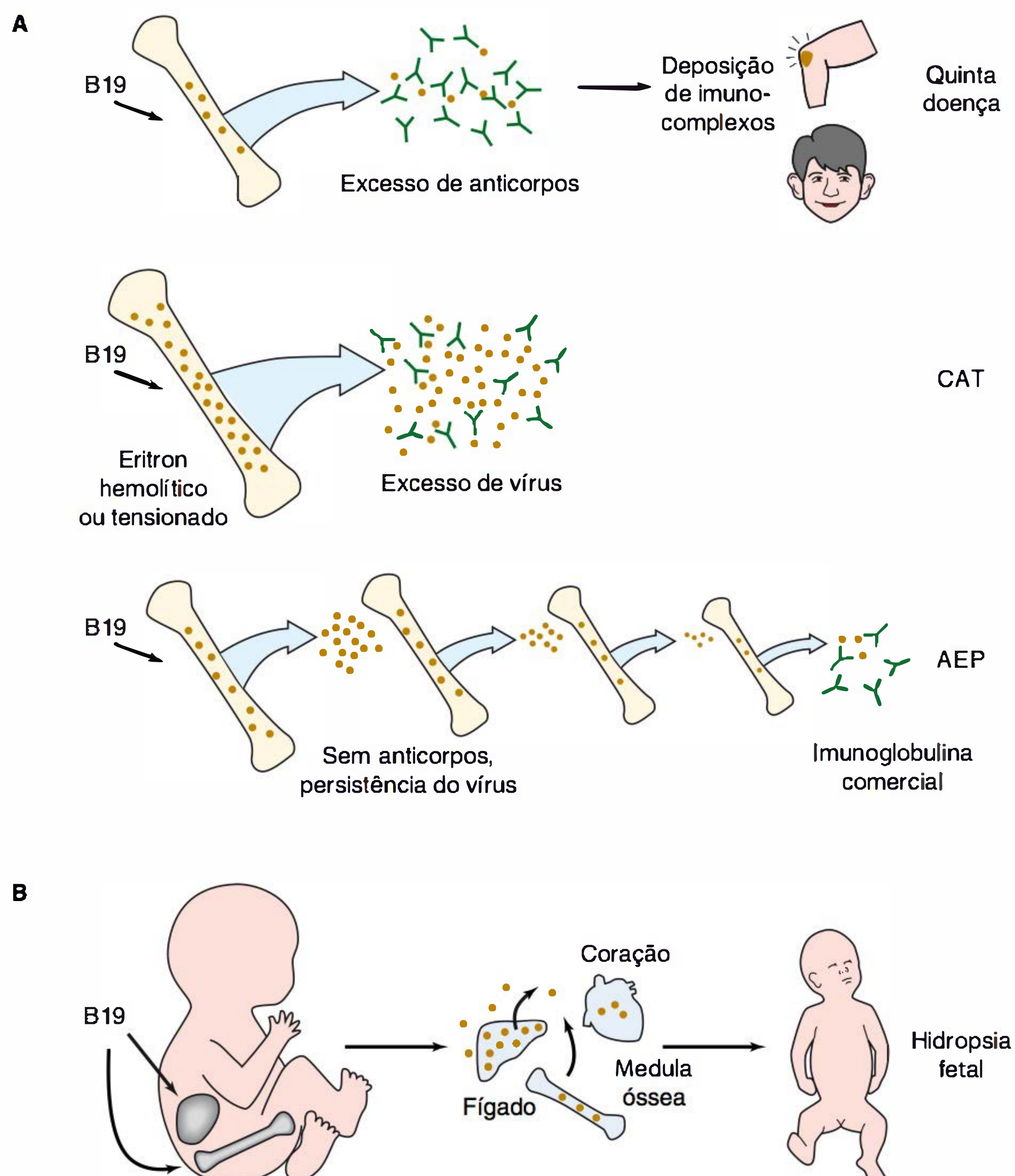


FIGURA 31.3 Patogênese das doenças causadas pelo parvovírus B19. (A) Em crianças e adultos. (CAT, crise aplástica transitória; AEP, aplasia eritroide pura.) (B) Infecções fetais. (Reproduzida, com autorização, de Brown KE, Young NS: Parvovirus B19 infection and hematopoiesis. *Blood Rev* 1995;9:176. Copyright Elsevier.)

transmitido pela rota respiratória. O vírus também tem sido detectado em amostras de fezes e soro.

Diversos parvovírus patogênicos de animais replicam nas células da mucosa intestinal e causam enterite.

Manifestações clínicas

A. Eritema infeccioso (quinta doença)

A manifestação mais comum da infecção por parvovírus B19 humano é o eritema infeccioso ou quinta doença, uma afecção eritematosa mais comum em crianças no início da idade escolar, mas que, em certas ocasiões, também acomete adultos. A erupção cutânea, que exibe um aspecto típico de “bofetada na bochecha” (Fig. 31.4), pode ser acompanhada de sintomas constitucionais discretos. Foram descritos casos esporádicos bem como epidemias. O comprometimento articular constitui uma característica proeminente em adultos; as articulações das mãos e dos joelhos são com mais frequência acometidas. Os sintomas imitam a artrite reumatoide, e a artropatia pode persistir por semanas, meses ou anos.

Em geral, o período de incubação é de 1 a 2 semanas, mas pode estender-se para 3 semanas. A viremia, que ocorre 1 semana após a infecção, persiste durante cerca de 5 dias. Durante o período de viremia, o vírus é encontrado em lavados nasais e amostras de gargarejo, identificando o trato respiratório superior — mais provavelmente a faringe — como local de disseminação viral. A primeira fase da doença ocorre no final da primeira semana; os sintomas assemelham-se aos da gripe e consistem em febre, mal-estar, mialgia, calafrios e prurido. O primeiro episódio da doença coincide cronologicamente com a viremia, reticulocitopenia e detecção de imunocomplexos circulantes de imunoglobulina M (IgM) de parvovírus. Depois de um período de incubação de cerca de 17 dias, começa a segunda fase da doença. O aparecimento de exantema facial eritematoso e erupção semelhante a renda nos membros ou no tronco pode ser acompanhado de sintomas articulares, particularmente em adultos. A doença é de curta duração, e a erupção desaparece depois de 2 a 4 dias, embora os sintomas articulares possam persistir por mais tempo. Anticorpos IgG específicos aparecem cerca de 15 dias após a infecção.



FIGURA 31.4 Eritema infeccioso (quinta doença). Notar as erupções cutâneas, que exibem um aspecto típico de “bofetada na bochecha” na face. (Fonte: CDC Public Health Image Library).

B. Crise aplásica transitória

O parvovírus B19 constitui a causa de crise aplásica transitória que pode complicar a anemia hemolítica crônica, como, por exemplo, em pacientes com anemia falciforme, talassemia e anemias hemolíticas adquiridas em adultos. Além disso, pode ocorrer crise aplásica transitória após transplante de medula óssea. A síndrome consiste em interrupção abrupta da produção de eritrócitos na medula óssea, que se reflete na ausência de precursores eritroides na medula, acompanhada de rápido agravamento da anemia. A infecção diminui a produção de eritrócitos, causando declínio dos níveis de hemoglobina no sangue periférico. A parada temporária na produção de eritrócitos só se torna aparente em pacientes com anemia hemolítica crônica devido à curta sobrevivência dos eritrócitos; a interrupção da eritropoiese por um período de 7 dias não deve induzir anemia detectável no indivíduo normal. Alguns pacientes com anemia apresentam erupção. Os sintomas de crise aplásica transitória ocorrem durante a fase virêmica da infecção.

C. Infecção por B19 em pacientes imunodeficientes

O parvovírus B19 pode estabelecer infecções persistentes e causar supressão crônica da medula óssea bem como anemia crônica em pacientes imunocomprometidos. A doença é denominada aplasia eritroide pura. A anemia é grave, e os pacientes necessitam de transfusões sanguíneas. A doença foi observada em populações de pacientes com imunodeficiência congênita, neoplasias malignas, Aids e transplantes de órgãos.

D. Infecção por B19 durante a gravidez

A infecção materna pelo vírus B19 pode representar um sério risco para o feto, resultando em hidropsia fetal e morte do feto em consequência de anemia grave. O risco global de infecção pelo parvovírus humano durante a gravidez é baixo; ocorre perda fetal em menos de 10% das infecções maternas primárias. A morte fetal ocorre mais comumente antes de 20 semanas de gravidez. Embora ocorra transmissão intrauterina frequente do parvovírus humano (com estimativas de taxas de transmissão de 30% ou superiores), não há evidências de que a infecção pelo parvovírus B19 possa causar anormalidades físicas. A transmissão da mãe para o feto pode ocorrer mais comumente em mulheres grávidas com altas cargas virais plasmáticas.

E. Infecção respiratória por bocavírus humano e infecções gastrintestinais

O bocavírus humano tem sido detectado em 1,5 a 11,3% das amostras do trato respiratório de crianças com infecções respiratórias. É prevalente entre crianças com chiado agudo. Entretanto, o bocavírus é encontrado com frequência em infecções mistas com outros vírus; assim, permanece incerto se o bocavírus é a causa de doença respiratória aguda em crianças. O vírus tem sido detectado em cerca de 3% das amostras de fezes de crianças com gastroenterites. Em virtude do percentual das coinfeções com outros patógenos entéricos ser elevado, a participação efetiva dos bocavírus nas doenças gastrintestinais ainda permanece desconhecida.

Diagnóstico laboratorial

Os testes mais sensíveis detectam o DNA viral. Os testes disponíveis consistem em reação em cadeia da polimerase (PCR) e hibridização com sondas de DNA a partir do soro ou extratos teciduais, e hibridização *in situ* de tecido fixado. Contudo, a PCR é o teste mais sensível. O DNA do parvovírus B19 foi detectado no soro, em células sanguíneas, amostras de tecidos e secreções respiratórias. Durante as infecções agudas, as cargas virais no sangue podem atingir aproximadamente 10^{11} cópias/mL. Os ensaios por PCR para a identificação do parvovírus B19 não detectam outros parvovírus devido a diferenças entre as sequências genômicas. O único ensaio atualmente disponível para o bocavírus humano é a reação em cadeia da polimerase. O DNA de bocavírus tem sido encontrado no soro, amostras de fezes e amostras do trato respiratório.

Para medir os anticorpos, são utilizados ensaios sorológicos baseados em antígenos do parvovírus B19 recombinantes, produzidos *in vitro*, pelo sistema de expressão em bactérias ou baculovírus. Partículas tipo VP2 parecem atuar bem como antígeno para a detecção de anticorpos. A detecção do anticorpo IgM antiB19 indica infecção recente e verifica-se sua presença 2 a 3 meses após a infecção. Os anticorpos IgG antiB19 contra epítomos conformacionais em VP1 e VP2 persistem por vários anos, embora a resposta contra os epítomos lineares decline meses após a infecção. Os anticorpos podem não ser encontrados em pacientes imunodeficientes com infecções crônicas pelo parvovírus B19. Nesses pacientes, a infecção crônica é diagnosticada pela detecção do DNA viral.

Os testes para detecção de antígenos podem identificar altos títulos do vírus B19 em amostras clínicas. A imunohistoquímica tem sido empregada para detectar antígenos B19 em tecidos fetais e na medula óssea.

O crescimento dos vírus humanos B19 e do bocavírus é difícil. O isolamento do vírus não é utilizado para detectar a infecção.

Epidemiologia

O vírus B19 é disseminado. Podem ocorrer infecções durante todo o ano, em todos os grupos etários e em forma de surtos ou casos esporádicos. As infecções são mais comumente observadas em forma de epidemias em escolas. A infecção por parvovírus é comum na infância; com maior frequência surgem anticorpos entre 5 e 19 anos de idade. Até 60% dos adultos e 90% dos indivíduos idosos são soropositivos.

A infecção pelo vírus B19 parece ser transmitida através do trato respiratório. Os vírus são estáveis no meio ambiente, e superfícies contaminadas podem estar envolvidas na transmissão. A transmissão entre irmãos, crianças em idade escolar e em creches constitui a principal via de transmissão. A fonte de infecção materna durante a gravidez provém frequentemente do filho mais velho. Muitas infecções são subclínicas. As estimativas das taxas de ataque em contatos suscetíveis variam de 20 a 50%.

Já foi documentada a transmissão do vírus B19 em pacientes com crise aplásica para membros da equipe hospitalar. Os pacientes com crise aplásica são provavelmente infecciosos durante a evolução da doença, enquanto os pacientes com a

quinta doença talvez já não sejam mais infecciosos no momento do aparecimento do exantema.

A epidemiologia do bocavírus humano não é conhecida. Esse vírus tem sido encontrado em crianças pequenas e parece ter distribuição global.

Tratamento

A quinta doença e a crise aplásica transitória são tratadas de modo sintomático. A última requer terapia por transfusão.

As preparações comerciais de imunoglobulinas contêm anticorpos neutralizantes contra o parvovírus humano, podendo às vezes melhorar as infecções persistentes pelo parvovírus B19 em pacientes imunocomprometidos e com anemia.

Não existe tratamento para as infecções por bocavírus humano.

Prevenção e controle

Não existe vacina contra o parvovírus humano, embora haja boas expectativas quanto ao possível desenvolvimento de uma vacina. Existem vacinas eficazes contra parvovírus animais para uso em gatos, cães e suínos. Não existe terapia antiviral.

Boas práticas de higiene, tais como lavagem das mãos e não compartilhamento de copos com outras pessoas, podem ajudar a prevenir a disseminação do B19 por secreções respiratórias, aerossóis e fômites. Práticas padronizadas de controle de infecções devem ser seguidas para se evitar a transmissão do vírus B19 de pacientes com crise aplásica e dos imunodeficientes com infecção crônica pelo parvovírus B19 para os profissionais da área de saúde.

RESUMO DO CAPÍTULO

- Os parvovírus são vírus muito simples, pequenos e com genoma de DNA de fita simples.
- O vírus B19 humano apresenta elevado tropismo pelas células eritroides humanas.
- O vírus B19 humano está associado ao eritema infeccioso (quinta doença), crise aplásica transitória, aplasia eritroide pura e a hidropsia fetal.
- Os bocavírus humanos têm sido associados a doença respiratória aguda e a gastroenterites em crianças. Contudo, sua participação nessas patologias ainda não está devidamente comprovada.
- Os vírus B19 e os bocavírus são difíceis de serem cultivados. Seu diagnóstico depende de testes moleculares.

QUESTÕES DE REVISÃO

1. Qual das seguintes alternativas melhor descreve uma propriedade físico-química dos parvovírus?
 - (A) Partícula viral com envelope
 - (B) Genoma de DNA de fita simples
 - (C) A infectividade é inativada por tratamento com éter
 - (D) O virion exibe simetria helicoidal
 - (E) O virion tem aproximadamente o mesmo tamanho dos herpesvírus

2. Uma criança de 8 anos de idade teve recentemente um eritema infeccioso. A mãe, de 33 anos, desenvolveu, subsequentemente, uma artralgia seguida de artrite dolorosa com inchaço nas articulações das mãos. Além do aparente tropismo por articulações, o parvovírus humano B19 apresenta alto tropismo por qual tipo de célula?
- (A) Linfócitos CD4
(B) Células dos túbulos renais
(C) Células eritroides
(D) Células gliais
(E) Placas de Peyer
3. A criança da Questão 2 tinha uma doença com mais de uma fase. Que sintoma coincide com a segunda fase da doença?
- (A) Dor de garganta
(B) Erupções cutâneas
(C) Cefaleia
(D) Diarreia
(E) Tosse
4. Um homem de 42 anos de idade com HIV/Aids apresenta-se com anemia aplásica. Por meio da reação em cadeia da polimerase, detectou-se o parvovírus B19 em seu soro. O paciente presumivelmente adquiriu essa infecção de outra pessoa. A via de transmissão mais provável é:
- (A) Por contato com secreções respiratórias ou aerossóis
(B) Por contato com erupções cutâneas
(C) Através de atividade sexual
(D) Através de transfusão de sangue recente
5. Qual das seguintes alternativas indica uma doença na qual o papel do parvovírus B19 não está bem esclarecido?
- (A) Eritema infeccioso
(B) Crise aplásica transitória
(C) Hidropsia fetal
(D) Hepatite fulminante
6. Qual das seguintes alternativas melhor descreve a replicação do parvovírus humano B19?
- (A) Estimula células em repouso a proliferar
(B) Usa o antígeno do grupo sanguíneo P como receptor celular
(C) Estabelece facilmente infecções persistentes
(D) O ciclo completo de replicação ocorre no citoplasma
(E) A produção da progênie infecciosa requer a presença de vírus auxiliares
7. Qual das seguintes afirmativas é a mais correta em relação às infecções causadas por parvovírus humano B19?
- (A) O parvovírus B19 é transmitido facilmente durante o intercuro sexual
(B) Os pacientes com doença disseminada causada por parvovírus B19 devem ser tratados com aciclovir
(C) O parvovírus B19 não causa doença humana
(D) Não existe vacina contra o parvovírus humano
8. O bocavírus humano é um parvovírus recém-descoberto. Esse vírus tem sido detectado com maior frequência em que tipo de amostra?
- (A) Urina
(B) Sangue do cordão umbilical
(C) Secreções respiratórias
(D) Fígado do feto
(E) Medula óssea
9. Qual das seguintes alternativas está disponível com o tratamento ou prevenção para infecções por parvovírus B19?
- (A) Imunoglobulina humana
(B) Vacina contendo antígeno viral recombinante VP2
(C) Transplante de medula óssea
(D) Fármacos antivirais que bloqueiam a interação vírus-receptor
10. Os eritrovírus e os bocavírus compartilham as seguintes propriedades com exceção da:
- (A) São vírus pequenos e não envelopados
(B) São de difícil cultivo
(C) Causam anemia
(D) Apresentam distribuição global
(E) Não existe vacina

Respostas

- | | | | |
|------|------|------|-------|
| 1. B | 4. A | 7. D | 10. C |
| 2. C | 5. D | 8. C | |
| 3. B | 6. B | 9. A | |

REFERÊNCIAS

- Allander T, Jartti T, Gupta S et al.: Human bocavirus and acute wheezing in children. *Clin Infect Dis* 2007;44:904.
- Corcoran A, Doyle S: Advances in the biology, diagnosis, and host-pathogen interactions of parvovirus B19. *J Med Microbiol* 2004;53:459.
- Faisst S, Rommelaere J (editors): *Parvoviruses: From Molecular Biology to Pathology and Therapeutic Uses*. Karger, 2000.
- Magro CM, Dawood MR, Crowson AN: The cutaneous manifestations of human parvovirus B19 infection. *Hum Pathol* 2000;31:488.
- Norja P, Hokynar K, Aaltonen LM et al.: Bioportfolio: Lifelong persistence of variant and prototypic erythrovirus DNA genomes in human tissue. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006;103:7450.
- Saldanha J, Lelie N, Yu MW et al.: Establishment of the first World Health Organization International Standard for human parvovirus B19 DNA nucleic acid amplification techniques. *Vox Sang* 2002;82:24.
- Servant-Delmas A, Lefrère JJ, Morinet F, Pillet S: Advances in human B19 erythrovirus biology. *J Virol* 2010;84:9658.
- Wang K, Wang W, Yan H et al.: Correlation between bocavirus infection and humoral response, and co-infection with other respiratory viruses in children with acute respiratory infection. *J Clin Virol* 2010;47:148.

Adenovírus

Os adenovírus podem replicar-se e causar doença nos trato respiratório, gastrintestinal, urinário e nos olhos. Muitas infecções por adenovírus são subclínicas, e o vírus pode persistir no hospedeiro durante meses. Cerca de 33% dos 51 sorotipos humanos conhecidos são responsáveis pela maioria dos casos de doença humana por adenovírus. Poucos tipos servem como modelos para a indução de câncer em animais. Os adenovírus são sistemas particularmente valiosos para os estudos moleculares e bioquímicos dos processos que ocorrem nas células eucarióticas. Eles também são importantes vetores para terapias genéticas.

PROPRIEDADES DOS ADENOVÍRUS

No Quadro 32.1, fornecemos uma lista das propriedades importantes dos adenovírus.

Estrutura e composição

Os adenovírus têm 70 a 90 nm de diâmetro e exibem simetria icosaédrica, com capsídeos constituídos de 252 capsômeros. Não apresentam envelope. Os adenovírus são peculiares entre os vírus icosaédricos, devido à presença de uma estrutura denominada “fibra”, que se projeta a partir de cada um dos 12 vértices ou bases pêntons (Figs. 32.1 e 32.2). O restante do capsídeo é composto de 240 capsômeros de éxons. Os éxons,

QUADRO 32.1 Propriedades importantes dos adenovírus

Virion: icosaédrico, 70 a 90 nm de diâmetro, 252 capsômeros; fibras que se projetam de cada vértice
Composição: DNA (13%), proteína (87%)
Genoma: DNA de fita dupla, linear, 26 a 45 kbp, proteína ligada à porção terminal, que é infecciosa
Proteínas: antígenos importantes (éxon, base pênton, fibra) estão associados às principais proteínas externas do capsídeo
Envelope: ausente
Replicação: no núcleo
Características marcantes: excelentes modelos para estudos moleculares de processos celulares eucarióticos

os pêntons e as fibras constituem os principais antígenos adenovirais importantes na classificação do vírus e no diagnóstico da doença.

O DNA genômico (26 a 45 kbp) é de fita dupla linear. A sequência do DNA dos genomas de muitos tipos de adenovírus é conhecida. O genoma viral para o tipo 2 contém 36.000 pares de bases. O conteúdo de guanina-citosina do DNA é menor (48 a 49%) nos adenovírus do grupo A (tipos 12, 18 e 31), os tipos mais fortemente oncogênicos, podendo atingir até 61% em outros tipos. Esse critério é empregado na classificação dos vírus humanos isolados. O DNA viral contém uma proteína codificada pelo vírus, ligada covalentemente a cada extremidade 5' do genoma linear. O DNA pode ser isolado em uma forma infecciosa, e a infecciosidade relativa desse DNA diminuirá pelo menos 100 vezes se a proteína terminal for removida por proteólise. O DNA está condensado no núcleo do virion; uma proteína codificada pelo vírus, o polipeptídeo VII (Fig. 32.2B), é importante na formação da estrutura do núcleo.

Existem cerca de 11 proteínas do virion, cujas exposições estruturais são apresentadas na Figura 32.2B. Os capsômeros dos éxons e pêntons são os principais componentes na superfície da partícula viral. Existem epítomos específicos do grupo e específicos do tipo nos polipeptídeos dos éxons e das fibras. Todos os adenovírus humanos exibem essa antigenicidade comum de éxon. Os pêntons ocorrem nos 12 vértices do capsídeo e apresentam fibras que se projetam. A base pênton tem atividade semelhante à de uma toxina, que induz o rápido aparecimento de efeitos citopáticos e descolamento das células da superfície na qual estão crescendo. A base pênton exibe outro antígeno grupo-reativo. As fibras contêm antígenos específicos do tipo importantes na sorotipagem. As fibras estão associadas à atividade de hemaglutinação. Como a hemaglutinina é específica do tipo, os testes de inibição da hemaglutinação são comumente utilizados para a tipagem dos vírus isolados. Todavia, é possível isolar vírus recombinantes e que provocam reações divergentes nos ensaios de neutralização e de inibição da hemaglutinação.

Classificação

Os adenovírus foram isolados de uma ampla variedade de espécies, sendo classificados em cinco gêneros. Todos os adenovírus humanos são classificados no gênero *Mastadenovirus*. Pelo menos 51 tipos antigênicos distintos foram isolados a partir dos seres humanos assim como muitos outros tipos de vários animais.

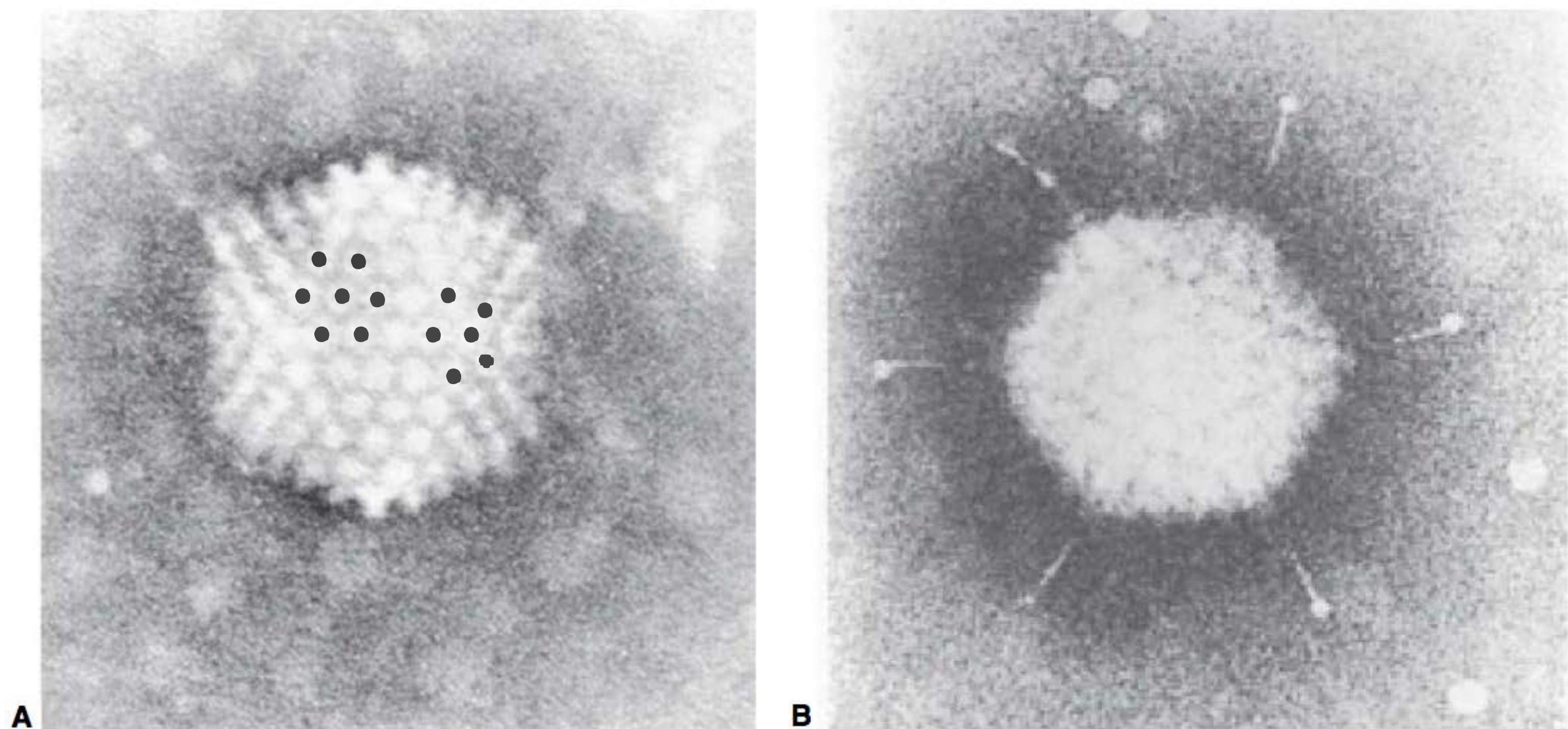


FIGURA 32.1 Micrografias eletrônicas de adenovírus. (A) A partícula viral exibe simetria cúbica e não apresenta envelope. Um capsômero de éxon (circundado por 6 éxons idênticos) e um capsômero de pênion (circundado por 5 éxons) estão assinalados com pontos. (B) Observar as fibras que se projetam dos vértices dos capsômeros de pênion (ampliada 285.000 vezes). (Reproduzida, com autorização, de Valentine RC, Pereira HG: Antigen and structure of the adenovirus. *J Mol Biol* 1965;13:13.)

Os adenovírus humanos são divididos em seis grupos (A a F) com base nas suas propriedades genéticas, físicas, químicas e biológicas (Quadro 32.2). Os adenovírus de determinado grupo apresentam fibras de comprimento característico, exibem considerável homologia do DNA (> 85% em comparação com < 20% para os membros de outros grupos) e apresentam capacidade semelhante de aglutinar os eritrócitos de macacos ou ratos. Os membros de determinado grupo de adenovírus assemelham-se entre si quanto ao conteúdo de guanina-citossina do DNA e ao seu potencial de induzir tumores em roedores

recém-nascidos. É importante assinalar que os vírus de determinado grupo tendem a comportar-se de modo semelhante no que concerne a propagação epidemiológica e associação com doenças.

Replicação dos adenovírus

Os adenovírus só se replicam adequadamente em células de origem epitelial. O ciclo de replicação é claramente dividido em eventos iniciais e tardios. A expressão cuidadosamente

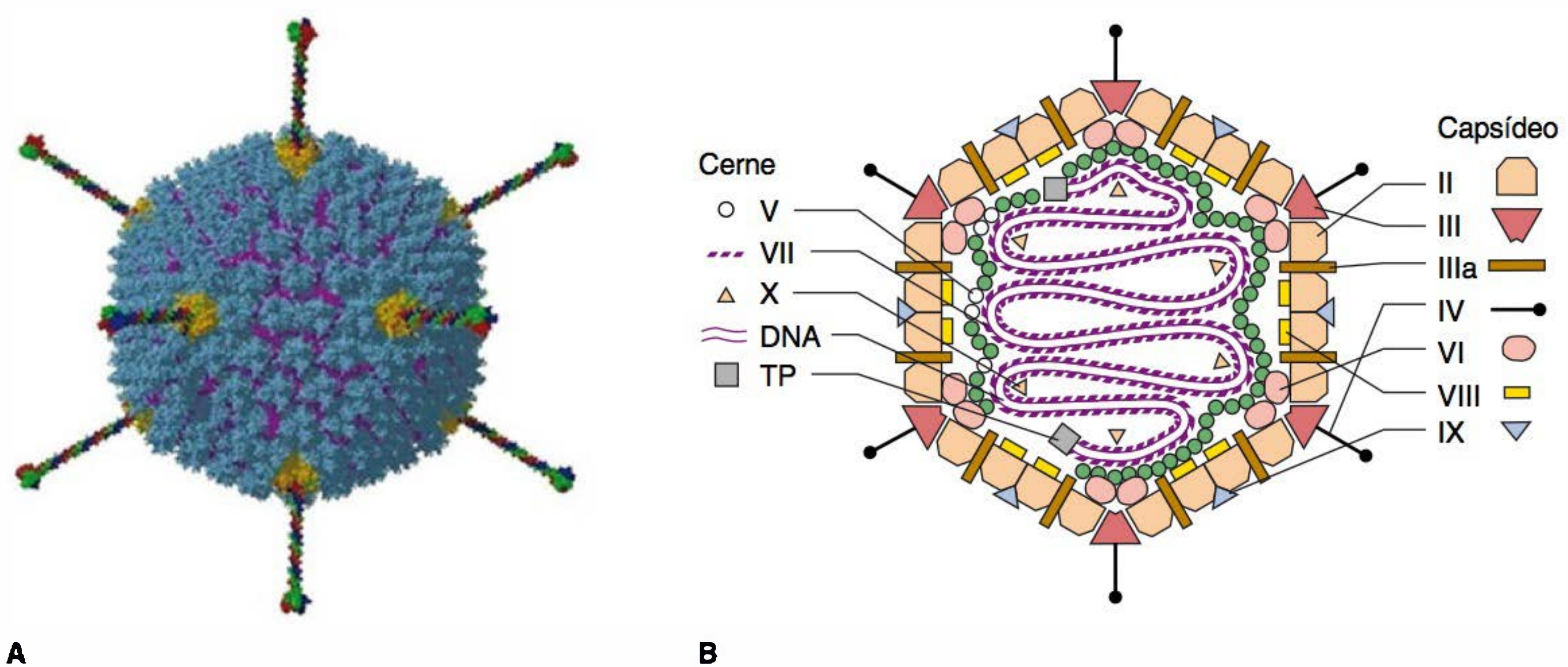


FIGURA 32.2 Modelos de virions de adenovírus. (A) Reconstrução tridimensional da partícula intacta de adenovírus vista ao longo de um eixo triplo icosaédrico. (Reproduzida, com autorização, de Liu H, Wu L, Zhou ZH: Model of trimeric fiber and its interactions with the pentameric penton base of human adenovirus bt cryo-electron microscopy. *J Mol Biol* 2011;406:764. [Graphical abstract]. Copyright Elsevier.). (B) Corte estilizado da partícula de adenovírus, que mostra os componentes polipeptídicos e o DNA. Nenhuma seção verdadeira do virion icosaédrico poderia conter todos os componentes. Os constituintes do virion são designados pelos números de polipeptídeos, com exceção da proteína terminal (TP, de *terminal protein*). (Reproduzida, com autorização, de Stewart PL, Burnett RM: Adenovirus structure as revealed by x-ray crystallography, electron microscopy and difference imaging. *Jpn J Appl Phys* 1993;32:1342.)

QUADRO 32.2 Esquemas de classificação para os adenovírus humanos

Grupo	Sorotipos	Hemaglutinação		Percentual de G + C ^a no DNA	Potencial oncogênico	
		Grupo	Resultado		Tumorigenicidade <i>in vivo</i> ^b	Transformação de células
A	12, 18, 31	IV	Nenhuma	48 a 49	Alta	+
B	3, 7, 11, 14, 16, 21, 34, 35, 50	I	Macaco (completa)	50 a 52	Moderada	+
C	1, 2, 5, 6	III	Rato (parcial)	57 a 59	Baixa ou nenhuma	+
D	8-10, 13, 15, 17, 19, 20, 22-30, 32, 33, 36-39, 42-49, 51	II	Rato (completa)	57 a 61	Baixa ou nenhuma ^c	+
E	4	III	Rato (parcial)	57	Baixa ou nenhuma	+
F	40, 41	III	Rato (parcial)	57 a 59	Baixa ou nenhuma	+

^aGuanina mais citosina.

^bIndução de tumor em *hamsters* recém-nascidos.

^cAdenovírus 9 pode induzir tumores mamários em ratos.

regulada dos eventos sequenciais no ciclo dos adenovírus encontra-se resumida na Figura 32.3. A distinção entre eventos iniciais e tardios não é absoluta nas células infectadas; os genes precoces continuam sendo expressos durante todo o ciclo, enquanto alguns genes começam a ser expressos em uma fase “intermediária”; baixos níveis de transmissão de genes tardios podem ocorrer logo após a infecção.

A. Fixação, penetração e desnudamento do vírus

O vírus fixa-se às células por meio das fibras. O receptor celular para alguns sorotipos é o receptor de *coxsackie* e adenovírus (*Coxsackie and adenovirus receptor* [CAR]), membro de uma superfamília de imunoglobulinas. A interação da base pênton com integrinas celulares após a fixação promove a etapa de internalização. A adsorção e a internalização constituem etapas distintas no processo de infecção dos adenovírus, exigindo a interação das proteínas das fibras e dos pêntons com diferentes proteínas-alvo celulares. O vírus adsorvido é internalizado em endossomos; e a maioria das partículas (cerca de 90%) desloca-se rapidamente dos endossomos para o citosol (meia-vida de cerca de 5 min) por meio de um processo deflagrado pelo pH ácido do endossomo. É provável que haja a participação de microtúbulos no transporte das partículas virais através do citoplasma até o núcleo. O desnudamento começa no citoplasma e termina no núcleo, ocorrendo a liberação do DNA talvez na membrana nuclear. O desnudamento é um processo organizado e sequencial que sistematicamente destrói as interações estabilizantes que se formaram durante a maturação da partícula viral.

B. Eventos iniciais

As etapas que ocorrem antes do início da síntese do DNA viral são definidas como eventos iniciais, que têm por objetivo induzir a célula do hospedeiro a entrar na fase S do ciclo celular

para criar condições favoráveis à replicação do vírus, expressar funções virais que protegem a célula infectada dos mecanismos de defesa do hospedeiro e sintetizar os produtos gênicos virais necessários à replicação do DNA viral.

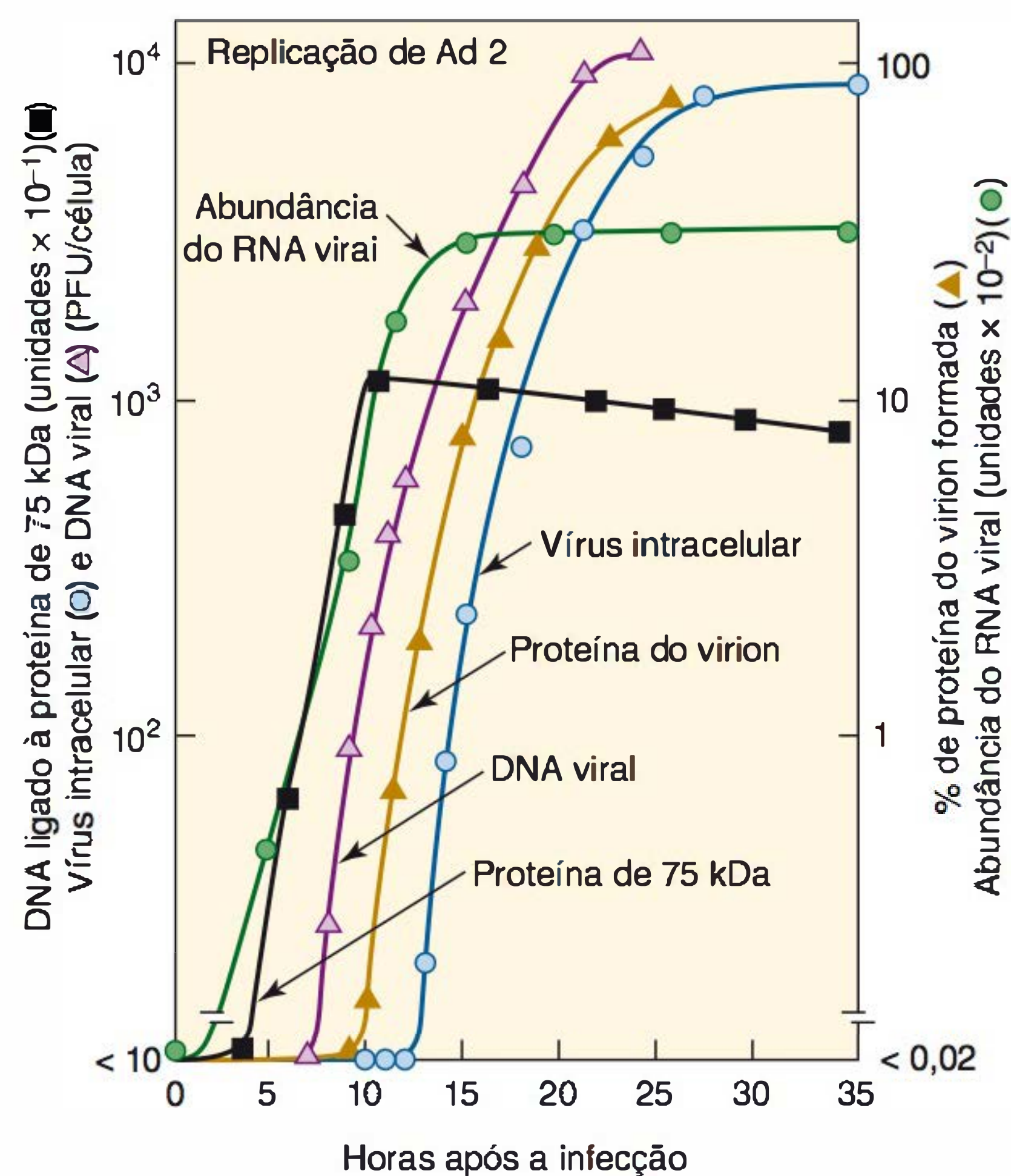


FIGURA 32.3 Evolução cronológica do ciclo de replicação do adenovírus. O tempo transcorrido entre a infecção e o aparecimento da progênie viral é conhecido como período de eclipse. Observar a regulação sequencial de eventos específicos no ciclo de replicação viral. “PFU” (*plaque-forming unit*) significa “unidade formadora de placa”, uma medida do vírus infeccioso. (Cortesia de M Green.)

As transcrições iniciais (E, de *early*) provêm de sete regiões amplamente distintas do genoma viral e de ambas as fitas do DNA viral. Mais de 20 proteínas iniciais, muitas delas não estruturais e as que estão envolvidas na replicação do DNA viral, são sintetizadas nas células infectadas por adenovírus. O gene inicial E1A é particularmente importante, devendo ser expresso para que as outras regiões iniciais sejam transcritas. A modulação do ciclo celular é efetuada pelos produtos do gene E1A. A região inicial E1B codifica proteínas que bloqueiam a morte celular (apoptose) que ocorre devido às funções de E1A, o que é necessário para impedir a morte celular prematura que afetaria adversamente a produção de vírus. As regiões E1A e E1B contêm os únicos genes dos adenovírus envolvidos na transformação celular, cujos produtos gênicos formam proteínas celulares (p. ex., pRb, p300, p53) que regulam a progressão do ciclo celular. As proteínas iniciais são representadas pela proteína de ligação do DNA de 75 kDa, ilustrada na Figura 32.3.

C. Replicação do DNA viral e eventos tardios

A replicação do DNA viral ocorre no núcleo. A proteína terminal de ligação covalente, codificada pelo vírus, atua como iniciador (*primer*) para a síntese do DNA viral.

Os eventos tardios surgem concomitantemente ao início da síntese do DNA viral. O promotor tardio principal controla a expressão dos genes tardios (L, de *late*), que codificam as proteínas estruturais do vírus. Existe uma única transcrição primária grande (com cerca de 29.000 nucleotídeos de comprimento), processada por junção (*splicing*), produzindo pelo menos 18 RNAm tardios diferentes, agrupados (L1 a L5) com base na utilização de locais de acréscimo de poli(A) comuns. As transcrições processadas são transportadas para o citoplasma, em que as proteínas virais são sintetizadas.

Embora os genes do hospedeiro continuem a ser transcritos no núcleo em uma etapa tardia da evolução da infecção, poucas sequências genéticas do hospedeiro são transportadas para o citoplasma. Um complexo envolvendo o polipeptídeo E1B de 55 kDa e o polipeptídeo E4 de 34 kDa inibe o acúmulo citoplasmático de RNAm celular e facilita o acúmulo de RNAm virais, talvez por realocação de um suposto fator celular necessário para o transporte do RNAm. São produzidas quantidades muito grandes de proteínas estruturais virais.

É interessante assinalar que os estudos com RNAm do éxon de adenovírus levaram à notável descoberta de que os RNAm eucarióticos em geral não são colineares com seus genes, mas constituem produtos de junção de regiões de codificação distintas do DNA genômico.

D. Organização e maturação do vírus

A morfogênese do virion ocorre no núcleo. Cada éxon do capsômero é um trímero de polipeptídeos idênticos. O pânton é constituído de cinco polipeptídeos de base pânton e três polipeptídeos de fibra. Uma “proteína de suporte” tardia codificada por L4 ajuda na agregação dos polipeptídeos do éxon, mas não faz parte da estrutura final.

Os capsômeros reúnem-se dentro de capsídeos com envelope vazio no núcleo. Em seguida, o DNA desnudo penetra no capsídeo pré-formado. Um elemento de DNA de ação *cis*, próximo à extremidade esquerda do cromossomo viral, atua como sinal

de empacotamento, necessário ao evento de reconhecimento do DNA-capsídeo. Outra proteína de suporte viral, codificada no grupo L1, facilita a formação de capsídeo para o DNA. Por fim, as proteínas precursoras do núcleo são clivadas, permitindo que a partícula adote a sua configuração, com o acréscimo dos pântons. Uma cisteína proteinase codificada pelo vírus atua em algumas clivagens das proteínas precursoras. A partícula madura torna-se estável, infecciosa e resistente a nucleases. O ciclo infeccioso do adenovírus leva cerca de 24 horas. O processo de organização é ineficaz; cerca de 80% dos capsômeros do éxon e 90% do DNA viral não são empregados. Não obstante, cerca de 100.000 partículas de vírus são produzidas por cada célula. As proteínas estruturais associadas às partículas virais maduras estão relacionadas na Figura 32.2B.

E. Efeitos dos vírus sobre os mecanismos de defesa do hospedeiro

Os adenovírus codificam vários produtos gênicos que se opõem aos mecanismos de defesa antivirais do hospedeiro. Os pequenos e abundantes RNA VA fornecem proteção contra o efeito antiviral do interferon, prevenindo a ativação de uma quinase induzível por interferon que fosforila e inativa o fator de iniciação eucariótico 2. As proteínas da região E3 do adenovírus, que não são essenciais para o crescimento viral em cultura de tecido, inibem a citólise das células infectadas pela resposta do hospedeiro. A proteína E3 gp de 19 kDa bloqueia a expressão do antígeno, juntamente com o complexo de histocompatibilidade principal classe I (MHC I) (*major histocompatibility complex class I*) na superfície celular, protegendo, assim, a célula infectada da lise mediada pelos linfócitos T citotóxicos (CTL) (*cytotoxic T lymphocytes*). Outras proteínas codificadas por E3 bloqueiam a indução da citólise pela citocina TNF- α .

F. Efeitos dos vírus sobre as células

Os adenovírus são citopáticos em culturas de células humanas, particularmente células renais e células epiteliais contínuas de cultura primária. Em geral, o efeito citopático consiste em arredondamento acentuado, aumento de tamanho e agregação das células afetadas, formando agregados semelhantes a cachos de uva. As células infectadas não sofrem lise, apesar de ficarem arredondadas e desprender-se da superfície de vidro sobre a qual cresceram.

Inclusões intranucleares arredondadas contendo DNA são observadas em células infectadas por alguns tipos de adenovírus (Fig. 32.4). Essas inclusões nucleares podem ser confundidas com as do citomegalovírus; todavia, as infecções causadas por adenovírus não induzem a formação de sincícios ou células gigantes multinucleares. Embora as alterações citológicas não sejam patognômicas dos adenovírus, são úteis para fins diagnósticos em cultura de tecidos e amostras de biópsia.

As partículas virais no núcleo frequentemente exibem arranjos cristalinos. As células infectadas por vírus do grupo B também contêm cristais constituídos de proteína sem ácido nucleico. As partículas virais permanecem no interior da célula até que o ciclo se complete e a célula morra.

Os adenovírus do grupo C provocam infecções latentes nas tonsilas e nas adenoides, de crianças predominantemente no interior de linfócitos T. Espécimes clínicos da maioria das

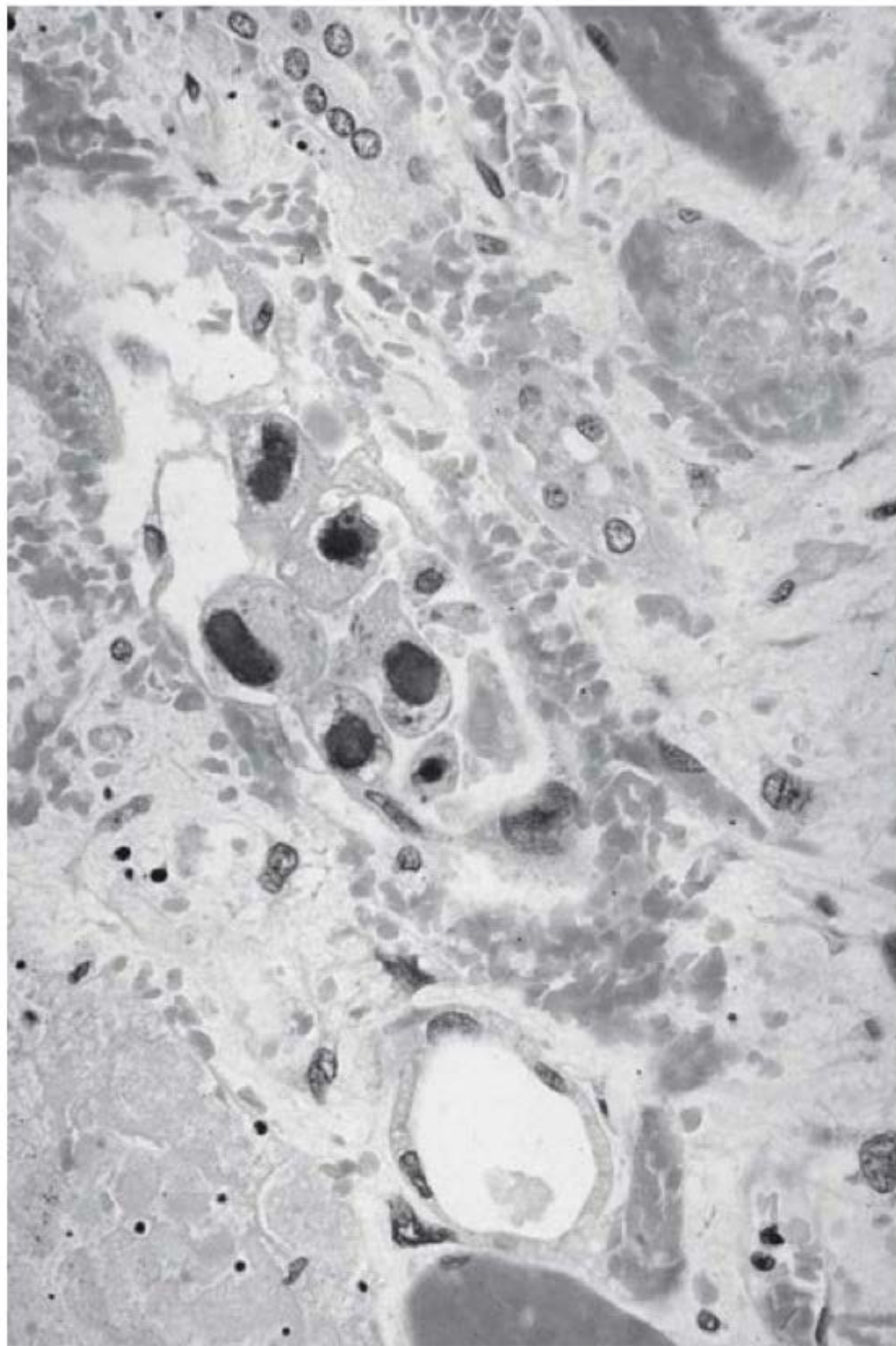


FIGURA 32.4 Citopatologia do adenovírus em tecido humano. Células epiteliais tubulares com corpúsculos de inclusão basofílicos de paciente com nefrite tubulointersticial necrosante (ampliada 450 vezes). (Cortesia de M Ito.)

crianças menores contêm o DNA viral. No entanto, esse é menos frequentemente detectado nos tecidos de adolescentes e de adultos. Os tipos 1, 2 e 5 são mais comumente detectados. A replicação do vírus é rara nos linfócitos.

Os adenovírus humanos exibem estreita variedade de hospedeiros. Quando ocorre infecção de células de outras espécies que não as dos seres humanos, os adenovírus humanos em geral sofrem um ciclo de replicação abortivo, e a progênie infecciosa não é produzida.

Terapia gênica

Os adenovírus estão sendo usados como veículos de liberação de genes para a terapia contra o câncer, terapia gênica e estudos de imunização genética. São atraentes, uma vez que os vírus recombinantes de replicação defeituosa apresentam vantagens de alta eficiência de transdução para muitos tipos de célula e altos níveis de expressão por tempo reduzido dos genes transduzidos; entretanto, sua alta imunogenicidade e a alta prevalência de imunidade preexistente em seres humanos para os adenovírus do subgrupo C (os tipos 2 e 5 são largamente utilizados como vetores) constituem significativas limitações. Outras limitações são a expressão do receptor variável (CAR) em diferentes células e a dificuldade de integração no DNA cromossômico para facilitar a expressão transgênica por longos períodos. Estão sendo feitos esforços no desenho dos vetores para superar tais limitações.

Uma nova terapia anticâncer utiliza um adenovírus atenuado, replicação-competente, desenvolvido para se replicar somente nas células cancerígenas (células-alvo). Essa “terapia oncolítica” tem como finalidade matar diretamente as células tumorais devido à replicação virolítica.

Suscetibilidade animal e transformação de células

A maioria dos animais de laboratório não é facilmente infectada por adenovírus humanos, embora *hamsters* recém-nascidos apresentem infecção fatal pelo tipo 5, e os animais adultos jovens permitem a replicação do adenovírus tipo 5 nos pulmões. Vários sorotipos, particularmente os tipos 12, 18 e 31, são capazes de induzir tumores quando inoculados em *hamsters* recém-nascidos (Quadro 32.2). Todos os adenovírus são capazes de induzir transformação morfológica de células em cultura independentemente do seu potencial oncogênico *in vivo* (ver Cap. 43). Apenas uma pequena fração (< 20%) do genoma do adenovírus é encontrada na maioria das células transformadas.

Os genes de transformação dos adenovírus humanos localizam-se na região inicial (E1A e E1B), na extremidade esquerda do genoma viral. Uma exceção é o tipo 9; com este, o gene E4 é necessário para a tumorigênese mamária em ratos. Estudos sobre genes de transformação de adenovírus revelaram a existência de mecanismos de controle do crescimento celular alterados em muitos tipos de célula cancerosa.

A natureza altamente oncogênica do adenovírus tipo 12 pode estar relacionada com a observação de que um dos efeitos de sua região inicial consiste em interromper a síntese dos antígenos de histocompatibilidade principais de classe I (H2 ou HLA) em algumas células infectadas e transformadas, impedindo, assim, a destruição pelos CTL.

Os adenovírus não são considerados importantes causadores de câncer em seres humanos.

INFEÇÕES POR ADENOVÍRUS EM SERES HUMANOS

Patogênese

Os adenovírus infectam e se replicam nas células epiteliais do trato respiratório, do olho, do trato gastrointestinal e do trato urinário. Em geral, não sofrem disseminação além dos linfonodos regionais. Os vírus do grupo C persistem durante anos como infecções latentes nas adenoides e tonsilas, sendo eliminados nas fezes, muitos meses após a infecção inicial. Com efeito, o termo “adenovírus” reflete o isolamento dos primeiros vírus de explantes de adenoides humanos.

A maioria dos adenovírus sofre replicação no epitélio intestinal após a sua ingestão, porém geralmente produzem infecções subclínicas mais do que sintomas francos.

Manifestações clínicas

Cerca de 33% dos sorotipos humanos conhecidos estão comumente associados a doença humana. É necessário assinalar que um único sorotipo pode provocar diferentes doenças clínicas,

porém mais de um tipo pode causar a mesma doença clínica. Os adenovírus 1 a 7 são os tipos mais comuns em todo o mundo, sendo responsáveis pela maioria dos casos de doença associada a adenovírus.

Os adenovírus são responsáveis por cerca de 5% das doenças respiratórias agudas em crianças de pouca idade, mas contribuem com uma porcentagem muito menor nos adultos. A maior parte das infecções é benigna e autolimitada. Em certas ocasiões, os vírus provocam doença em outros órgãos, particularmente nos olhos e no trato gastrointestinal.

A. Doenças respiratórias

São sintomas típicos tosse, congestão nasal, febre e dor de garganta. Esta síndrome manifesta-se com mais frequência em lactentes e crianças, e em geral envolve vírus do grupo C (principalmente os tipos 1, 2 e 5). Infecções com os tipos 3, 4 e 7 são mais frequentes em adolescentes e em adultos. Esses casos são difíceis de distinguir de outras infecções respiratórias virais benignas que apresentem sintomas similares.

Os adenovírus, particularmente os tipos 3, 7 e 21, são considerados responsáveis por cerca de 10 a 20% das pneumonias na infância. A pneumonia por adenovírus é responsável por mais de 10% da taxa de mortalidade em lactentes.

Em 2007, ocorreu uma epidemia de uma doença respiratória grave, algumas vezes fatal, causada por uma nova variante do adenovírus 14. Pacientes de todas as idades foram acometidos, inclusive adultos jovens saudáveis.

Os adenovírus são a causa de uma síndrome respiratória entre os recrutas militares, caracterizada por febre, dor de garganta, congestão nasal, tosse e cefaleia, algumas vezes resultando em pneumonia; ocorre na forma epidêmica em recrutas militares jovens em condições de fadiga, estresse e aglomeração, logo após seu engajamento. A doença é causada pelos tipos 4 e 7 e, ocasionalmente, pelo tipo 3. Devido à indisponibilidade da vacina, as forças armadas dos EUA interromperam a vacinação contra os adenovírus (tipos 4 e 7) na década de 1990, o que foi seguido por grandes epidemias, afetando milhares de recrutas.

B. Infecções oculares

Comprometimento ocular leve pode fazer parte das síndromes faringorrespiratórias causadas por adenovírus. A febre faringoconjuntival tende a ocorrer em surtos epidêmicos, tais como os dos acampamentos de verão para crianças (“conjuntivite de piscina”), e está associada aos tipos 3 e 7. A duração da conjuntivite é de 1 a 2 semanas, e a recuperação completa sem deixar sequelas é a evolução mais comum.

A ceratoconjuntivite epidêmica é uma doença mais grave, sendo provocada pelos tipos 8, 19 e 37. Ocorre principalmente em adultos e é altamente contagiosa. Os adenovírus podem permanecer viáveis por várias semanas em pias, toalhas de mão, as quais podem ser uma fonte de transmissão. A doença caracteriza-se por conjuntivite aguda, seguidas de ceratite que em geral regride em duas semanas, mas que pode deixar opacidades subepiteliais na córnea por um período de até 2 anos. As infecções na córnea, provocadas por adenovírus, induzem intensa inflamação pela interação das proteínas que compõem o capsídeo viral com o sistema imune do hospedeiro.

Um estudo realizado no Japão (1990 a 2001), em que o tipo 37 é a principal causa de ceratoconjuntivite epidêmica, demonstrou que ocorreram mutações no genoma viral cronologicamente, e que certas mutações foram correlacionadas à doença epidêmica.

C. Doença gastrointestinal

Muitos adenovírus replicam-se nas células intestinais e são encontrados nas fezes, porém a presença da maioria dos sorotipos não está associada à doença gastrointestinal. Todavia, dois sorotipos (tipos 40 e 41) foram associados etiologicamente a gastroenterite infantil e podem ser responsáveis por 5 a 15% dos casos de gastroenterite viral em crianças de pouca idade. Os adenovírus dos tipos 40 e 41 são encontrados em quantidades abundantes em fezes diarreicas. A cultura dos adenovírus entéricos é muito difícil de ser realizada.

D. Outras doenças

Os pacientes imunocomprometidos podem sofrer uma variedade de infecções por adenovírus casuais e graves. O problema mais comum, provocado pela infecção por adenovírus em pacientes submetidos a transplante, é doença respiratória, que pode evoluir para pneumonia grave e ser fatal (em geral causada pelos tipos 1 a 7). As crianças submetidas a transplante de fígado podem desenvolver hepatite por adenovírus no aloenxerto. Além disso, crianças com transplante de coração que tenham desenvolvido infecção do miocárdio por adenovírus correm maior risco de insucesso do transplante. Pacientes pediátricos de transplante de medula óssea podem desenvolver infecções por uma grande variedade de tipos de adenovírus. Os pacientes com síndrome da imunodeficiência adquirida (Aids) podem sofrer infecções por adenovírus, especialmente no trato gastrointestinal.

Os tipos 11 e 21 podem causar cistite aguda hemorrágica em crianças, especialmente em meninos. O vírus em geral ocorre na urina desses pacientes.

Imunidade

Diferentemente da maioria dos agentes infecciosos respiratórios, os adenovírus induzem imunidade eficaz e duradoura contra a reinfecção, o que pode refletir o fato de também infectarem os linfonodos regionais e as células linfoides do trato gastrointestinal. A resistência à doença clínica parece estar diretamente relacionada com a presença de anticorpos neutralizantes circulantes, que provavelmente persistem durante toda a vida do indivíduo. Embora anticorpos neutralizantes específicos do tipo possam proteger o indivíduo contra os sintomas da doença, nem sempre podem impedir a reinfecção. (As infecções por adenovírus com frequência ocorrem sem que a doença se manifeste.)

Em geral, os anticorpos maternos protegem os lactentes contra as infecções respiratórias graves por adenovírus. Anticorpos neutralizantes contra um ou mais tipos são detectados em mais de 50% dos lactentes de 6 a 11 meses. Em geral, os adultos saudáveis normais apresentam anticorpos contra vários tipos de adenovírus.

A resposta humoral dos anticorpos reativos ao grupo, diferente daquela dos anticorpos neutralizantes específicos do tipo, pode ser medida pelo teste de fixação de complemento

(FC), imunofluorescência (IF) ou Elisa. Os anticorpos específicos do grupo não são protetores, seus títulos declinam com o decorrer do tempo e não revelam os sorotipos de infecções virais anteriores.

Diagnóstico laboratorial

A. Detecção, isolamento e identificação do vírus

As amostras devem ser coletadas dos locais afetados no início da doença para otimizar o isolamento do vírus. Dependendo da doença clínica, os vírus podem ser isolados das fezes, da urina ou de *swab* da garganta, da conjuntiva ou do reto. A duração da excreção dos adenovírus varia em diferentes doenças: 1 a 3 dias, garganta de adultos com resfriado comum; 3 a 5 dias, garganta, fezes e olhos nos casos de febre faringoconjuntival; 2 semanas, olhos na ceratoconjuntivite; 3 a 6 semanas, garganta e fezes de crianças com doenças respiratórias; 2 a 12 meses, urina, garganta e fezes de pacientes imunocomprometidos.

O isolamento do vírus em cultura exige a presença de células humanas. As células embrionárias renais humanas primárias são mais suscetíveis, mas em geral não estão disponíveis. As linhagens de células epiteliais humanas estabelecidas, como HEp-2, HeLa e KB, são sensíveis, mas de manutenção difícil sem que haja degeneração no decorrer do tempo necessário (28 dias) para detecção de alguns vírus isolados de crescimento lento. Os vírus isolados podem ser identificados como adenovírus através de testes de imunofluorescência por meio de um anticorpo antiéxon em células infectadas. Os testes de inibição da hemaglutinação e neutralização medem antígenos específicos do tipo, podendo ser efetuados para a identificação de sorotipos específicos.

A detecção dos adenovírus infecciosos pode ser mais rápida pela técnica do “frasco em concha”: amostras virais são centrifugadas diretamente em células de cultura de tecido; as culturas são incubadas durante 1 a 2 dias e, em seguida, testadas com anticorpos monoclonais dirigidos contra um epítipo reativo ao grupo no antígeno éxon. Além disso, as células epiteliais nasais de um paciente podem ser coradas diretamente para detecção de antígenos virais.

Os ensaios que empregam a reação em cadeia da polimerase (PCR) podem ser usados para o diagnóstico das infecções por adenovírus em amostras de tecido ou fluidos corporais, em geral com o emprego de *primers* (sequências iniciadoras) para uma sequência viral conservada (p. ex., éxon, VA I) que possa ser detectada em todos os sorotipos. Os ensaios por PCR, que têm sido descritos, empregam um único par de *primers* direcionados para segmentos conservados que flanqueiam uma região hipervariável no gene do éxon. Esses ensaios podem detectar todos os sorotipos conhecidos de adenovírus humanos, e o sequenciamento do amplicon permite a identificação do sorotipo. Este método é rápido, em comparação com as semanas necessárias para o isolamento do vírus seguidas dos testes de neutralização. Entretanto, a sensibilidade do ensaio por PCR pode resultar na detecção de adenovírus latentes em alguns pacientes.

A caracterização do DNA viral por hibridização ou por padrões de digestão com endonuclease de restrição pode identificar um vírus isolado como adenovírus e estabelecer o seu grupo. Essas abordagens mostram-se particularmente úteis para os tipos de cultura difícil.

Os adenovírus entéricos exigentes podem ser detectados por exame direto de extratos fecais por microscopia eletrônica, ensaios imunoenzimáticos (Elisa) ou testes de aglutinação do látex*. Podem ser isolados com dificuldade em uma linhagem de células renais embrionárias humanas transformadas com um fragmento do DNA do adenovírus 5 (293 células).

Como os adenovírus podem persistir por longos períodos no intestino e no tecido linfóide, e como a disseminação viral recrudescente pode ser precipitada por outras infecções, é necessário interpretar com cautela o significado do isolamento do vírus. O isolamento dos vírus dos olhos, dos pulmões ou do trato genital estabelece o diagnóstico de infecção atual. O isolamento do vírus de secreções da garganta de paciente com doença respiratória pode ser considerado relevante para a doença clínica. O isolamento de vírus em amostras fecais não é conclusivo, a não ser que um dos tipos exigentes seja isolado de um paciente com gastroenterite.

B. Sorologia

A infecção de seres humanos por qualquer tipo de adenovírus estimula uma elevação dos anticorpos fixadores do complemento contra antígenos de grupo compartilhados por todos os tipos de adenovírus. O teste de fixação de complemento (FC) é um método de fácil aplicação para a detecção de infecção causada por qualquer membro do grupo dos adenovírus, embora este teste tenha baixa sensibilidade. A observação de elevação de 4 vezes ou mais nos títulos de anticorpos fixadores do complemento entre o soro da fase aguda e o da fase convalescente indica infecção recente por adenovírus, embora não forneça qualquer indício sobre o tipo específico envolvido.

Se for necessária a identificação específica da resposta sorológica do paciente, os testes de neutralização ou de inibição da hemaglutinação poderão ser empregados. O teste de neutralização é o mais sensível. Na maioria dos casos, os títulos de anticorpos neutralizantes de indivíduos infectados exibem elevação de 4 vezes ou mais contra o tipo de adenovírus isolado do paciente.

Epidemiologia

Os adenovírus são encontrados em todas as partes do mundo. Ocorrem durante todo o ano e, em geral, não produzem surtos de doença na comunidade. Os sorotipos mais comuns em amostras clínicas são os tipos respiratórios de baixos números (1, 2, 3, 5 e 7) e os tipos das gastroenterites (40 e 41). Os adenovírus propagam-se por contato direto, por via orofecal, por perdigotos ou fômites contaminados. A maior parte das doenças relacionadas com adenovírus não é clinicamente patognomônica, e muitas infecções são subclínicas.

As infecções pelos tipos 1, 2, 5 e 6 ocorrem principalmente nos primeiros anos de vida; os tipos 3 e 7 são contraídos durante os anos escolares; e os outros tipos (tais como 4, 8 e 19) não são encontrados até a idade adulta.

* N. de R.T. Dentre os testes rápidos para detecção de adenovírus comercialmente disponíveis, há o Adenoclone, SAS Adenotest e o RPS Adenodetector. Esses *kits* utilizam a tecnologia baseada na imunocromatografia de fluxo lateral. Antígenos adenovirais, quando presentes no paciente, são capturados entre dois anticorpos monoclonais antígenos específicos. Além disso, também existe no mercado testes que detectam conjuntamente adenovírus e rotavírus, como o RIDA QUICK Rotavírus/Adenovírus Combi.

Enquanto os adenovírus provocam apenas 2 a 5% das doenças respiratórias na população geral, a doença respiratória causada pelos tipos 3, 4 e 7 é comum entre os recrutas militares. A doença por adenovírus pode causar grande morbidade entre os recrutas. Entretanto, a doença causada por adenovírus não representa um problema em tropas adaptadas climaticamente.

Um surto de doença respiratória aguda causada pelo tipo 11 ocorreu em 1997, entre adultos jovens que viviam em uma instalação de treinamento profissional — o primeiro surto reconhecido entre civis.

As infecções oculares podem ser transmitidas de diversas maneiras, porém a transferência da mão para o olho é particularmente importante. As epidemias de conjuntivite de piscina são presumivelmente transmitidas pela água; em geral, ocorrem no verão e costumam ser causadas pelos tipos 3 e 7. A ceratoconjuntivite epidêmica é uma doença grave e altamente contagiosa. A doença, causada pelo tipo 8, propagou-se em 1941, a partir da Austrália, passando pelas ilhas do Havai até a costa do Pacífico. A doença alastrou-se rapidamente através dos estaleiros (por isso a denominação “conjuntivite do estaleiro”) e dos EUA, em que a incidência de anticorpos neutralizantes contra o tipo 8 na população geral é muito baixa (cerca de 1%), ao passo que, no Japão, ultrapassa 30%. Mais recentemente, os adenovírus dos tipos 19 e 37 provocaram epidemias de ceratoconjuntivite epidêmica típica. Os surtos de conjuntivite atribuídos aos consultórios de oftalmologistas foram presumivelmente causados por soluções oftálmicas ou equipamento diagnóstico contaminados.

A incidência de infecção por adenovírus em pacientes submetidos a transplante de medula óssea foi estimada em cerca de 5 até 30%. A incidência registrada é maior em pacientes pediátricos do que em adultos. Os pacientes podem desenvolver infecções disseminadas fatais. Os tipos 34 e 35 são com mais frequência detectados em receptores de transplante de medula óssea e transplante renal. A fonte mais provável de infecção por adenovírus em pacientes transplantados consiste em reativação endógena dos vírus, embora as infecções primárias possam constituir um fator na população pediátrica.

Tratamento

Não existe um tratamento específico para as infecções por adenovírus.

Prevenção e controle

Cuidadosa lavagem das mãos é a maneira mais fácil de prevenir infecções por adenovírus. As superfícies podem ser desinfetadas com hipoclorito de sódio. Em banheiros coletivos, toalhas de papel são as mais recomendáveis, pois as toalhas sujas podem constituir fonte de infecção em surtos epidêmicos. O risco de surtos de conjuntivite transmitida pela água pode ser minimizado por meio da cloração das piscinas e dos vasos sanitários. Assepsia estrita durante o exame oftalmológico, juntamente com a esterilização adequada do equipamento, é essencial para o controle da ceratoconjuntivite epidêmica.

As tentativas de controlar as infecções por adenovírus em militares focam a atenção em vacinas. Vacinas feitas a partir de adenovírus vivos contendo os tipos 4 e 7, em cápsulas gelatinosas e administradas oralmente, foram apresentadas em 1971. Nesta forma, o vírus evita o trato respiratório, em que

poderia causar doença, sendo liberado no intestino, que se replica e induz a formação de anticorpos neutralizantes. A vacina mostrou-se altamente eficaz, porém após 1999 ficou indisponível por muito tempo, e sua produção foi interrompida.

RESUMO DO CAPÍTULO

- Os adenovírus são vírus de DNA, não envelopados e icosaédricos.
- Os adenovírus apresentam uma distribuição cosmopolita. Surtos epidêmicos provocados por esse agente viral são incomuns.
- Os adenovírus são excelentes modelos para realização de estudos moleculares em células eucarióticas.
- Vários sorotipos induzem tumores em animais de laboratório, servindo como modelo para estudo de processos cancerígenos.
- Os vírus do grupo C promovem infecções latentes de longa duração, nas tonsilas e nas adenoides.
- Os vírus do grupo C causam infecções respiratórias em crianças (tipos 1-7).
- Os tipos 8, 19 e 37 causam infecções oculares graves (ceratoconjuntivite epidêmica).
- Os adenovírus entéricos (tipos 40 e 41) causam gastroenterites em crianças.
- Não há tratamento específico para as infecções por adenovírus.

QUESTÕES DE REVISÃO

As questões a seguir podem ser interpretadas como no singular ou no plural, conforme o bom senso.

1. Qual proteína de adenovírus regula a transcrição precoce dos genes virais e modula o ciclo celular?
 - (A) Fibra
 - (B) Éxon
 - (C) Pênton
 - (D) Proteína terminal
 - (E) Proteína da região E1
 - (F) Cisteína proteinase
 - (G) Proteína da região E3
2. Que proteína de adenovírus serve como *primer* para a iniciação da síntese do DNA viral?
 - (A) Fibra
 - (B) Éxon
 - (C) Pênton
 - (D) Proteína terminal
 - (E) Proteína da região E1
 - (F) Cisteína proteinase
 - (G) Proteína da região E3
3. Que proteína de adenovírus constitui a maior parte dos capsômeros que compõem o capsídeo viral?
 - (A) Fibra
 - (B) Éxon
 - (C) Pênton
 - (D) Proteína terminal
 - (E) Proteína da região E1
 - (F) Cisteína proteinase
 - (G) Proteína da região E3

4. Um bebê de 3 meses teve diarreia aquosa e febre durante 10 dias. Suspeita-se que os agentes causadores sejam rotavírus e adenovírus tipos 40 e 41. Que tipo de amostra seria mais apropriado para a detecção dos adenovírus tipos 40 e 41 nesse paciente?
- (A) Sangue
(B) Urina
(C) *Swab* da conjuntiva
(D) Fezes
(E) *Swab* da garganta
(F) Líquido cefalorraquiano
5. Qual das seguintes doenças humanas não é associada ao adenovírus?
- (A) Câncer
(B) Resfriado comum
(C) Doenças respiratórias agudas
(D) Ceratoconjuntivite
(E) Gastroenterite
(F) Cistite hemorrágica
6. Uma criança de 2 anos e meio de idade, que frequenta creche, adquiriu uma infecção respiratória branda. Outra criança, da mesma creche apresentou um quadro similar. Quais tipos de adenovírus são os mais prováveis causadores dessa doença?
- (A) Tipos 40 e 41
(B) Tipos 8, 19 e 37
(C) Tipos 1, 2, 5 e 6
(D) Tipos 3, 4 e 7
(E) Tipos 21, 22, 34 e 35
7. Que tipos de adenovírus são causas frequentes de doença respiratória aguda entre recrutas militares?
- (A) Tipos 40 e 41
(B) Tipos 8, 19 e 37
(C) Tipos 1, 2, 5 e 6
(D) Tipos 3, 4 e 7
(E) Tipos 21, 22, 34 e 35
8. Qual dos seguintes eventos levou ao reaparecimento de surtos de doença respiratória aguda entre recrutas militares dos EUA no fim da década de 1990?
- (A) Emergência de novas cepas virulentas de adenovírus
(B) Interrupção do programa de vacinação contra adenovírus para os recrutas militares
(C) Mudanças nas condições de treinamento e acampamento militares para os recrutas
(D) Interrupção do emprego de terapia antiviral contra adenovírus para os recrutas
9. Seu projeto de pesquisa é estudar os vírus que causam as gastroenterites. Você recupera um vírus de uma amostra de fezes e observa seu crescimento no meio das culturas infectadas, ácidas (pH < 7,0). Você identifica o genoma viral como DNA de fita dupla. Das seguintes alternativas, qual indica a conclusão mais apropriada a que você pode chegar?
- (A) Existe alta probabilidade de que o agente seja um rotavírus
(B) Você precisa determinar o sorotipo viral para estabelecer se o vírus em questão é uma causa importante de doença
(C) O paciente deveria ter sido tratado com o fármaco antiviral amantadina para encurtar a duração dos sintomas
(D) A partícula viral pode conter uma enzima transcriptase reversa
10. Qual dos seguintes grupos de indivíduos apresenta o mais baixo risco de contrair doença causada por adenovírus?
- (A) Adultos saudáveis
(B) Crianças pequenas
(C) Pacientes que receberam transplante de medula óssea
(D) Recrutas militares
(E) Pacientes com Aids
11. Os adenovírus podem causar infecções oculares que são altamente contagiosas. Qual das seguintes alternativas indica a menor probabilidade de ser um modo de transmissão durante um surto epidêmico de ceratoconjuntivite por adenovírus?
- (A) Piscinas
(B) Toalhas de mão
(C) Picadas de mosquito
(D) Colocar as mãos nos olhos
(E) Equipamento oftalmológico contaminado
12. Sabendo-se que há 51 tipos de adenovírus, qual das afirmações abaixo é a mais precisa?
- (A) Não podem ser distinguidos sorologicamente
(B) Todos causam infecções respiratórias em crianças
(C) A maioria é replicada nos linfócitos T
(D) Apenas dois tipos causam gastroenterites
13. Todas as afirmações sobre os adenovírus são corretas, *exceto*
- (A) Os adenovírus apresentam DNA de dupla fita e não são envelopados
(B) Os adenovírus causam faringites e pneumonias
(C) Os adenovírus apresentam apenas um único tipo sorológico
(D) Os adenovírus estão implicados como causa de tumores em animais, porém não em seres humanos
14. Qual das seguintes patologias é raramente associada aos adenovírus?
- (A) Conjuntivites
(B) Pneumonias
(C) Faringites
(D) Glomerulonefrites

Respostas

- | | | | |
|------|------|-------|-------|
| 1. E | 5. A | 9. B | 13. C |
| 2. D | 6. C | 10. A | 14. D |
| 3. B | 7. D | 11. C | |
| 4. D | 8. B | 12. D | |

REFERÊNCIAS

- Berk AJ: *Adenoviridae: The viruses and their replication*. In Knipe DM, Howley PM (editors-in-chief). *Fields Virology*, 5th ed. Lippincott Williams & Wilkins, 2007.
- Berk AJ: Recent lessons in gene expression, cell cycle control, and cell biology from adenovirus. *Oncogene* 2005;24:7673.
- Kolavic-Gray SA, Binn LN, Sanchez JL et al.: Large epidemic of adenovirus type 4 infection among military trainees: Epidemiological, clinical, and laboratory studies. *Clin Infect Dis* 2002;35:808.
- Mahony JB: Detection of respiratory viruses by molecular methods. *Clin Microbiol Rev* 2008;21:716.
- Russell WC: Adenoviruses: Update on structure and function. *J Gen Virol* 2009;90:1.
- Sarantis H, Johnson G, Brown M, Petric M, Tellier R: Comprehensive detection and serotyping of human adenoviruses by PCR and sequencing. *J Clin Microbiol* 2004;42:3963.
- Tate JE, Bunning ML, Lott L et al.: Outbreak of severe respiratory disease associated with emergent human adenovirus serotype 14 at a US Air Force training facility in 2007. *J Infect Dis* 2009;199:1419.

Herpes-vírus

A família dos herpes-vírus compreende vários dos patógenos humanos virais de maior importância. Do ponto de vista clínico, os herpes-vírus são responsáveis por um amplo espectro de doenças. Alguns apresentam grande variedade de células hospedeiras, enquanto outros exibem variedade restrita. A propriedade mais notável dos herpes-vírus é a sua capacidade de estabelecer infecções persistentes durante toda a vida de seus hospedeiros, sofrendo reativação periódica. A frequente reativação dos herpes-vírus em pacientes imunodeprimidos causa sérias complicações à saúde. Curiosamente, a infecção reativada pode ser, do ponto de vista clínico, muito diferente da doença causada pela infecção primária. Os herpes-vírus possuem grande número de genes, alguns dos quais têm se mostrado suscetíveis à quimioterapia antiviral.

Os herpes-vírus que comumente infectam os seres humanos são os herpes-vírus simples tipos 1 e 2 (HSV-1, HSV-2), o vírus varicela-zóster, o citomegalovírus (CMV), o vírus Epstein-Barr (EBV), os herpes-vírus humanos 6 e 7, bem como o herpes-vírus 8 (associado ao sarcoma de Kaposi [KSHV]). O herpes-vírus B de macacos também pode infectar os seres humanos. Existem quase 100 vírus do grupo do herpes que infectam inúmeras espécies animais.

PROPRIEDADES DOS HERPES-VÍRUS

No Quadro 33.1, fornecemos um resumo das principais propriedades dos herpes-vírus.

QUADRO 33.1 Propriedades importantes dos herpes-vírus

Virion: esférico, 150 a 200 nm de diâmetro (icosaédrico)
Genoma: DNA de fita dupla, linear, 125 a 240 kbp, com sequências repetidas
Proteínas: mais de 35 proteínas no virion
Envelope: contém glicoproteínas virais, receptores Fc
Replicação: núcleo, brotamento a partir da membrana nuclear
Características marcantes:
Codificam muitas enzimas
Estabelecem infecções latentes
Persistem indefinidamente nos hospedeiros infectados
Frequentemente reativados em hospedeiros imunossuprimidos
Alguns causam câncer

Estrutura e composição

Os herpes-vírus são vírus grandes. Os diferentes membros do grupo compartilham certos detalhes de arquitetura e não são distinguíveis à microscopia eletrônica. Todos os herpes-vírus apresentam um núcleo de DNA de fita dupla, na forma de toroide, circundado por um revestimento proteico que exhibe simetria icosaédrica e apresenta 162 capsômeros. O nucleocapsídeo é circundado por um envelope proveniente da membrana nuclear da célula infectada e contém espículas de glicoproteína viral de cerca de 8 nm de comprimento. Uma estrutura amorfa e algumas vezes assimétrica, localizada entre o capsídeo e o envelope, é denominada tegumento. A forma com envelope mede 150 a 200 nm, enquanto o virion “desnudo” tem 125 nm.

O genoma do DNA de fita dupla (125 a 240 kbp) é linear. Uma característica notável do DNA dos herpes-vírus é o arranjo das sequências (Fig. 33.1). Os genomas dos herpes-vírus possuem sequências repetidas terminais e internas. Alguns membros, como os HSV, sofrem rearranjos do genoma, dando origem a diferentes “isômeros” de genoma. A composição de bases do DNA dos herpes-vírus varia de 31 a 75% (G + C). Existe pouca homologia do DNA entre os diferentes herpes-vírus, exceto para os HSV-1 e HSV-2, que exibem 50% de homologia de sequência, e os herpes-vírus humanos 6 e 7 (HHV-6 e HHV-7), que apresentam homologia de sequência limitada (30 a 50%). O tratamento com endonucleases de restrição resulta em padrões de clivagem tipicamente diferentes para os herpes-vírus e mesmo para as diferentes cepas de cada tipo. Essa “impressão digital” permite o rastreamento epidemiológico de determinada cepa.

O genoma dos herpes-vírus é grande, codificando pelo menos 100 proteínas diferentes, das quais mais de 35 polipeptídeos estão envolvidos na estrutura da partícula viral, enquanto pelo menos 10 fazem parte do envelope viral. Os herpes-vírus codificam um arranjo de enzimas específicas do vírus envolvidas no metabolismo dos ácidos nucleicos, síntese do DNA, expressão gênica e regulação proteica (DNA polimerase, helicase-primase, timidina quinase, fatores de transcrição e proteinoquinases). Muitos genes de herpes-vírus aparentam ser homólogos virais de genes celulares.

Classificação

A classificação dos inúmeros membros da família dos herpes-vírus é complicada. Existe uma divisão conveniente em

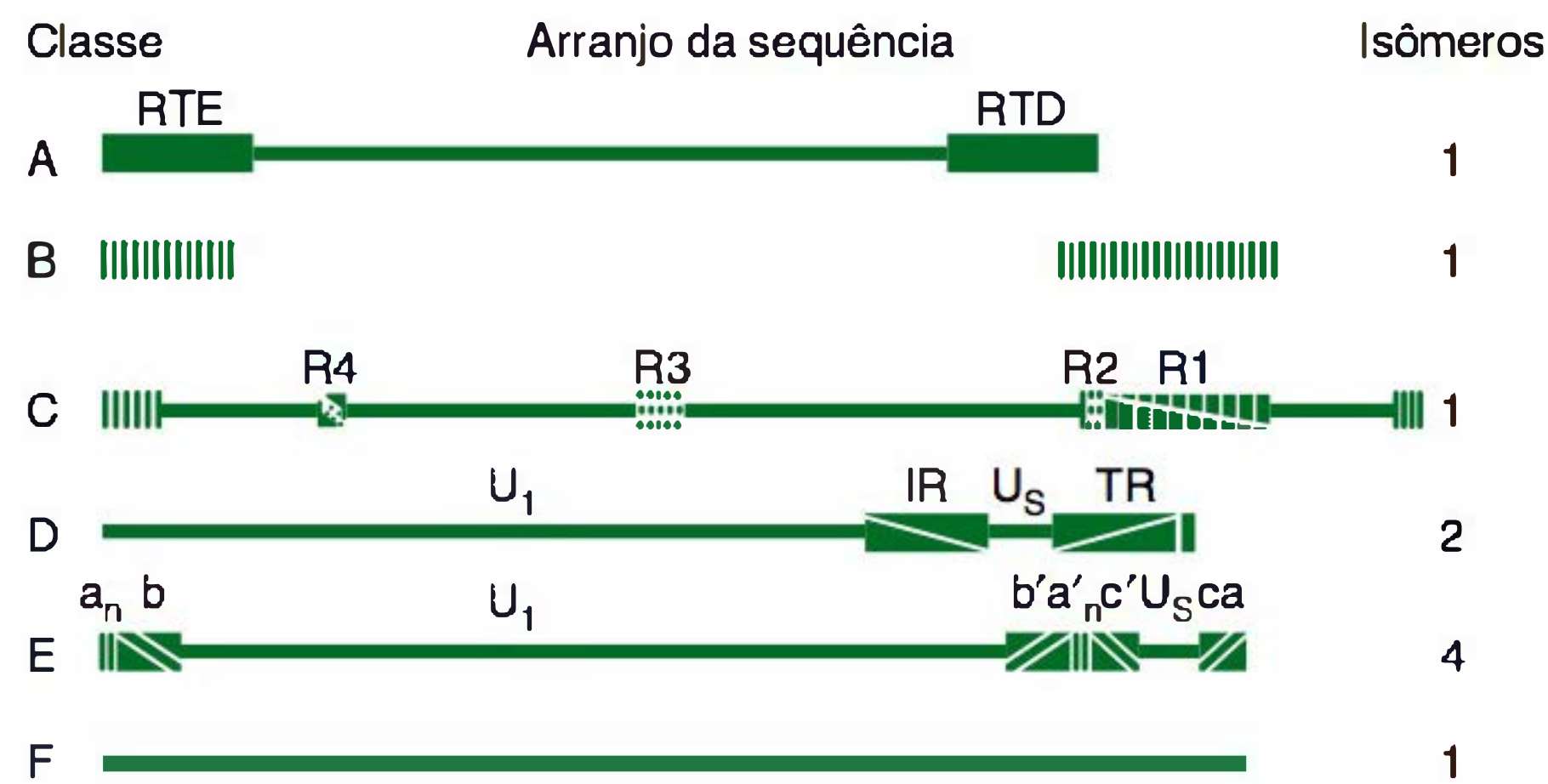


FIGURA 33.1 Diagrama esquemático de arranjos de sequência do DNA do herpes-vírus. Os genomas das classes A, B, C, D, E e F são exemplificados pelo vírus do peixe-gato, herpes-vírus saimiri, EBV, vírus varicela-zóster, HSV e herpes-vírus tupaia, respectivamente. As linhas horizontais representam regiões exclusivas. Os domínios repetidos são mostrados em forma de retângulos: repetições terminais à esquerda e à direita (RTE e RTD) para a classe A; repetições R1 a R4 para as repetições internas da classe C; e repetições internas e terminais (RI e RT) da classe D. Na classe B, as sequências terminais são repetidas inúmeras vezes em ambas as terminações. As terminações da classe E consistem em dois elementos. As sequências terminais (ab e ca) são inseridas em uma orientação invertida, separando as sequências exclusivas em domínios longos (U1) e curtos (Us). Os genomas da classe F não apresentam repetições terminais. Os componentes dos genomas nas classes D e E estão invertidos. Na classe D (vírus da varicela-zóster), o componente curto encontra-se invertido com relação ao longo, e o DNA forma duas populações (isômeros), diferindo na orientação do componente curto. Na classe E (HSV), tanto os componentes curtos quanto os longos podem estar invertidos, e o DNA viral consiste em 4 isômeros. (Reproduzida, com autorização, de Roizman B: Herpesviridae: A brief introduction. In fields BN, Knipe DM [editors-in-chief]. *Virology*, 2nd ed. Raven Press, 1990, pp. 1787-1793.)

subfamílias, que se baseia nas propriedades biológicas dos agentes (Quadro 33.2). Os α -herpes-vírus são vírus citolíticos de crescimento rápido, que tendem a estabelecer infecções latentes nos neurônios; os membros desse grupo incluem o HSV (gênero *Simplexvirus*) e o vírus varicela-zóster (gênero *Varicellovirus*). Os β -herpes-vírus têm crescimento lento, podem ser citomegálicos (aumento maciço das células infectadas) e tornam-se latentes nas glândulas secretoras, bem como nos rins; o CMV é classificado no gênero *Cytomegalovirus*. Neste grupo, estão também incluídos no gênero *Roseolovirus* os herpes-vírus HHV-6 e HHV-7. Com base em critérios biológicos, tais vírus são provavelmente γ -herpes-vírus, uma vez que infectam os linfócitos (linfotrópicos T). Entretanto, as análises moleculares de seus genomas revelam que estão mais estreitamente relacionados com os β -herpes-vírus. Os γ -herpes-vírus, exemplificados pelo EBV (gênero *Lymphocryptovirus*), infectam as células linfoides e tornam-se latentes. O herpes-vírus associado ao sarcoma de Kaposi, designado como HHV-8, é classificado no gênero *Rhadinovirus*.

Muitos herpes-vírus infectam animais, sendo os mais notáveis o vírus B (herpes-vírus *simiae* ou herpes-vírus cercopitecrino 1) no gênero *Simplexvirus*; os herpes-vírus saimiri e *ateles* de macacos, ambos pertencentes ao gênero *Rhadinovirus*; o herpes-vírus das marmotas (gênero *Simplexvirus*); o vírus pseudorrábico dos suínos; e o vírus do gado bovino responsável pela rinotraqueíte bovina infecciosa, ambos pertencentes ao gênero *Varicellovirus*.

Existe pouca correlação antigênica entre os membros do grupo dos herpes-vírus. Apenas os HSV-1 e o HSV-2 compartilham um número significativo de antígenos. Os herpes-vírus HHV-6 e HHV-7 exibem poucos epítomos de reação cruzada.

Replicação dos herpes-vírus

O ciclo de replicação do HSV encontra-se resumido na Figura 33.2. O vírus penetra na célula através de sua fusão com a membrana celular, após ligar-se a receptores celulares específicos por meio das glicoproteínas do envelope. Vários herpes-

QUADRO 33.2 Classificação dos herpes-vírus humanos

Subfamília ("herpesvirinae")	Propriedades biológicas			Exemplos	
	Ciclo de crescimento e citopatologia	Infecções latentes	Gênero ("virus")	Nome oficial ("herpes-vírus humanos")	Nome comum
Alfa	Curto, citolítico	Neurônios	Simplex <i>Varicello</i>	1	Herpes-vírus simples tipo 1
				2	Herpes-vírus simples tipo 2
				3	Vírus varicela-zóster
Beta	Longo, citomegálico Longo, linfoproliferativo	Glândulas, rins Tecido linfoide	<i>Cytomegalo</i> <i>Roseolo</i>	5	Citomegalovírus
				6	Herpes-vírus humano 6
				7	Herpes-vírus humano 7
Gama	Variável, linfoproliferativo	Tecido linfoide	<i>Lymphocrypto</i> <i>Rhadino</i>	4	Vírus Epstein-Barr
				8	Herpes-vírus associado ao sarcoma de Kaposi

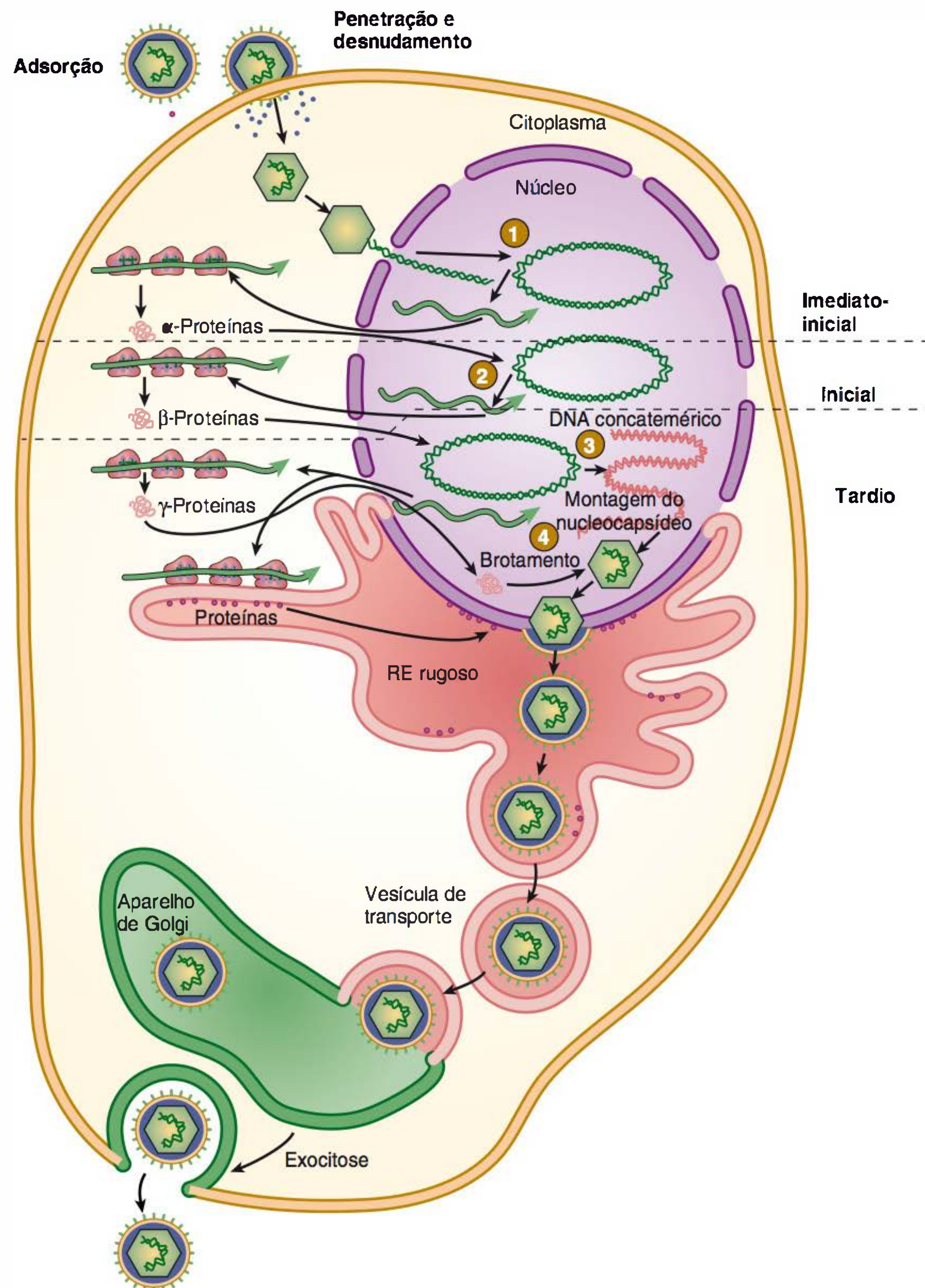


FIGURA 33.2 Ciclo de replicação do herpes-vírus simples. (1) O vírus funde-se com a membrana plasmática e o DNA viral é liberado do capsídeo ao poro nuclear, seguido de circularização do genoma e transcrição dos genes imediatos iniciais. (2) α -proteínas, produto dos genes iniciais, função na replicação do DNA, estimulam a transcrição de genes iniciais. (3) β -proteínas, produtos dos genes iniciais, funcionam na replicação do DNA, produzindo DNA concatemérico. Os genes tardios são transcritos. (4) γ -proteínas, produtos dos genes tardios e consistindo principalmente em proteínas estruturais virais, participam na montagem do virion. O DNA viral de unidade de comprimento é clivado a partir dos concatêmeros e acondicionado nos capsídeos. As partículas virais envoltas acumulam-se no retículo endoplasmático e são transportadas para a célula. (Reproduzida, com autorização, de Willey JM, Sherwood LM, Woolverton C.J: *Prescott, Harley and Klein's Microbiology*, 7th ed. McGraw-Hill, 2008. © The McGraw-Hill Companies, Inc.)

vírus ligam-se aos glicosaminoglicanos da superfície celular, principalmente o sulfato de heparano. A fixação viral também envolve a ligação de um a diversos correceptores (p. ex., membros da superfamília das imunoglobulinas). Após a fusão, o capsídeo é transportado através do citoplasma até um poro nuclear. Em seguida, ocorre desnudamento, e o DNA associa-se ao núcleo. O DNA viral forma imediatamente um círculo após sua liberação do capsídeo. A expressão do genoma viral é estreitamente regulada e ordenada de modo sequencial, em forma de cascata. A VP16, uma proteína do tegumento, complexa-se com diversas proteínas celulares e ativa a expressão gênica viral inicial. Os genes iniciais imediatos são expressos, produzindo

proteínas “ α ”, que permitem a expressão do conjunto inicial de genes, traduzidos em proteínas “ β ”. A replicação do DNA viral começa, e transcrições tardias são produzidas, originando as proteínas “ γ ”. Mais de 50 proteínas diferentes são sintetizadas nas células infectadas por herpes-vírus. Muitas proteínas α e β são enzimas ou proteínas de ligação do DNA, e a maioria das proteínas γ são componentes estruturais.

O DNA viral é transcrito durante o ciclo de replicação pela RNA polimerase II celular, porém com a participação de fatores virais. O DNA viral é sintetizado por um mecanismo de rolamento circular. Os herpes-vírus diferem dos outros vírus de DNA nuclear pelo fato de codificarem grande número de

enzimas envolvidas na síntese do DNA. (Essas enzimas são bons alvos para os antivirais.) O DNA viral recém-sintetizado é acondicionado em nucleocapsídeos vazios pré-formados no núcleo da célula.

A maturação ocorre por brotamento dos nucleocapsídeos através da membrana nuclear interna alterada. Em seguida, as partículas virais com envelope são transportadas por movimento vesicular para a superfície celular.

A duração do ciclo de replicação varia de cerca de 18 horas para o HSV a mais de 70 horas para o CMV. As células infectadas por herpes-vírus são invariavelmente destruídas. A síntese macromolecular do hospedeiro é interrompida precocemente na infecção. A síntese celular normal do DNA e proteínas é praticamente interrompida quando começa a replicação do vírus. Os efeitos citopáticos induzidos pelos herpes-vírus humanos são muito distintos (Fig. 33.3).

O número de potenciais quadros abertos de leitura (*open reading frame* [ORF]) codificando proteínas nos genomas dos herpes-vírus varia de cerca de 70 a mais de 200. No caso dos herpes-vírus simples, cerca de 50% dos genes não são necessários para o crescimento em cultura de células. Os outros genes provavelmente são necessários para a sobrevivência *in vivo* no hospedeiro natural.

Recentemente, foi demonstrado que os herpes-vírus expressam múltiplos microRNA, RNA de fita simples, pequenos

(cerca de 22 nucleotídeos), que funcionam de modo pós-transcricional para regular a expressão gênica. Acredita-se que esses microRNA virais sejam importantes na regulação da entrada e/ou saída da fase latente do ciclo de vida do vírus e podem ser alvos atraentes para a terapia antiviral.

Visão geral das doenças causadas por herpes-vírus

Uma ampla variedade de doenças está associada à infecção por herpes-vírus. A infecção primária e a doença reativada por determinado vírus podem afetar diferentes tipos de célula e ocasionar quadros clínicos diversos.

O HSV-1 e o HSV-2 infectam as células epiteliais e estabelecem infecções latentes nos neurônios. Classicamente, o vírus tipo 1 está associado a lesões orofaríngeas e provoca crises recorrentes de “herpes labial”. O vírus tipo 2 infecta primariamente a mucosa genital, sendo responsável principalmente pelo herpes genital. Ambos os vírus também causam doença neurológica. O HSV-1 é a principal causa de encefalite esporádica nos EUA. Tanto o tipo 1 quanto o tipo 2 podem causar infecções neonatais frequentemente graves.

O vírus varicela-zóster provoca varicela como infecção primária e estabelece uma infecção latente nos neurônios. Por

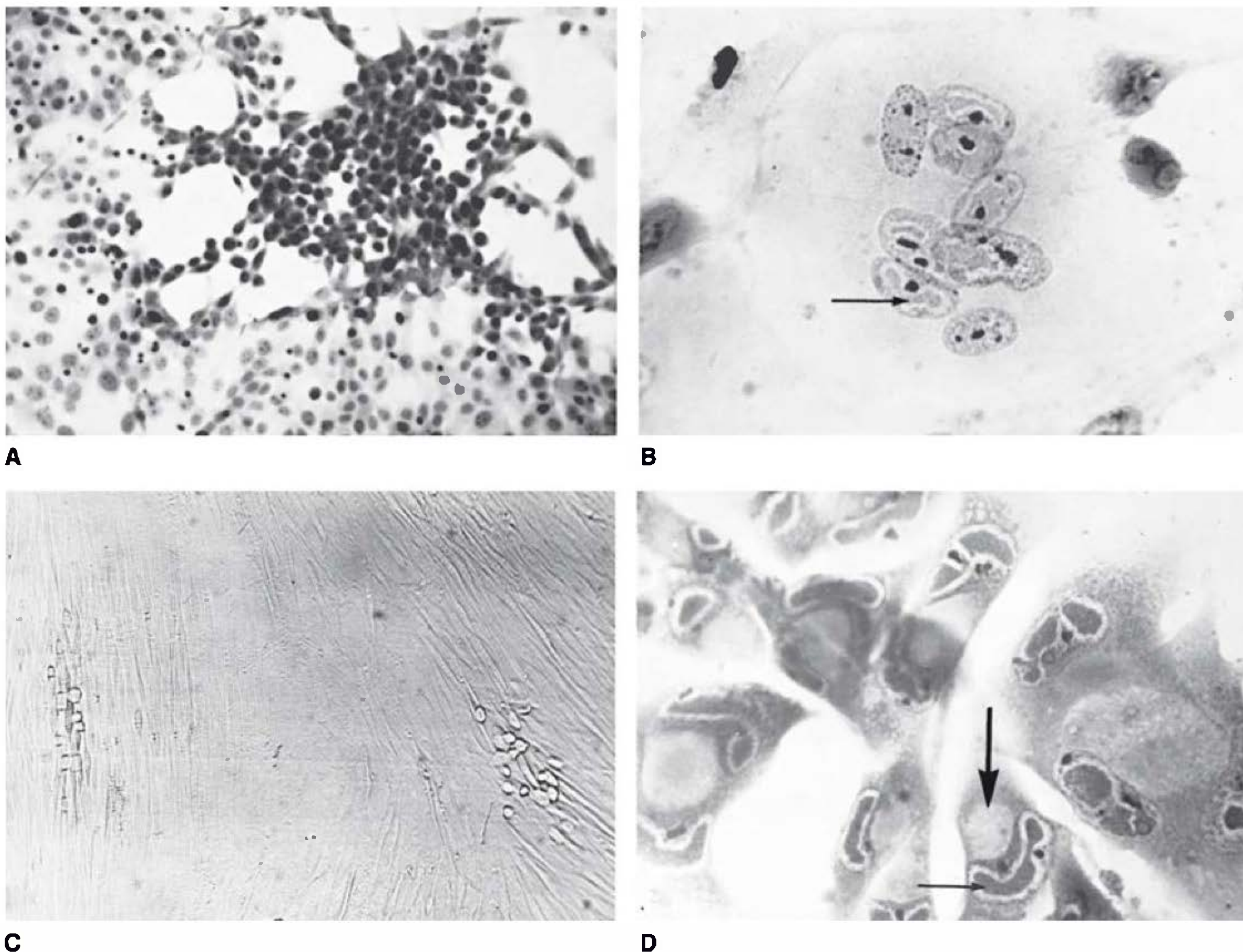


FIGURA 33.3 Efeitos citopáticos induzidos por herpes-vírus. (A) HSV em células HEp-2 (coloração por H&E, ampliada 57 vezes) com foco precoce de células arredondadas e intumescidas. (B) Vírus varicela-zóster em células renais humanas (coloração por H&E, ampliada 228 vezes) com célula gigante multinuclear, contendo inclusões intranucleares acidofílicas (seta). (C) Citomegalovírus em fibroblastos humanos (sem coloração, ampliada 35 vezes) com dois focos de efeitos citopáticos de desenvolvimento lento. (D) Citomegalovírus em fibroblastos humanos (coloração por H&E, ampliada 228 vezes) mostrando células gigantes com inclusões acidofílicas nos núcleos (*seta pequena*) e no citoplasma (*seta grande*) sendo as últimas em geral grandes e arredondadas. (Cortesia de I Jack; reproduzida, com autorização, de White DO, Fenner FJ. *Medical Virology*, 3rd ed. Academic Press, 1986.)

ocasião de sua reativação, o vírus causa zóster (cobreiro). Os adultos infectados pela primeira vez pelo vírus varicela-zóster estão sujeitos a desenvolver pneumonia viral grave.

O CMV replica-se nas células epiteliais do trato respiratório, das glândulas salivares e dos rins, persistindo nos linfócitos. Provoca mononucleose infecciosa (heterófila negativa). Em recém-nascidos, pode ocorrer doença de inclusão citomegálica. O CMV representa uma importante causa de defeitos congênitos e retardamento mental.

O HHV-6 infecta os linfócitos T, sendo tipicamente adquirido no início da infância, e provoca exantema súbito (roséola do lactente). O HHV-7, também um vírus linfotrópico T, ainda não foi associado a qualquer doença específica.

O EBV replica-se nas células epiteliais da orofaringe e das glândulas parótidas, estabelecendo infecções latentes nos linfócitos. É responsável pela mononucleose infecciosa e causa distúrbios linfoproliferativos, especialmente em pacientes imunodeprimidos. O HHV-8 parece estar associado ao desenvolvimento do sarcoma de Kaposi, tumor vascular comum em pacientes com Aids.

O herpes-vírus B dos macacos pode infectar os seres humanos. Tais infecções são raras, porém as que ocorrem geralmente resultam em doença neurológica grave, sendo com frequência fatais.

Os herpes-vírus humanos costumam ser reativados em pacientes imunodeprimidos (p. ex., receptores de transplante, pacientes com câncer) e podem causar doença grave, como pneumonia ou linfomas.

Os herpes-vírus têm sido associados a doenças malignas em seres humanos bem como em animais inferiores. O EBV foi associado ao linfoma de Burkitt em crianças africanas, carcinomas nasofaríngeos e outros linfomas; o KSHV foi associado ao sarcoma de Kaposi; o vírus da doença de Marek, com um linfoma das galinhas; e vários herpes-vírus dos primatas com sarcomas de células reticulares e linfomas em macacos.

INFECÇÕES POR HERPES-VÍRUS EM SERES HUMANOS

HERPES-VÍRUS SIMPLES (HSV)

Os HSVs são amplamente disseminados na população humana, exibindo ampla variedade de hospedeiros, sendo capazes de sofrer replicação em muitos tipos de célula, infectando vários animais diferentes. Crescem rapidamente e são altamente citolíticos. Os HSVs são responsáveis por um espectro de doenças que vai desde gengivostomatite até ceratoconjuntivite, encefalite, doença genital e infecções de recém-nascidos. Os HSV estabelecem infecções latentes nas células nervosas, e as recidivas são comuns.

Propriedades dos vírus

Existem dois HSVs distintos: tipo 1 e tipo 2 (HSV-1, HSV-2) (Quadro 33.3), cujos genomas se assemelham na sua organização e exibem significativa homologia de sequência. Entretanto, podem ser distinguidos por análise da sequência ou por análise com enzimas de restrição do DNA viral. Ambos os vírus exibem reação cruzada sorológica, porém cada tipo tem algumas

proteínas próprias. Diferem quanto ao modo de transmissão; o HSV-1 propaga-se por contato, geralmente envolvendo saliva infectada, enquanto o HSV-2 é transmitido sexualmente ou a partir de infecção genital materna para o recém-nascido. Isso resulta em infecções humanas que apresentam diferentes manifestações clínicas.

O ciclo de crescimento do HSV prossegue rapidamente, levando 8 a 16 horas para ser concluído. O genoma do HSV é grande (cerca de 150 kbp), podendo codificar pelo menos 70 polipeptídeos; as funções de muitas das proteínas envolvidas na replicação ou no período de latência não são conhecidas. Pelo menos 8 glicoproteínas virais estão entre os produtos gênicos tardios do vírus. Uma delas (gD) é o mais potente indutor de anticorpos neutralizantes. A glicoproteína C é uma proteína de ligação do complemento (C3b), enquanto a gE consiste em um receptor de Fc, que se liga à porção Fc da IgG. A glicoproteína G é específica do tipo e permite a discriminação antigênica entre HSV-1 (gG-1) e HSV-2 (gG-2).

Patogênese e patologia

A. Patologia

Como o HSV provoca infecções citolíticas, as alterações patológicas são causadas por necrose das células infectadas juntamente com a resposta inflamatória. As lesões produzidas na pele e nas mucosas pelo HSV-1 e pelo HSV-2 são idênticas, assemelhando-se às induzidas pelo vírus varicela-zóster. As alterações provocadas pelo HSV são semelhantes nas infecções primárias e recorrentes, mas variam quanto ao grau, refletindo a extensão da citopatologia viral.

As alterações histopatológicas características consistem em balonização das células infectadas, produção de corpúsculos de inclusão intranucleares de Cowdry tipo A, marginação da cromatina e formação de células gigantes multinucleares. A fusão celular constitui um método eficaz de propagação do HSV de uma célula para outra mesmo na presença de anticorpos neutralizantes.

B. Infecção primária

O HSV é transmitido por contato de uma pessoa suscetível com um indivíduo que está excretando vírus, o qual deve entrar em contato com uma superfície mucosa ou solução de continuidade da pele para que a infecção seja iniciada (a pele normal é resistente). Em geral, as infecções por HSV-1 limitam-se à orofaringe, e o vírus se propaga por perdigotos ou por contato direto com saliva infectada. O HSV-2 é geralmente transmitido por via genital. A replicação do vírus ocorre inicialmente no local da infecção. Em seguida, o vírus invade as terminações nervosas locais e é transportado, por fluxo axônico retrógrado, até os gânglios das raízes dorsais, onde, após posterior replicação, a latência é estabelecida. As infecções orofaríngeas pelo HSV-1 resultam em infecções latentes nos gânglios do trigêmeo, enquanto as infecções genitais pelo HSV-2 resultam em infecção latente dos gânglios sacrais. A viremia é mais comum durante as infecções primárias por HSV-2 do que as causadas por HSV-1.

Em geral, as infecções primárias pelo HSV são leves; na verdade, a maioria é assintomática. Raramente se desenvolve doença sistêmica. O comprometimento disseminado de órgãos pode

QUADRO 33.3 Comparação entre HSV tipo 1 e tipo 2

Características	HSV-1	HSV-2
Bioquímicas		
Composição de bases do DNA viral (G + C)	67%	69%
Densidade de flutuação do DNA (g/cm ³)	1.726	1.728
Densidade de flutuação dos virions (g/cm ³)	1.271	1.267
Homologia entre os DNA virais	Cerca de 50%	Cerca de 50%
Biológicas		
Vetores ou reservatórios animais	Nenhum	Nenhum
Local de latência	Gânglios trigêmeos	Gânglios sacrais
Epidemiológicas		
Idade da infecção primária	Crianças de pouca idade	Adultos jovens
Transmissão	Contato (frequentemente a saliva)	Sexual
Clínicas		
Infecção primária:		
Gengivoestomatite	+	-
Faringoamigdalite	+	-
Ceratoconjuntivite	+	-
Infecções neonatais	±	+
Infecções recorrentes:		
Dor de garganta, febre	+	-
Ceratite	+	-
Infecção primária ou recorrente:		
Herpes cutâneo		
Pele acima da cintura	+	±
Pele abaixo da cintura	±	+
Mãos ou braços	+	+
Paroníquia herpética	+	+
Eczema herpético	+	-
Herpes genital	±	+
Encefalite por herpes	+	-
Meningite por herpes	±	+

Modificado, com autorização, de Oxman MN: Herpes stomatitis. In Braude AI, Davis CE, Fierer J (editors). *Infectious Diseases and Medical Microbiology*, 2nd ed. Saunders, 1986:752.

ocorrer quando um hospedeiro imunocomprometido é incapaz de limitar a replicação do vírus, resultando em viremia.

C. Infecção latente

O vírus localiza-se em gânglios com infecção latente, em um estado que não sofre replicação; apenas um número muito pequeno de genes virais é expresso. A persistência dos vírus nos gânglios com infecção latente dura pelo resto da vida do hospedeiro. Não é possível isolar o vírus entre as recidivas ou próximo ao local habitual das lesões recorrentes. Estímulos provocativos podem reativar o vírus do estado de latência, inclusive dano axônico, febre, estresse físico ou emocional e exposição à luz ultravioleta. O vírus segue o trajeto dos axônios de volta ao local periférico, ocorrendo replicação na pele ou nas mucosas. Reativações espontâneas ocorrem a despeito da imunidade

humoral e celular específica do HSV do hospedeiro. Todavia, essa imunidade limita a replicação local do vírus, de modo que as infecções recorrentes são menos extensas e de menor gravidade. Muitas recidivas são assintomáticas, refletindo-se apenas pela eliminação dos vírus nas secreções. Quando sintomáticos, os episódios de infecção recorrente pelo HSV-1 manifestam-se, em geral, em forma de herpes perto dos lábios. Mais de 80% da população humana abrigam o HSV-1 em forma latente, mas apenas uma pequena proporção sofre recidivas. Não se sabe por que alguns indivíduos sofrem reativações e outros não.

Manifestações clínicas

Os HSVs tipos 1 e 2 podem causar muitas entidades clínicas, podendo as infecções ser primárias ou recorrentes (Quadro 33.3). As infecções primárias são observadas em indivíduos

sem anticorpos e, na maioria dos casos, mostram-se clinicamente inaparentes, mas resultam na produção de anticorpos e no estabelecimento de infecções latentes nos gânglios sensoriais. Lesões recorrentes são comuns.

A. Doença orofaríngea

As infecções primárias pelo HSV-1 em geral são assintomáticas. A doença sintomática ocorre com maior frequência em crianças pequenas (1 a 5 anos) e acomete as mucosas bucal e gengival (Fig. 33.4A). O período de incubação é curto (cerca de 3 a 5 dias, com variação de 2 a 12 dias), e a doença clínica dura 2 a 3 semanas. Os sintomas consistem em febre, faringite, lesões vesiculares e ulcerativas, gengivoestomatite e mal-estar. Gengivite (edema e hipersensibilidade das gengivas) é a lesão mais notável e comum. Em adultos, as infecções primárias costumam causar faringite e amigdalite. Pode ocorrer linfadenopatia localizada.

A doença recorrente caracteriza-se por um grupo de vesículas mais comumente localizadas na borda dos lábios (Fig. 33.4B). No início ocorre dor intensa, que desaparece em 4 a 5 dias. As lesões progridem para os estágios pustular e crostoso, e a cicatrização em geral se completa em 8 a 10 dias, sem deixar qualquer cicatriz. As lesões podem sofrer recidivas repetidamente e a vários intervalos no mesmo local. A frequência das recidivas varia amplamente entre os indivíduos. Muitas recorrências de disseminação oral são assintomáticas e de curta duração (24 h).

B. Ceratoconjuntivite

As infecções pelo HSV-1 podem ocorrer nos olhos, causando ceratoconjuntivite grave. As lesões oculares recorrentes são comuns, manifestando-se em forma de ceratite dendrítica ou úlceras de córnea, ou em forma de vesículas nas pálpebras. Na presença de ceratite recidivante, pode haver comprometimento progressivo do estroma corneano com opacificação permanente e cegueira. As infecções pelo HSV-1 são, depois dos traumatismos, a segunda causa de cegueira corneana nos EUA.

C. Herpes genital

A doença genital em geral é causada pelo HSV-2, embora o HSV-1 também possa provocar episódios clínicos de herpes genital. As infecções genitais primárias por herpes podem ser graves, com duração de cerca de 3 semanas. O herpes genital caracteriza-se por lesões vesiculoulcerativas do pênis no homem ou do colo uterino, da vulva, da vagina e do períneo na mulher. As lesões são muito dolorosas, podendo estar associadas a febre, mal-estar, disúria e linfadenopatia inguinal. As complicações incluem lesões extragenitais (cerca de 20% dos casos) e meningite asséptica (cerca de 10% dos casos). A excreção do vírus persiste por cerca de 3 semanas.

Devido à reatividade cruzada antigênica entre o HSV-1 e o HSV-2, a imunidade preexistente proporciona alguma proteção contra a infecção heterotípica. Uma infecção inicial pelo HSV-2 em um indivíduo já imune ao HSV-1 tende a ser menos grave.

As recidivas das infecções herpéticas genitais são comuns e tendem a ser leves. As vesículas aparecem em número limitado e cicatrizam em cerca de 10 dias. O vírus sofre disseminação

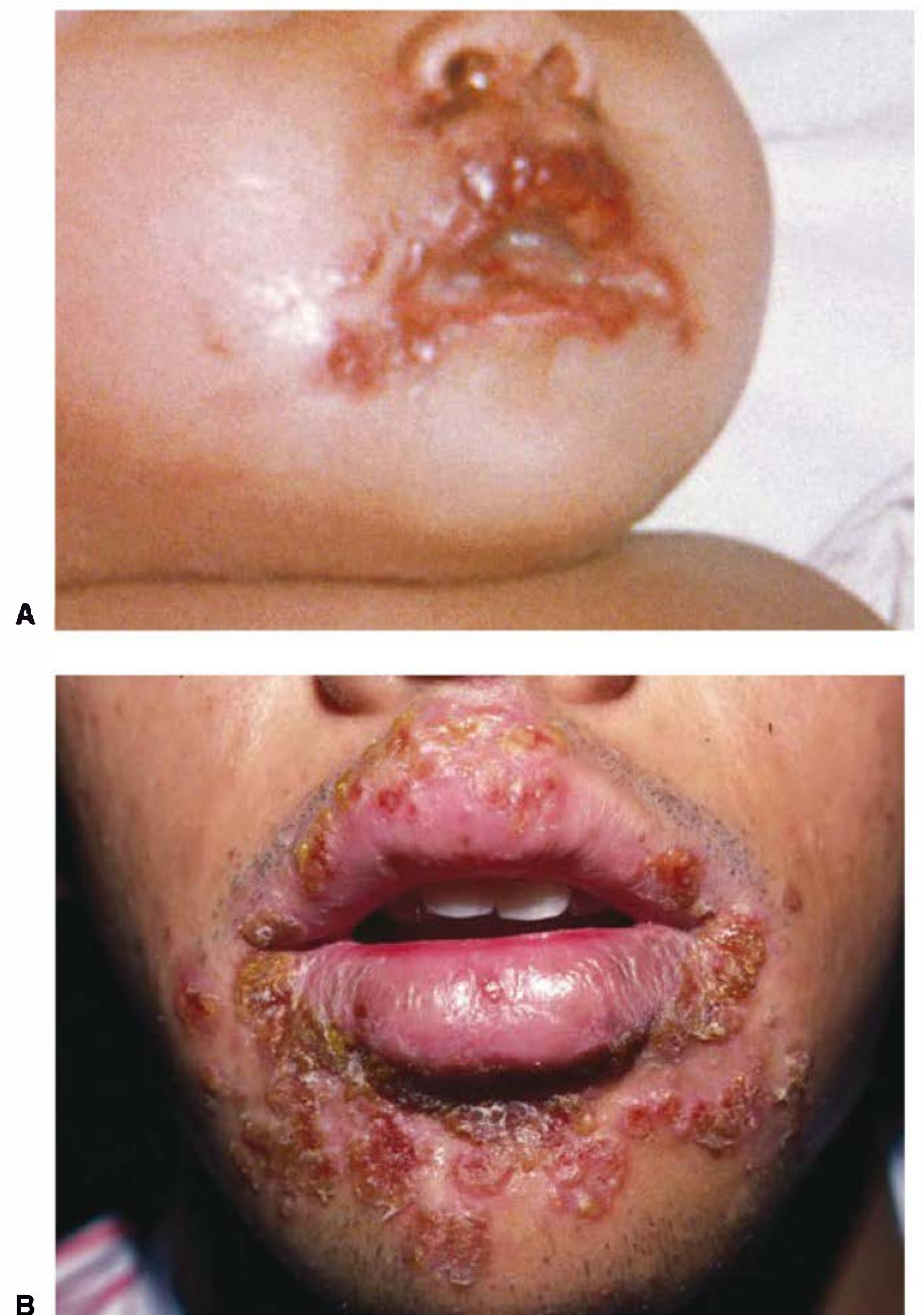


FIGURA 33.4 (A) Gengivoestomatite primária por herpes-vírus simples. (Cortesia de JD Millar. Fontes: Centers for Disease Control and Prevention, Public Health Image Library, ID# 2902, 2008.) (B) Herpes simples labial recorrente. (Reproduzida, com autorização, de Berger TG, Dept Dermatology, UCSF. Reproduzida, com autorização, de McPhee SJ, Papadakis MA [editors.]: *Current Medical Diagnosis & Treatment*, 48th ed. McGraw-Hill, 2009.)

durante apenas alguns dias. Algumas recidivas são assintomáticas com disseminação anogenital de menos de 24 horas de duração. Independentemente de a recidiva ser sintomática ou assintomática, o indivíduo que elimina vírus pode transmitir a infecção a seus parceiros sexuais.

D. Infecções cutâneas

A pele íntegra é resistente ao HSV, de modo que as infecções cutâneas são raras em indivíduos saudáveis. Podem ocorrer lesões localizadas causadas por HSV-1 ou HSV-2 em escoriações que se tornam contaminadas pelo vírus (herpes traumático). Essas lesões são observadas nos dedos de dentistas e do pessoal hospitalar (paroníquia herpética), bem como no corpo dos lutadores (herpes *gladiatorum* ou herpes do gladiador).

As infecções cutâneas são frequentemente graves e põem em risco a vida quando ocorrem em indivíduos com distúrbios da pele, como eczema ou queimaduras, que permitem a extensa replicação local e disseminação dos vírus. O eczema herpético

é uma infecção primária, habitualmente causada pelo HSV-1, em uma pessoa com eczema crônico. Em casos raros, a doença pode ser fatal.

E. Encefalite

O herpes-vírus pode produzir uma forma grave de encefalite. As infecções pelo HSV-1 são consideradas a causa mais comum de encefalite esporádica fatal nos EUA. A doença está associada a elevada taxa de mortalidade, e os sobreviventes frequentemente apresentam defeitos neurológicos residuais. Cerca de 50% dos pacientes com encefalite pelo HSV parecem apresentar infecções primárias, enquanto o restante parece ter infecção recorrente.

F. Herpes neonatal

A infecção do recém-nascido pelo HSV pode ser adquirida *in utero*, durante o parto ou após o nascimento. Em todos os casos, a mãe é a fonte mais comum de infecção. Estima-se que o herpes neonatal ocorra em cerca de um em 5.000 partos por ano. O recém-nascido parece incapaz de limitar a replicação e propagação do HSV, tendo propensão ao desenvolvimento de doença grave.

A via mais comum de infecção (cerca de 75% dos casos) consiste na transmissão do HSV ao recém-nascido durante o parto, pelo contato com lesões herpéticas no canal do parto. Para evitar a infecção, tem sido empregada a cesariana em mulheres grávidas com lesões genitais herpéticas. Entretanto, ocorre um número bem menor de casos de infecção neonatal pelo HSV do que casos de herpes genital recorrente, mesmo quando o vírus está presente a termo.

O herpes neonatal pode ser contraído no período pós-natal em consequência de exposição ao HSV-1 ou ao HSV-2. As fontes de infecção incluem familiares e pessoal hospitalar que estão disseminando o vírus. Cerca de 75% das infecções herpéticas neonatais são causados pelo HSV-2. Não parece haver diferença entre a natureza e a gravidade do herpes neonatal em prematuros ou lactentes a termo, em infecções causadas pelo HSV-1 ou pelo HSV-2, ou na doença quando o vírus é adquirido durante o parto ou no período pós-parto.

As infecções herpéticas neonatais são quase sempre sintomáticas. A taxa de mortalidade global da doença sem tratamento é de 50%. Os lactentes com herpes neonatal exibem três tipos de doença: (1) lesões localizadas na pele, nos olhos e na boca; (2) encefalite com ou sem envolvimento cutâneo localizado; e (3) doença disseminada que acomete vários órgãos, inclusive o sistema nervoso central. O prognóstico mais sombrio (taxa de mortalidade de cerca de 80%) é observado em lactentes com infecção disseminada, muitos dos quais desenvolvem encefalite. A causa da morte de lactentes com doença disseminada geralmente é pneumonite viral ou coagulopatia intravascular. Muitos sobreviventes de infecções graves apresentam dano neurológico permanente.

G. Infecções em hospedeiros imunocomprometidos

Os pacientes imunocomprometidos correm maior risco de contrair infecções graves pelo HSV. Esse grupo inclui pacientes

imunodeprimidos em consequência de doença ou de terapia (particularmente os que apresentam deficiência da imunidade celular) e indivíduos com desnutrição. Os receptores de transplante de rim, coração e medula óssea correm risco especial de contrair infecções herpéticas graves. Os pacientes com neoplasias malignas hematológicas e os pacientes com Aids contraem infecções pelo HSV com maior frequência e maior gravidade. As lesões herpéticas podem disseminar-se e afetar o trato respiratório, o esôfago e a mucosa intestinal. As crianças desnutridas estão sujeitas a contrair infecções disseminadas e fatais pelo HSV. Na maioria dos casos, a doença reflete a reativação de infecção latente pelo HSV.

Imunidade

Muitos recém-nascidos adquirem passivamente anticorpos maternos, os quais desaparecem durante os primeiros 6 meses de vida, de modo que o período de maior suscetibilidade a infecção herpética primária é observado entre 6 meses e 2 anos de idade. Os anticorpos adquiridos da mãe por via transplacentária não são totalmente protetores contra a infecção no recém-nascido, mas parecem atenuar a infecção ou mesmo preveni-la. Os anticorpos anti-HSV-1 começam a aparecer na população no início da infância; na adolescência, são encontrados na maioria dos indivíduos. Os anticorpos anti-HSV-2 aumentam durante a adolescência e atividade sexual.

Nas infecções primárias, verifica-se o aparecimento transitório de anticorpos IgM, seguidos dos anticorpos IgG e IgA, que persistem por um longo período. Quanto mais grave a infecção primária ou mais frequentes as recidivas, maior o nível de resposta humoral. Entretanto, o padrão de resposta humoral não tem correlação com a frequência de recidiva da doença. A imunidade celular e certos fatores inespecíficos do hospedeiro (células destruidoras naturais [*natural killer*], interferon) são importantes no controle das infecções pelo HSV tanto primárias quanto recorrentes.

Após a recuperação de uma infecção primária (inaparente, leve ou grave), o vírus permanece em estado latente na presença de anticorpos, os quais não previnem a reinfecção ou reativação do vírus latente, mas podem modificar a doença subsequente.

Diagnóstico laboratorial

A. Reação em cadeia da polimerase (PCR)

Os ensaios de PCR podem ser usados para a detecção viral, sendo sensíveis e específicos. A amplificação por PCR do DNA viral, a partir do líquido cefalorraquidiano, tem substituído o isolamento do vírus, a partir do tecido cerebral obtido por biópsia ou em exames necrópticos, como teste-padrão para o diagnóstico específico de infecções por HSV no sistema nervoso central.

B. Isolamento e identificação do vírus

O isolamento do vírus continua sendo a abordagem diagnóstica definitiva. O vírus pode ser isolado das lesões herpéticas e encontrado em lavados de garganta, no líquido cefalorraquidiano

(LCS) e nas fezes, tanto durante a infecção primária quanto durante os períodos assintomáticos. Por conseguinte, o isolamento do HSV não constitui evidência suficiente para indicar que o vírus seja o agente etiológico da doença investigada.

A inoculação em culturas de tecido é utilizada para isolamento do vírus. O HSV é fácil de ser cultivado e os efeitos citopáticos geralmente ocorrem em 2 a 3 dias. Em seguida, o agente é identificado por meio do teste de neutralização ou por coloração imunofluorescente com antissoro específico. A tipagem dos HSVs isolados pode ser efetuada com a utilização de anticorpos monoclonais ou por análise do DNA viral com endonuclease de restrição, mas esta abordagem não é útil para estudos epidemiológicos.

C. Citopatologia

Um método citológico rápido consiste na coloração de esfregaços obtidos da base da vesícula (p. ex., com coloração de Giemsa). A presença de células gigantes multinucleares indica que o herpes-vírus (HSV-1, HSV-2 ou varicela-zóster) está presente, distinguindo essas lesões daquelas causadas por vírus Coxsackie e patógenos não virais.

D. Sorologia

Os anticorpos aparecem 4 a 7 dias após a infecção e atingem um pico em 2 a 4 semanas, persistindo por toda a vida do hospedeiro, com flutuações mínimas. Os métodos disponíveis incluem teste de neutralização, imunofluorescência e Elisa.

O valor diagnóstico das provas sorológicas é limitado devido aos inúmeros antígenos compartilhados pelo HSV-1 e pelo HSV-2. Além disso, pode haver algumas respostas anamnésicas heterotípicas ao vírus varicela-zóster em indivíduos infectados pelo HSV e vice-versa. O uso de anticorpos anti-HSV específicos do tipo, disponíveis em alguns laboratórios de pesquisa, permite a realização de testes sorológicos mais significativos.

Epidemiologia

Os HSVs têm distribuição mundial. Não existe reservatório ou vetor animal envolvido com os vírus humanos. A transmissão ocorre por contato com secreções infectadas. A epidemiologia dos HSVs tipos 1 e 2 é diferente.

O HSV-1 constitui provavelmente o vírus mais constantemente encontrado em seres humanos em comparação com qualquer outro vírus. A infecção primária ocorre nos primeiros anos de vida e em geral é assintomática; ocasionalmente, provoca doença orofaríngea (gengivoestomatite em crianças de pouca idade, faringite em adultos jovens). Anticorpos se desenvolvem, porém o vírus não é eliminado do organismo; um estado de portador é estabelecido durante toda a vida, interrompido por episódios recorrentes transitórios de herpes.

A maior incidência de infecção pelo HSV-1 é observada entre crianças dos 6 meses aos 3 anos de idade. Na vida adulta, 70 a 90% dos indivíduos apresentam anticorpos dirigidos contra o tipo 1. Existe alta taxa de variação geográfica na soroprevalência. Nos países desenvolvidos, os indivíduos de classe média desenvolvem anticorpos mais tarde que os de populações socioeconômicas menos favorecidas, o que, presumivelmente,

reflete condições de vida em maiores aglomerações e padrões de higiene mais precários nos grupos socioeconômicos mais baixos. O vírus se propaga por contato direto com saliva infectada ou por meio de utensílios contaminados pela saliva de um indivíduo que esteja eliminando o vírus. A fonte de infecção em crianças geralmente é proveniente de um adulto com lesão herpética sintomática ou disseminação viral assintomática na saliva.

A frequência de infecções recorrentes pelo HSV-1 varia amplamente entre os indivíduos. A qualquer momento, 1 a 5% dos adultos normais estão excretando o vírus, frequentemente na ausência de sintomas clínicos.

Em geral, o HSV-2 é adquirido como doença sexualmente transmissível, de modo que os anticorpos dirigidos contra esse vírus raramente são encontrados antes da puberdade. Estima-se que existam cerca de 40 a 60 milhões de indivíduos infectados nos EUA. Os estudos de prevalência de anticorpos foram dificultados em virtude da reatividade cruzada entre o HSV tipo 1 e tipo 2. Levantamentos em que se utilizaram antígenos glicoproteicos específicos recentemente determinaram que 20% dos adultos nos EUA apresentam anticorpos anti-HSV-2, com soroprevalência maior em mulheres do que em homens e maior em negros do que em brancos, além de ter uma relação com a idade do indivíduo (cerca de 56% dos negros com sorologia positiva encontram-se na faixa de 30 a 49 anos de idade). Períodos de latência e reatividade do processo infeccioso ocorrem em ambos os sorotipos (HSV-1 e HSV-2). Estudos baseados em PCR demonstram frequentemente reativações em indivíduos imunocompetentes que duram menos de 12 horas. Tanto infecções assintomáticas quanto sintomáticas proporcionam um reservatório viral para transmissão a indivíduos suscetíveis. Estudos têm estimado que a transmissão de herpes genital em mais de 50% dos casos resulta de contato sexual na ausência de lesões ou sintomas.

As infecções genitais maternas pelo HSV constituem um risco tanto para a mãe quanto para o feto. Raramente, as mulheres grávidas podem desenvolver doença disseminada após a infecção primária, com elevada taxa de mortalidade. A infecção primária antes de 20 semanas de gestação tem sido associada à ocorrência de aborto espontâneo. O feto pode adquirir a infecção em consequência da disseminação viral a partir de lesões recorrentes no canal do parto por ocasião do nascimento. As estimativas da frequência de disseminação cervical do vírus entre mulheres grávidas variam amplamente.

As infecções genitais pelo HSV aumentam a aquisição de infecções pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV), pois as lesões ulcerativas são aberturas na superfície das mucosas.

Tratamento, prevenção e controle

Vários antivirais mostraram-se eficazes contra as infecções pelo HSV, como aciclovir, valaciclovir e vidarabina (ver Cap. 30). Todos são inibidores da síntese do DNA viral. O aciclovir, um análogo de nucleosídeo, é monofosforilado pela timidina quinase do HSV, sendo convertido na forma trifosfato pelas quinases celulares. O trifosfato de aciclovir é incorporado de maneira eficiente ao DNA viral pela polimerase do HSV, prevenindo a extensão da cadeia do DNA. Os antivirais podem suprimir as manifestações clínicas, diminuindo o tempo da

doença e reduzindo as recorrências do herpes genital. Todavia, o HSV permanece latente nos gânglios sensoriais. Podem surgir cepas de vírus resistentes aos fármacos.

Os recém-nascidos e indivíduos com eczema devem ser protegidos da exposição a pessoas com lesões herpéticas ativas.

Os pacientes com herpes genital devem ser informados de que a disseminação assintomática é frequente, e que o risco de transmissão pode ser reduzido por terapia antiviral e uso de preservativo.

Estão sendo desenvolvidas vacinas experimentais de vários tipos. Uma abordagem consiste em utilizar antígenos glicoproteicos purificados encontrados no envelope viral, expressos em algum sistema recombinante. Essas vacinas podem ser úteis na prevenção das infecções primárias. Contudo, uma vacina baseada em uma glicoproteína recombinante do HSV-2, falhou em prevenir infecções provocadas pelo herpes-vírus em um grande ensaio clínico realizado em 2010.

VÍRUS VARICELA-ZÓSTER

A varicela (catapora) é uma doença leve e altamente contagiosa, que acomete principalmente crianças. Do ponto de vista clínico, caracteriza-se por erupção vesiculosa generalizada da

pele e das mucosas. A doença pode ser grave em adultos e indivíduos imunocomprometidos.

O zóster (cobreiro) é uma doença esporádica e incapacitante de adultos ou indivíduos imunocomprometidos, caracterizada por exantema cuja distribuição se limita à pele inervada por um gânglio sensorial. As lesões assemelham-se às da varicela.

Ambas as doenças são causadas pelo mesmo vírus. A varicela representa a doença aguda que ocorre após contato primário com o vírus, enquanto o zóster constitui a resposta do hospedeiro parcialmente imune à reativação do vírus da varicela presente, em forma latente, em neurônios dos gânglios sensoriais.

Propriedades do vírus

O vírus varicela-zóster é morfolologicamente idêntico ao HSV; não tem reservatório animal, propaga-se em culturas de tecido embrionário humano e produz corpúsculos de inclusão intranucleares típicos (ver a Fig. 33.3B). As alterações citopáticas são mais focais e disseminam-se muito mais lentamente do que as induzidas pelo HSV. O vírus infeccioso permanece fortemente associado às células, e a propagação seriada é mais facilmente efetuada mediante a passagem de células infectadas do que por líquidos de cultura de tecido.

- ① O vírus varicela-zóster é inalado, infectando as células da mucosa nasal e da orofaringe
- ② O vírus infecta os linfonodos próximos, são replicados e ganham a circulação sanguínea (viremia primária)
- ③ A infecção de outras células do corpo ocorre com replicação no fígado e baço, resultando em viremia secundária
- ④ O vírus causa sucessivas lesões maculares cutâneas que evoluem para lesões bolhosas e depois para crostosas
- ⑤ O sistema imunológico controla o processo infeccioso, porém o vírus pode entrar em latência nas células ganglionais
- ⑥ Caso haja uma baixa da imunidade em decorrência da idade ou por outros motivos, pode ocorrer uma reativação viral, levando à nova infecção cutânea e à formação do zoster
- ⑦ A transmissão para outros indivíduos ocorre pelo contato com secreções respiratórias, ou pelo contato direto com as lesões cutâneas

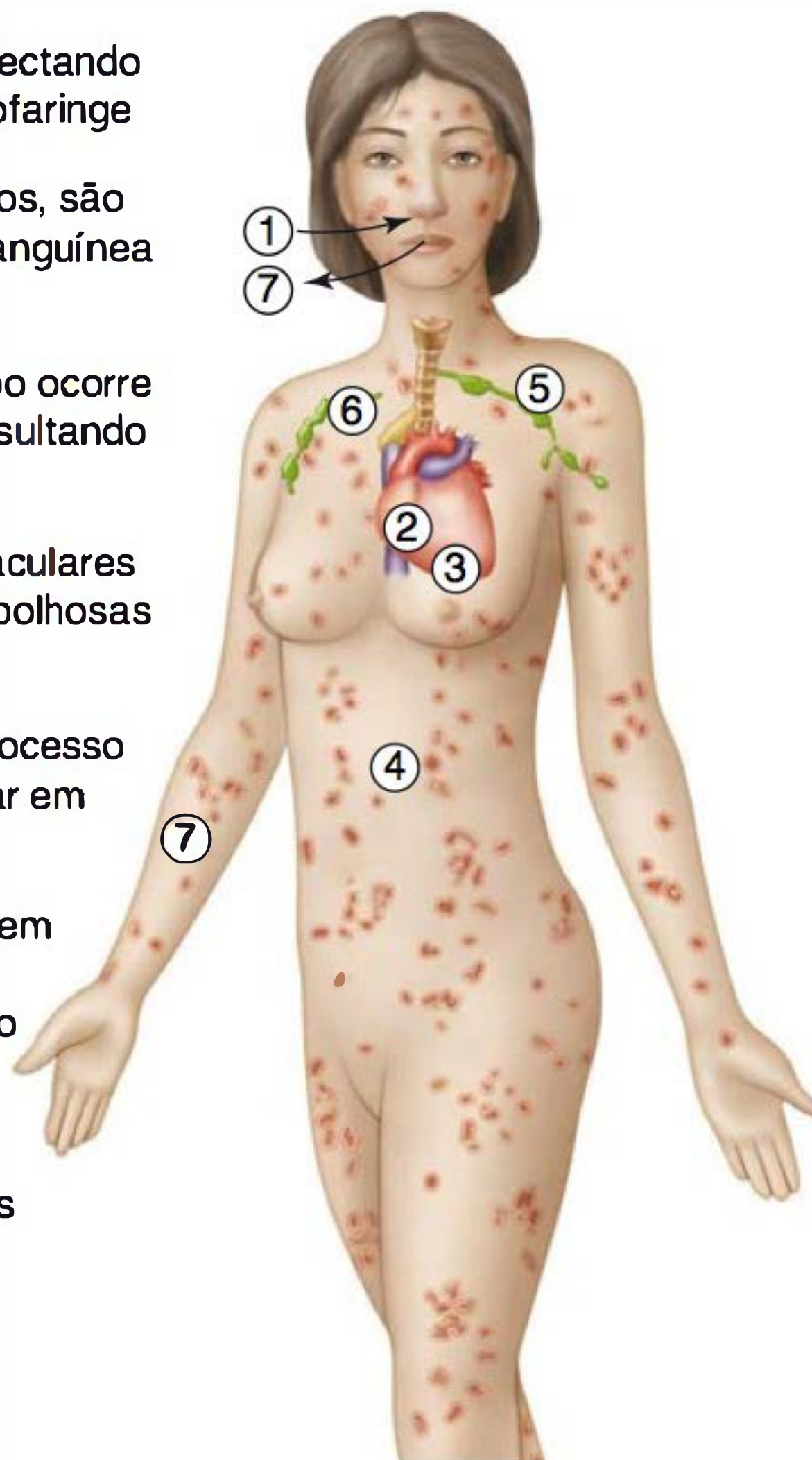


FIGURA 33.5 Patogênese da infecção primária pelo vírus varicela-zóster. O período de incubação com viremia primária dura 10 a 21 dias. Uma fase virêmica secundária resulta no transporte do vírus até a pele e a mucosa respiratória. A replicação nas células epidérmicas provoca o exantema característico da varicela, conhecido como catapora. A indução da imunidade específica contra o vírus varicela-zóster é necessária para interromper a replicação viral. O vírus tem acesso às células dos gânglios trigêmeos e das raízes dorsais durante a infecção primária, estabelecendo um estado de latência. (Reproduzida, com autorização, de Nester EW, Naderson DG, Roberts CE Jr, Nester MT [editores]: *Microbiology: A Human Perspective*, 6th ed. McGraw-Hill, 2009, p. 548. The McGraw-Hill Companies, Inc.)

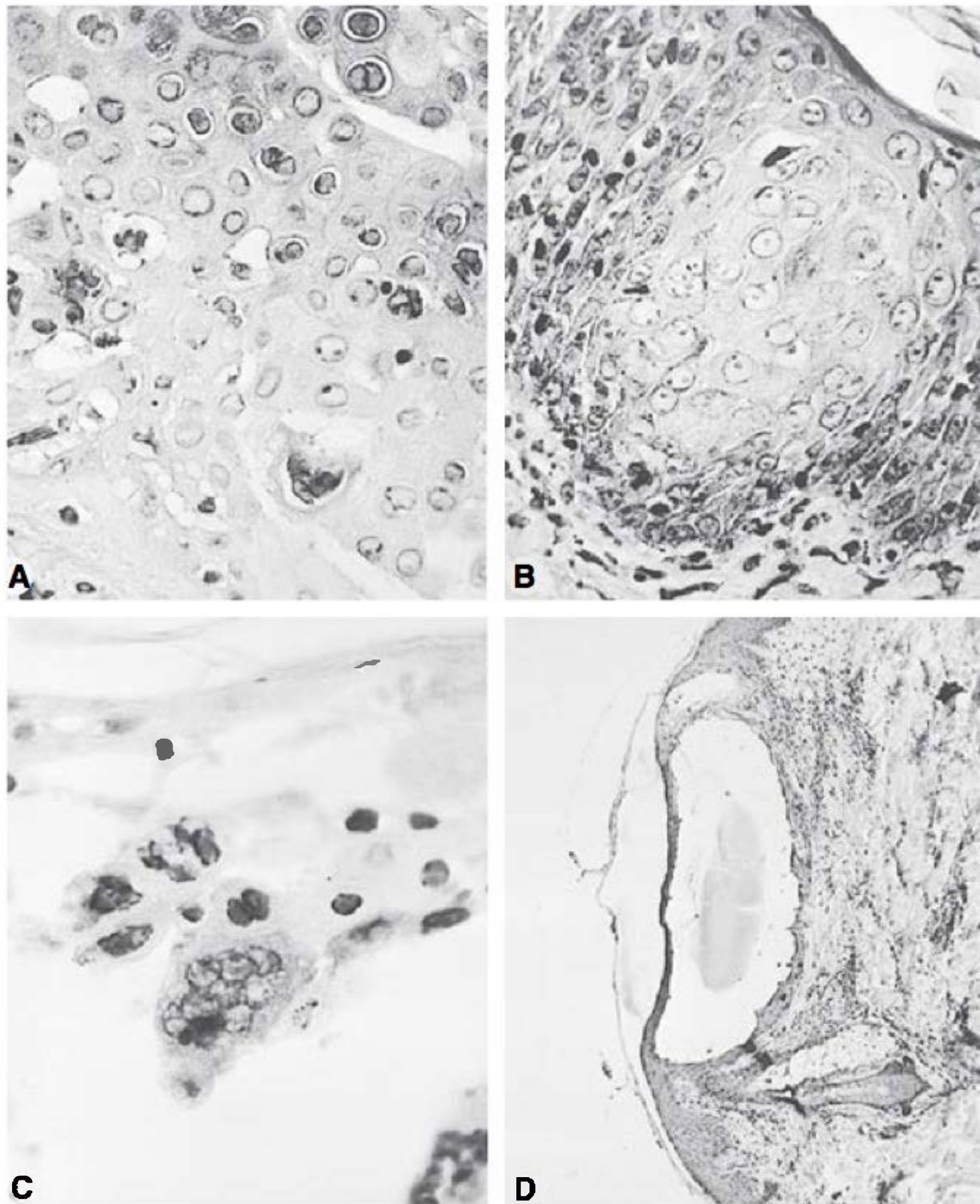


FIGURA 33.6 Alterações histológicas características da infecção pelo vírus varicela-zóster. As amostras de biópsias por punção de vesículas produzidas pelo vírus varicela-zóster foram fixadas e coradas com hematoxilina-eosina. (A) A infecção inicial mostra a “degeneração em balão” de células com núcleos basofílicos e cromatina marginada (reduzida em 480 vezes). (B) Infecção tardia que mostra inclusões intranucleares eosinofílicas circundadas por grandes zonas claras (reduzida em 480 vezes). (C) Célula gigante multinuclear no teto de uma vesícula de varicela (reduzida em 480 vezes). (D) Vista em pequeno aumento de vesícula inicial, mostrando a separação da epiderme (acantólise), edema da derme e infiltração com células mononucleares (reduzida em 40 vezes). (Reproduzida, com autorização, de Gelb LD: Varicela-zóster vírus. In Fields BN, Knipe DM [editors-in-chief]. *Virology*, 2nd ed. Raven Press, 1990.)

O mesmo vírus provoca a varicela e o zóster. Os vírus isolados das vesículas de pacientes com varicela ou zóster não exibem variação genética significativa. A inoculação do líquido de vesículas do zóster em crianças produz varicela.

Patogênese e patologia

A. Varicela

A via de infecção é a mucosa das vias respiratórias superiores ou a conjuntiva (Fig. 33.5). Após a replicação inicial nos linfonodos regionais, a viremia primária dissemina-se e leva o vírus a se replicar no baço e no fígado. A viremia secundária envolve monócitos infectados que transportam o vírus para a pele, onde se desenvolvem as erupções cutâneas típicas. O intumescimento das células epiteliais, a degeneração em balão e o acúmulo de líquido tecidual resultam na formação de vesículas (Fig. 33.6).

A replicação e disseminação do vírus varicela-zóster são limitadas pelas respostas imunológicas humorais e celulares do

hospedeiro. O interferon também pode estar envolvido. Além disso, foi observado que uma proteína codificada pelo vírus varicela-zóster (ORF61) antagoniza com a via do IFN- β , provavelmente contribuindo para a patogênese da infecção viral.

B. Zóster

Do ponto de vista histopatológico, as lesões cutâneas do zóster são idênticas às da varicela. Verifica-se também a ocorrência de inflamação aguda dos nervos e gânglios sensoriais. Frequentemente, apenas um gânglio pode ser acometido. Em geral, a distribuição das lesões na pele corresponde estreitamente às áreas de inervação de determinado gânglio da raiz dorsal.

Não se sabe ao certo o fator que deflagra a reativação das infecções latentes pelo vírus varicela-zóster nos gânglios. Acredita-se que o declínio da imunidade permita a ocorrência da replicação do vírus em um gânglio, provocando inflamação intensa e dor. O vírus segue seu trajeto pelo nervo até a pele e induz a formação de vesículas. A imunidade celular é, provavelmente, a defesa mais importante do hospedeiro para conter o vírus varicela-zóster. As reativações são esporádicas e raramente sofrem recidiva.

Manifestações clínicas

A. Varicela

A varicela subclínica é incomum. O período de incubação da doença típica é de 10 a 21 dias. Os sintomas iniciais consistem em mal-estar e febre, seguidos rapidamente do exantema, que surge de início no tronco e, em seguida, no rosto, nos membros, bem como nas mucosas oral e faríngea. Vesículas novas aparecem sucessivamente durante os 2 a 4 dias seguintes, de modo que todos os estágios de máculas, pápulas, vesículas e crostas podem ser observados em determinado momento (Fig. 33.7). O exantema persiste por 5 dias, e a maioria das crianças desenvolve centenas de lesões de pele.



FIGURA 33.7 Vários estágios ou “erupções” de lesões cutâneas da varicela. (Reproduzida, com autorização, de Gelb LD: Varicela-zóster vírus. In Fields BN, Knipe DM [editors-in-chief]. *Virology*, 2nd ed. Raven Press, 1990.)

As complicações são raras em crianças saudáveis quanto aos demais aspectos, e a taxa de mortalidade é muito baixa. Raramente ocorre encefalite, que pode ser tratada. Os pacientes que tiveram encefalite por varicela podem ficar com sequelas permanentes. Na varicela neonatal, a infecção é contraída da mãe pouco antes do nascimento ou após; entretanto, não há resposta imunológica suficiente para modificar a doença. Com frequência, o vírus está amplamente disseminado, podendo ser fatal. Casos de síndrome de varicela congênita seguidos de casos maternos de catapora durante a gravidez foram descritos.

A pneumonia da varicela é rara em crianças saudáveis, sendo, porém a complicação mais comum em neonatos, adultos e pacientes imunodeprimidos; é responsável por muitas mortes causadas por varicela.

Os pacientes imunocomprometidos apresentam maior risco de desenvolver complicações da varicela, como doenças malignas, transplantes de órgãos ou infecção pelo HIV e os que estão recebendo altas doses de corticosteroides. Coagulação intravascular disseminada pode ocorrer, sendo de evolução rápida e fatal. As crianças com leucemia estão particularmente sujeitas a desenvolver doença disseminada e grave pelo vírus varicela-zóster.

B. Zóster

Ocorre geralmente em pessoas imunodeprimidas como resultado de doença, tratamento ou idade, mas ocasionalmente se desenvolve em adultos jovens saudáveis. Em geral, a doença começa com dor intensa na área da pele ou na mucosa inervada por um ou mais grupos de nervos e gânglios sensoriais. Poucos dias após o início da doença, um grupo de vesículas surge sobre a pele inervada pelos nervos afetados. O tronco, a cabeça e o pescoço são mais comumente afetados (Fig. 33.8), com a divisão oftálmica do nervo trigêmeo envolvida em 10 a 15% dos casos. A complicação mais comum do zóster no indivíduo idoso consiste em neuralgia pós-herpética — uma dor que pode persistir por meses, sendo particularmente comum após o zóster

oftálmico. A doença visceral, particularmente a pneumonia, é responsável por mortes em pacientes imunossuprimidos com zóster (< 1% dos pacientes). As infecções do SNC causadas pelo vírus varicela-zóster, principalmente a meningite, frequentemente não apresentam as erupções cutâneas típicas das demais infecções causadas por esse agente viral.

Imunidade

O vírus da varicela e o vírus do zóster são idênticos, resultando ambas as doenças de diferentes respostas do hospedeiro. Acredita-se que a infecção anterior pelo vírus da varicela possa conferir imunidade permanente à varicela. Os anticorpos induzidos pela vacina contra a varicela persistem por pelo menos 20 anos. O zóster ocorre na presença de anticorpos neutralizantes contra a varicela.

Elevações nos títulos de anticorpos antivariçela podem ocorrer em pessoas com infecções pelo HSV.

O desenvolvimento de imunidade celular específica contra o vírus varicela-zóster é importante na recuperação. O aparecimento de interferon local também pode contribuir para a recuperação.

O vírus varicela-zóster, assim como outros herpes-vírus, possui maneiras de evasão ao sistema imunológico do hospedeiro. Por exemplo, diminui a expressão do complexo principal de histocompatibilidade classes I e II e na via do IFN- β .

Diagnóstico laboratorial

Os procedimentos diagnósticos rápidos são clinicamente úteis para o vírus varicela-zóster. Os ensaios de PCR são os escolhidos pela sua sensibilidade, especificidade e rapidez. O DNA viral pode ser detectado na saliva da maioria dos indivíduos, incluindo aqueles com zóster sem erupções cutâneas. O DNA viral também pode ser detectado nos líquidos das vesículas, em raspados de pele ou em material de biópsia.



A



B

FIGURA 33.8 (A) Herpes-zóster na distribuição de nervos torácicos. (Cortesia de AA Gershon.) (B) Herpes-zóster oftálmico. (Cortesia de MN Oxman, University of California, San Diego. Reproduzida, com autorização, de *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2008;57 [RR-5]:1.)

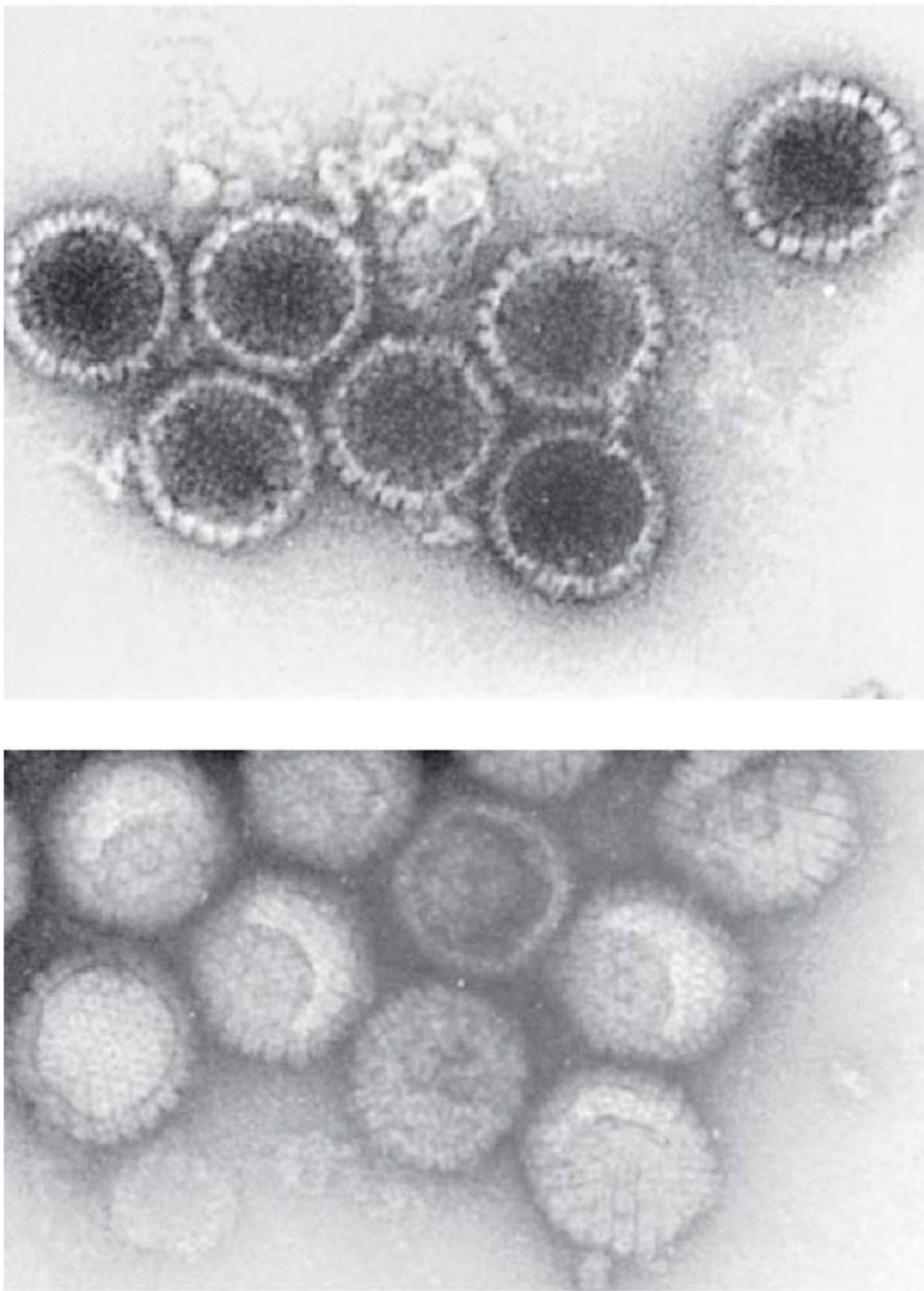


FIGURA 33.9 Em cima. Partículas de herpes-vírus do líquido de vesícula de ser humano coradas com acetato de uranila para mostrar o cerne do DNA (ampliada 140.000 vezes). **Embaixo.** Virions corados para mostrar os capsômeros proteicos do envelope viral (ampliada 140.000 vezes). **Observação:** Herpes-vírus diferentes não podem ser distinguidos por microscopia eletrônica. (Cortesia de KO Smith e JL Melnick.)

A presença de células gigantes multinucleares é observada em esfregaços corados obtidos de raspados ou de *swabs* da base das vesículas (esfregaço de Tzanck) (Fig. 33.6). Tais células estão ausentes nas vesículas não herpéticas. A presença de antígenos virais intracelulares pode ser demonstrada por coloração imunofluorescente de esfregaços similares.

Os herpes-vírus podem ser diferenciados dos poxvírus pelo aspecto morfológico das partículas nos líquidos vesiculares examinados por microscopia eletrônica (Fig. 33.9).

O vírus pode ser isolado do líquido da vesícula na evolução inicial da infecção por meio de culturas de células humanas em 3 a 7 dias. O vírus varicela-zóster no líquido da vesícula é muito lábil, devendo as culturas de células ser inoculadas imediatamente.

Uma elevação dos títulos de anticorpos específicos pode ser detectada no soro do paciente por vários testes, como os dos anticorpos fluorescentes e ensaios imunoenzimáticos. A escolha do ensaio depende do propósito do teste e dos recursos laboratoriais disponíveis. A imunidade celular é importante, porém a sua demonstração é difícil.

Epidemiologia

A varicela e o zóster ocorrem no mundo inteiro. A varicela (catapora) é uma doença epidêmica altamente contagiosa e comum da infância (a maior parte dos casos ocorre em crianças de até 10 anos de idade). Todavia, ocorrem casos em adultos. Nos climas temperados, é muito mais comum no inverno e na primavera do que no verão. O zóster ocorre de modo esporádico, principalmente em adultos, e não exibe prevalência sazonal. Cerca de 10 a 20% dos adultos apresentam pelo menos um episódio de zóster durante a vida, geralmente após os 50 anos.

Uma vacina viva atenuada encontra-se disponível. Na era pré-vacinal, a varicela causou cerca de 4 milhões de casos, 11.000 hospitalizações e 100 mortes por ano nos EUA. Desde que a vacina foi introduzida, em 1995, tem ocorrido um declínio na incidência de casos, mas surtos de varicela continuam a ocorrer em crianças em idade escolar, pois algumas não estão vacinadas, e a eficácia da vacina é de 80 a 85% nas pessoas vacinadas.

A varicela dissemina-se facilmente por aerossóis (perdigotos) e contato direto. Um paciente com varicela pode transmitir a doença de um curto período antes do surgimento das primeiras erupções até os primeiros dias após o surgimento das mesmas. A infecção por contato é menos comum no zóster, talvez em virtude de o vírus estar ausente no trato respiratório superior em casos típicos. Os pacientes com zóster podem ser fonte de varicela em crianças suscetíveis, possivelmente pela presença do DNA viral em suas salivas. O DNA do vírus varicela-zóster tem sido detectado pelo método de amplificação por PCR em amostras do ar de enfermarias de pacientes com varicela ativa (82%) e zóster (70%).

Tratamento

A varicela em crianças normais é uma doença leve, não necessitando de tratamento. Contudo, recém-nascidos e pacientes imunodeprimidos com infecções graves devem ser tratados.

A gamaglobulina com altos títulos de anticorpos contra o vírus varicela-zóster (imunoglobulina antivariçela-zóster) pode ser utilizada para impedir o desenvolvimento da doença em pacientes imunocomprometidos expostos à varicela, de alto risco para o desenvolvimento de doença grave. Todavia, não tem valor terapêutico, uma vez iniciada a varicela. A imunoglobulina-padrão não tem utilidade devido a seu baixo título de anticorpos contra a varicela.

O fabricante da única imunoglobulina para varicela-zóster licenciada nos EUA interrompeu sua produção em 2004; entretanto, em 2006 um novo produto em desenvolvimento (não licenciado) tornou-se disponível, podendo ser solicitado para uso por pacientes com maior risco de doença grave.

Vários antivirais mostram-se terapêuticamente eficazes contra a varicela, como aciclovir, valaciclovir, fanciclovir e foscarnete. O aciclovir pode impedir o desenvolvimento de doença sistêmica em pacientes imunossuprimidos infectados por varicela e interromper a progressão do zóster em adultos; não parece prevenir a ocorrência de neuralgia pós-herpética.

Prevenção e controle

Uma vacina do vírus vivo e atenuado da varicela (cobreiro) foi aprovada em 1995 para uso geral nos EUA. Uma vacina semelhante foi usada com sucesso no Japão durante cerca

de 30 anos. A vacina é altamente eficaz, induzindo proteção contra varicela em crianças (eficácia de 80 a 85%), mas menos eficaz em adultos (70%); tem eficácia próxima de 95% na prevenção de doença grave. Cerca de 5% dos indivíduos desenvolvem um exantema benigno associado à vacina 1 mês após a imunização. Em 2006, foram recomendadas duas doses da vacina para crianças, em decorrência de uma maior eficiência (maior do que 98%) na prevenção da varicela. A transmissão do vírus vacinal é rara, mas pode ocorrer quando a pessoa vacinada apresenta o exantema. A duração da imunidade protetora induzida pela vacina é desconhecida, mas provavelmente é longa. As infecções por varicela podem ocorrer em pessoas vacinadas, mas são geralmente benignas.

Uma vacina contra o zóster (cobreiro) foi licenciada nos EUA em 2006. Constitui uma versão mais potente da vacina contra a varicela, e tem se mostrado mais eficaz em adultos mais idosos, reduzindo a frequência de varicela e de zóster, bem como a gravidade das doenças, quando ocorrem. A vacina contra o zóster é recomendada para pacientes com condições clínicas crônicas e pessoas com mais de 60 anos de idade.

CITOMEGALOVÍRUS

Os citomegalovírus (CMVs) são herpes-vírus onipresentes que constituem causas comuns de doença humana. Os citomegalovírus são os agentes causadores de infecções congênitas mais comuns.

A doença de inclusão citomegálica é uma infecção generalizada de lactentes, causada por infecção intrauterina ou pós-natal imediata por CMV. A denominação da doença de inclusão citomegálica clássica deriva da propensão ao alargamento maciço das células infectadas pelo CMV. Este vírus representa um importante problema de saúde pública em virtude da sua alta frequência de infecções congênitas, que podem levar a anomalias congênitas graves. Infecção inaparente é comum durante a infância e a adolescência. Com frequência, são observadas infecções graves por CMV em adultos imunossuprimidos.

Propriedades do vírus

O CMV apresenta o maior conteúdo genético dos herpes-vírus humanos. Seu genoma de DNA (240 kbp) é significativamente maior do que o do HSV. Apenas algumas das inúmeras proteínas codificadas pelo vírus (mais de 200) foram caracterizadas. Uma delas, uma glicoproteína de superfície celular, atua como receptor de Fc, capaz de se ligar de modo inespecífico à porção Fc das imunoglobulinas, o que pode ajudar as células infectadas a escapar dos processos imunológicos de eliminação ao proporcionar um revestimento protetor de imunoglobulinas irrelevantes do hospedeiro.

O principal promotor imediato do CMV é um dos mais fortes promotores conhecidos, devido à concentração de locais de ligação para os fatores de transcrição celular, sendo usado experimentalmente para assegurar altos níveis de expressão de genes desconhecidos (vetores de expressão).

Muitas cepas geneticamente diferentes do CMV circulam na população humana. Entretanto, as cepas são suficientemente relacionadas do ponto de vista antigênico, e assim as diferenças entre elas provavelmente não são determinantes importantes na doença humana.

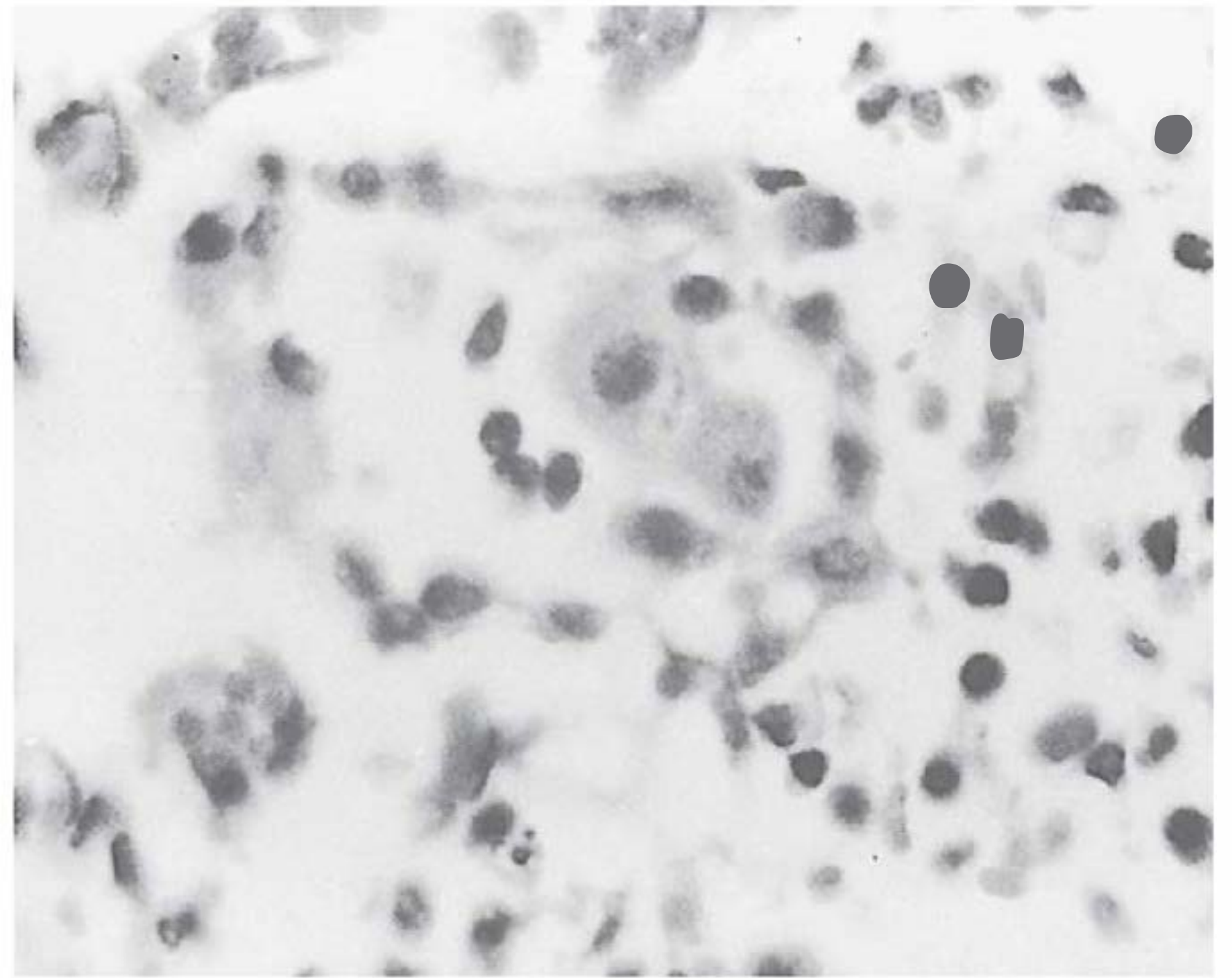


FIGURA 33.10 Células “citomegálicas” grandemente aumentadas, típicas da infecção por citomegalovírus no pulmão de bebê prematuro, que morreu de doença disseminada por citomegalovírus. (Cortesia de GJ Demmler.)

Os CMVs são muito espécie-específicos e da célula. Todas as tentativas de infectar animais com CMVs humanos falharam. Existem vários CMVs animais, todos espécie-específicos.

O CMV humano replica-se *in vitro* apenas em fibroblastos humanos, embora seja frequentemente isolado de células epiteliais do hospedeiro. O CMV replica-se muito lentamente em culturas de células, com um crescimento mais lento que o do HSV ou o do vírus varicela-zóster. Uma quantidade muito pequena de vírus torna-se livre das células, sendo a infecção transmitida principalmente de uma célula para outra. Esse processo pode levar algumas semanas até provocar um comprometimento de toda a monocamada.

O CMV produz um efeito citopático característico (Fig. 33.3C). Inclusões citoplasmáticas perinucleares formam-se além das inclusões intranucleares típicas dos herpes-vírus. A presença de células multinucleares é observada. Muitas células afetadas tornam-se acentuadamente aumentadas. Células citomegálicas com inclusões podem ser encontradas em amostras de indivíduos infectados (Fig. 33.10).

Patogênese e patologia

A. Hospedeiros normais

O CMV pode ser transmitido de pessoa para pessoa de várias maneiras diferentes, exigindo, em todos os casos, um estreito contato com material que contenha o vírus. O período de incubação é de 4 a 8 semanas em crianças de mais idade e adultos normais após exposição ao vírus. O vírus causa uma infecção sistêmica, tendo sido isolado dos pulmões, fígado, esôfago, colo, rins, monócitos e linfócitos T e B. A doença é uma síndrome semelhante à mononucleose infecciosa, embora a maior parte das infecções por CMV seja subclínica. Tal como ocorre com todos os herpes-vírus, o CMV estabelece infecções latentes durante toda a vida do hospedeiro. O vírus pode ser eliminado intermitentemente a partir da faringe e na urina durante meses

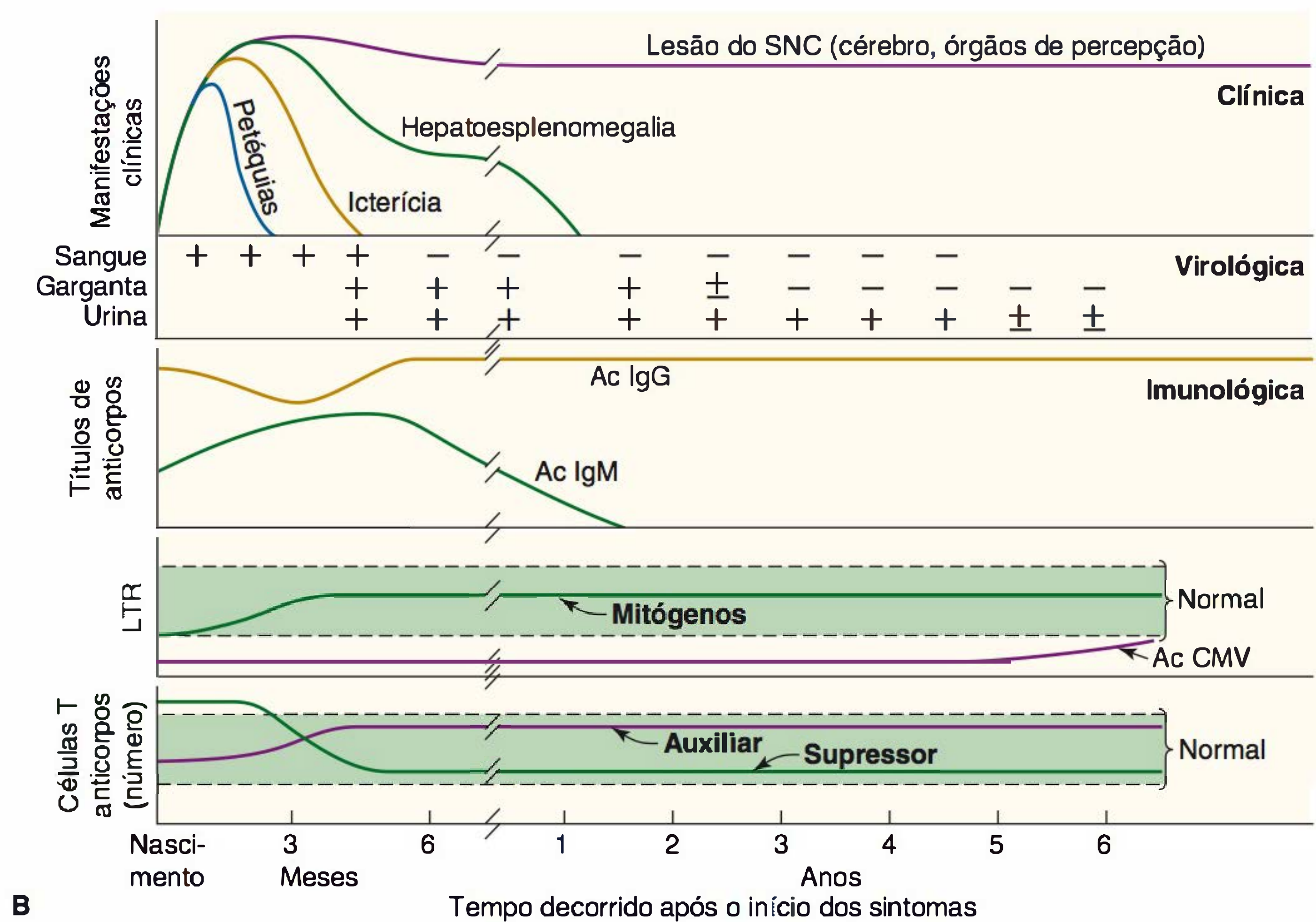
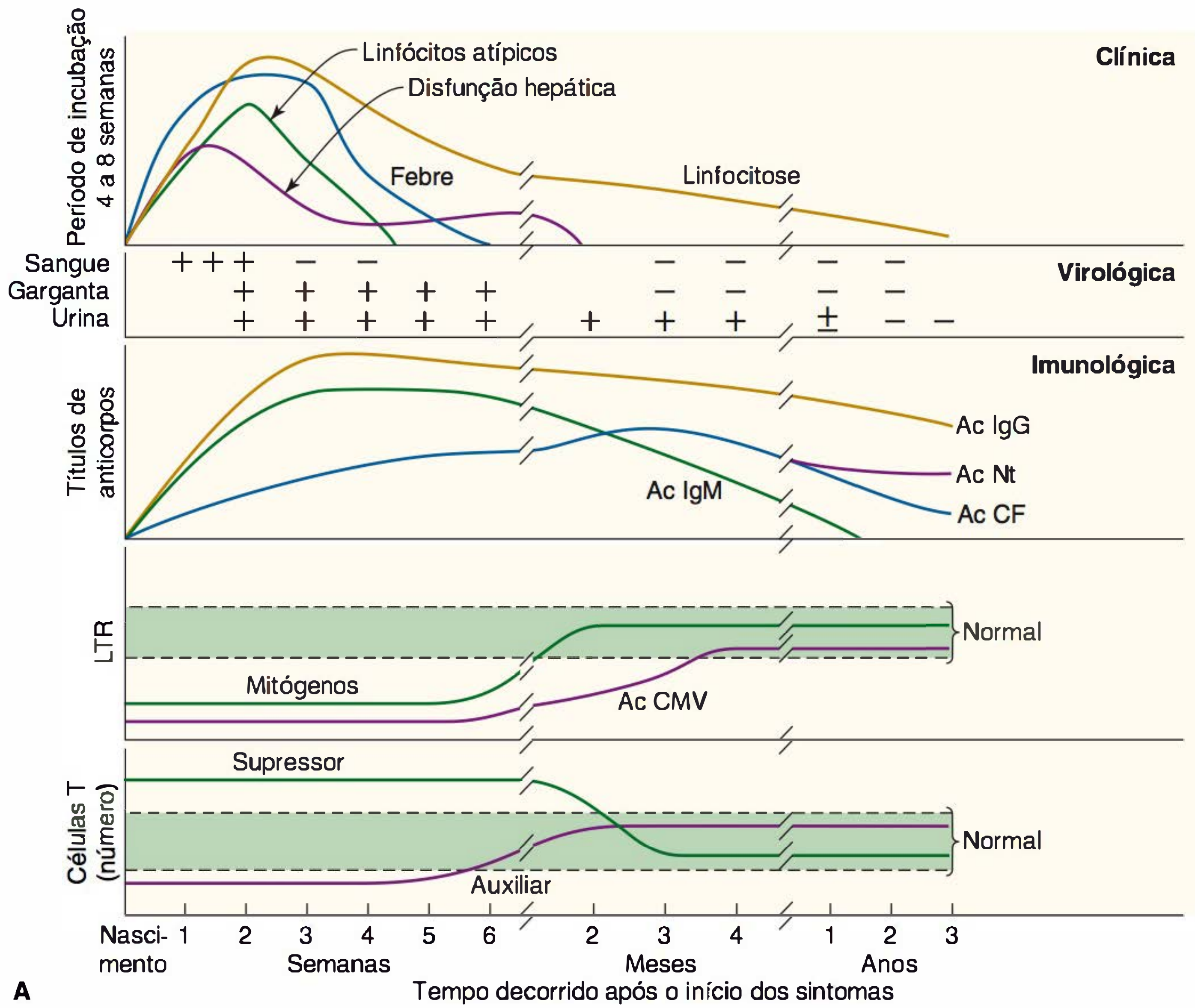


FIGURA 33.11 Características clínicas, virológicas e imunológicas da infecção por citomegalovírus (CMV) (A) Em indivíduos normais. (B) Em lactentes com infecção congênita. LTR, resposta de transformação linfocítica, na sigla em inglês. (Reproduzida, com autorização, de Alford CA, Britt WJ: Cytomegalovirus. In Fields BN, Knipe DM [editors-in-chief]. *Virology*, 2nd ed. Raven Press, 1990.)

a anos após a infecção primária (Fig. 33.11). A infecção renal prolongada por CMV não parece prejudicial em indivíduos normais. O comprometimento das glândulas salivares é comum e provavelmente crônico.

A imunidade celular apresenta-se deprimida nas infecções primárias (Fig. 33.11), o que pode contribuir para persistência da infecção viral. Podem ser necessários alguns meses para recuperação das respostas celulares.

B. Hospedeiros imunossuprimidos

As infecções primárias por CMV em hospedeiros imunossuprimidos são muito mais graves do que as observadas em hospedeiros normais. Os indivíduos com maior risco de desenvolver doença por CMV são os submetidos a transplantes de órgãos, pacientes com tumores malignos tratados com quimioterapia e indivíduos com Aids. A excreção viral é aumentada e prolongada, e a infecção apresenta maior tendência a se tornar disseminada. Pneumonia é a complicação mais comum.

A resposta imunológica do hospedeiro provavelmente mantém o CMV em estado latente em indivíduos soropositivos. As infecções reativadas estão associadas a doença muito mais frequentemente nos pacientes imunocomprometidos do que nos hospedeiros normais. Apesar de serem geralmente menos graves, as infecções reativadas podem ser tão virulentas quanto as infecções primárias.

C. Infecções congênicas e perinatais

As infecções do feto e do recém-nascido por CMV podem ser graves (Fig. 33.12). Cerca de 1% dos nascidos vivos por ano nos EUA apresenta infecções congênicas por CMV e cerca de

5 a 10% desses casos desenvolverão doença de inclusão citomegálica. Uma elevada porcentagem de lactentes com esta doença apresentará defeitos do desenvolvimento e retardamento mental.

O vírus pode ser transmitido *in utero* com infecções maternas tanto primárias quanto reativadas; cerca de 33% das mulheres grávidas com infecção primária o transmitem aos filhos. A doença de inclusão citomegálica generalizada resulta mais frequentemente de infecção materna primária. Não há evidências de que a idade gestacional por ocasião da infecção materna afeta a expressão da doença no feto. A transmissão intrauterina ocorre em cerca de 1% das mulheres soropositivas. A lesão do feto raramente resulta de infecções maternas reativadas; a infecção do lactente permanece subclínica, embora seja crônica (Fig. 33.11).

O CMV também pode ser adquirido pelo lactente em consequência de exposição ao vírus no trato genital da mãe durante o parto ou a partir do leite materno. Nesses casos, os lactentes geralmente receberam alguns anticorpos maternos, e as infecções por CMVs adquiridas no período perinatal tendem a ser subclínicas. As infecções por CMV adquiridas por transfusão em recém-nascidos variam conforme a quantidade de vírus recebida e o estado sorológico do doador. Independentemente do CMV ser adquirido *in utero* ou no período perinatal, ocorre uma infecção mais crônica — em termos de excreção do vírus — do que quando o vírus é adquirido em uma fase posterior da vida (Fig. 33.11).

O sequenciamento de nucleotídeos de alto rendimento foi usado para a análise do genoma do CMV isolado de neonatos com doença congênita, onde uma complexa mistura de tipos genômicos foi detectada com maior variabilidade, do que se esperava para um vírus de DNA.

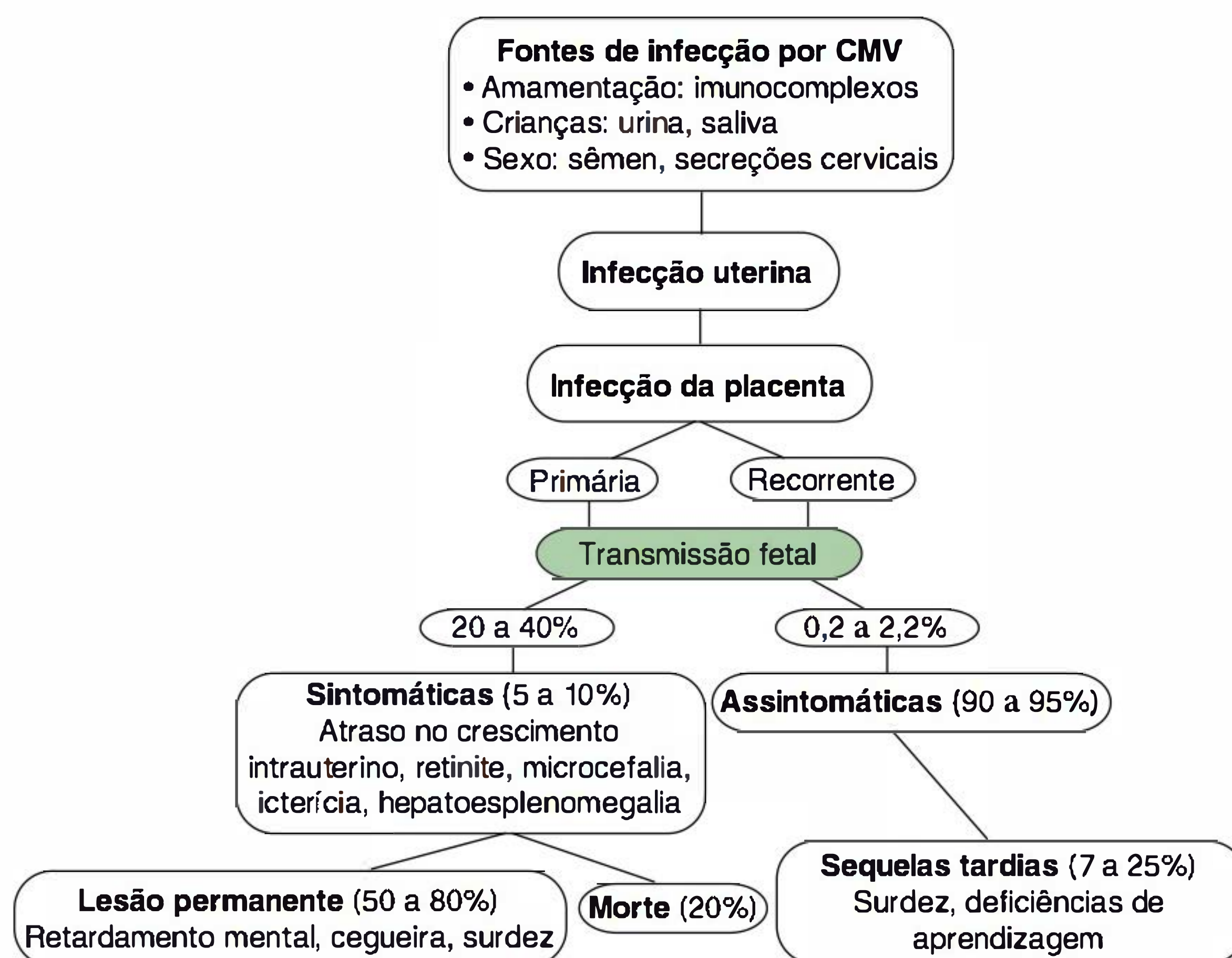


FIGURA 33.12 Infecções congênicas por citomegalovírus (CMV) e defeitos ao nascimento em crianças sintomáticas e assintomáticas. As infecções por CMV são as infecções intrauterinas mais comuns, associadas a defeitos congênicos. (Reproduzida, com autorização, de Pereira L, Maidji E, McDonagh S, Tabata T: Insights into viral transmission at the uterine-placental interface. *Trends Microbiol* 2005;13:164-174. Copyright Elsevier.)

Manifestações clínicas

A. Hospedeiros normais

A infecção primária por CMV em crianças de maior idade e adultos geralmente é assintomática, mas ocasionalmente provoca uma síndrome espontânea de mononucleose infecciosa. Estima-se que o CMV seja responsável por 20 a 50% dos casos de mononucleose heterófilo-negativa (não EBV).

A mononucleose por CMV é uma doença leve; as complicações são raras. É comum a ocorrência de hepatite subclínica. Em crianças de menos idade (até 7 anos), frequentemente se observa a presença de hepatoesplenomegalia.

Uma associação entre a presença do CMV e a formação de nova estenose após angioplastia coronária foi observada. Presume-se que o vírus possa contribuir para proliferação de células musculares lisas, resultando em reestenose.

B. Hospedeiros imunocomprometidos

Tanto a taxa de morbidade quanto a de mortalidade mostram-se aumentadas nas infecções primárias e recorrentes por CMV em indivíduos imunocomprometidos. Pneumonia constitui manifestação frequente. A pneumonia intersticial causada por CMV ocorre em 10 a 20% dos pacientes com transplante de medula óssea. Leucopenia associada ao vírus é comum em pacientes que receberam transplantes de órgãos sólidos, observando-se também bronquiolite obstrutiva em pacientes com transplante de pulmão, transplante de coração e rejeição a transplante renal relacionada com o CMV. O CMV frequentemente causa doença disseminada em pacientes com Aids; gastroenterite e coriorretinite constituem problemas comuns. A coriorretinite frequentemente acarreta cegueira progressiva.

C. Infecções congênicas e perinatais

A infecção congênita pode resultar em morte do feto *in utero* (Fig. 33.12). A doença de inclusão citomegálica de recém-nascidos caracteriza-se por comprometimento do SNC e do sistema reticuloendotelial. As características clínicas consistem em atraso do crescimento intrauterino, icterícia, hepatoesplenomegalia, trombocitopenia, microcefalia e retinite. A taxa de mortalidade é de cerca de 20%. A maioria dos sobreviventes desenvolve defeitos significativos do SNC em 2 anos. É comum a ocorrência de perda auditiva grave, anormalidades oculares e retardamento mental. Cerca de 10% dos lactentes com infecção congênita subclínica por CMV desenvolvem surdez. Estima-se que 1 em cada 1.000 lactentes nos EUA apresenta retardamento grave em consequência de infecção congênita por CMV.

Muitas mulheres previamente infectadas por CMV sofrem reativação e começam a eliminar o vírus do colo uterino durante a gravidez. Ao nascimento, os lactentes podem infectar-se pelo contato com o canal do parto infectado, embora apresentem títulos elevados de anticorpos maternos adquiridos por via transplacentária. Esses lactentes começam a eliminar o vírus com cerca de 8 a 12 semanas de vida e continuam a excretá-lo por vários anos, mas permanecem saudáveis.

A infecção adquirida por CMV é comum e geralmente inaparente. O vírus é eliminado na saliva e na urina dos indivíduos

infectados durante semanas ou meses. O CMV pode constituir uma causa de pneumonia isolada em lactentes com menos de 6 meses de vida.

Imunidade

Nos EUA, anticorpos para CMV no soro humano aumentam de acordo com a idade, de cerca de 40% em adolescentes para mais de 80% em pessoas com mais de 60 anos. A reativação da infecção latente ocorre na presença de imunidade humoral. A detecção de anticorpos no leite materno não impede a transmissão da infecção a lactentes amamentados no peito. Os anticorpos maternos protegem mais o lactente contra o desenvolvimento de doença grave do que contra a transmissão do vírus.

Diagnóstico laboratorial

A. Reação em cadeia da polimerase e testes de detecção de antígeno

Os testes por PCR substituíram o isolamento do vírus na rotina de detecção nas infecções por CMV. Os métodos de cultura celular para isolamento do vírus são muito demorados para serem úteis na orientação do tratamento, particularmente em pacientes imunossuprimidos. Os ensaios por PCR são desenvolvidos para detectar o vírus replicante, não os genomas virais latentes. Amostras de sangue e urina são normalmente empregadas. Os ensaios por PCR podem fornecer dados de carga viral que parecem importantes na previsão da doença por CMV. Anticorpos monoclonais contra antígenos virais podem ser empregados para detecção de leucócitos vírus-positivos em pacientes.

B. Isolamento do vírus

Fibroblastos humanos são empregados na tentativa de isolar o vírus, o qual pode ser recuperado mais facilmente de lavados de garganta e da urina. Em culturas, em geral são necessárias 2 a 3 semanas para o aparecimento de mudanças citológicas, que consistem em pequeno foco de intumescimento, células translúcidas com grandes inclusões intranucleares (ver Figs. 33.3C e D). O vírus permanece associado à célula.

C. Sorologia

Muitos tipos de ensaios podem detectar anticorpos IgG do CMV, indicativos de infecção passada (e potencial para sofrer reativação). A detecção de anticorpos virais IgM sugere infecção corrente. As técnicas sorológicas não são informativas sobre os pacientes imunocomprometidos. Além disso, as técnicas sorológicas são incapazes de distinguir diferenças entre cepas nos vírus isolados de amostras clínicas.

Epidemiologia

O CMV é endêmico em todas as partes do mundo, sendo desconhecida a ocorrência de epidemias. O vírus é observado durante todo o ano, não havendo variação sazonal nas taxas de infecção.

A prevalência da infecção varia de acordo com a condição socioeconômica, as condições de vida e as práticas de higiene do indivíduo. A prevalência dos anticorpos pode ser moderada (40 a 70%) em adultos de grupos socioeconômicos altos em países desenvolvidos — diferenciando-se de uma prevalência de 90% em crianças e adultos de países em desenvolvimento e de grupos socioeconômicos baixos em países desenvolvidos.

As novas infecções são quase sempre assintomáticas. Após a infecção, o vírus é eliminado de vários locais. A eliminação viral pode prosseguir por vários anos, frequentemente de modo intermitente, quando o vírus latente sofre reativação. Por conseguinte, exposições ao CMV são disseminadas e comuns.

Os seres humanos são os únicos hospedeiros conhecidos do CMV. A transmissão exige estreito contato entre pessoas. O vírus pode ser eliminado pela urina, na saliva, no sêmen, no leite materno e nas secreções cervicais, sendo transportado pelos leucócitos circulantes. A propagação oral e a respiratória provavelmente constituem as vias predominantes de transmissão do CMV, o qual também pode ser transmitido por via transplacentária, transfusões sanguíneas, transplante de órgãos e contato sexual. O risco estimado varia amplamente, mas é de cerca de 1 a 5% por unidade de sangue total. Os transplantados de órgãos sólidos soronegativos estão sob risco, pois um órgão soropositivo transmite a doença em 60 a 80% dos casos.

A infecção intrauterina pode causar doença grave no recém-nascido. Nos EUA, cerca de 1% dos lactentes é infectado pelo CMV. A maioria apresenta infecções subclínicas, porém crônicas; 5 a 10% têm a doença de inclusão citomegálica com defeitos de desenvolvimento e alta mortalidade. As infecções congênicas, sejam subclínicas ou clinicamente aparentes, resultam em infecções crônicas com a eliminação detectável do vírus durante anos. Muito mais lactentes tornam-se infectados pelo CMV nos primeiros meses de vida, frequentemente a partir do leite materno infectado ou da transmissão no berçário. Estas infecções são, em sua maioria, subclínicas, mas costumam ser crônicas, com persistência da eliminação do vírus. Nos EUA, muitas mulheres na idade fértil formam um grupo de risco para infecções primárias pelo CMV durante a gestação. A transmissão intrauterina ocorre em cerca de 40% das infecções primárias nas mães. Tais infecções maternas primárias durante a gravidez são responsáveis pela maioria dos casos de doença de inclusão citomegálica. Os lactentes e as crianças com infecções subclínicas por CMV constituem a principal fonte de exposição. Outras infecções congênicas são causadas por reativação de infecções maternas latentes. A transmissão intrauterina de tais reativações é incomum (cerca de 1%).

As infecções por CMV mostram-se acentuadamente aumentadas na população imunossuprimida; os pacientes que receberam transplante frequentemente desenvolvem infecções, cuja maioria é causada por reativações de vírus latente.

Tratamento e controle

O tratamento farmacológico para o CMV apresenta alguns resultados animadores. O ganciclovir, um nucleosídeo relacionado com o aciclovir do ponto de vista estrutural, é utilizado com sucesso no tratamento das infecções por CMV, potencialmente fatais em pacientes imunossuprimidos; reduz a gravidade da retinite, esofagite e colite causadas por CMV. Além disso, o tratamento precoce com ganciclovir diminui a incidência de

pneumonia por CMV em receptores de aloenxerto de medula óssea. O ganciclovir também controla a surdez progressiva em neonatos com infecções congênicas. O foscarnete, um análogo do pirofosfato inorgânico, é recomendado para tratamento da retinite por CMV. O aciclovir e o valaciclovir mostram alguns benefícios em pacientes que receberam transplante de medula e rins.

Não existem medidas específicas de controle para evitar a propagação do CMV. É aconselhável o isolamento dos recém-nascidos com doença generalizada de inclusão citomegálica.

O rastreamento de doadores e receptores de órgãos quanto à presença de anticorpos contra o CMV pode evitar algumas transmissões primárias. A população de receptores de órgãos soronegativa para o CMV representa um grupo de alto risco de infecção. Receptores de transplante hepático soronegativos, que iniciam a profilaxia com valganciclovir imediatamente após o transplante, têm resultados melhores do que receptores que adiam a profilaxia. A administração de IgG humana, preparada a partir de misturas de plasma obtido de indivíduos sadios apresentando títulos elevados de anticorpos contra o CMV (imunoglobulina antiCMV), produziu resultados divergentes em testes realizados com a finalidade de reduzir a incidência de infecções virais em receptores de órgãos. O suprimento de imunoglobulina antiCMV é limitado.

O uso de sangue de doadores soronegativos tem sido recomendado para lactentes que necessitam de várias transfusões. Tal abordagem eliminaria as infecções por CMV adquiridas por transfusão, mas é de difícil implementação.

Uma vacina de CMV vivo e uma vacina recombinante estão em desenvolvimento.

VÍRUS EPSTEIN-BARR

O Epstein-Barr (EBV), um herpes-vírus onipresente, é o agente etiológico da mononucleose infecciosa aguda e está associado a carcinoma nasofaríngeo, linfomas de Burkitt, linfomas de Hodgkin e não Hodgkin, outros distúrbios linfoproliferativos em indivíduos imunodeficientes e carcinoma gástrico.

Propriedades do vírus

O genoma de DNA do EBV contém cerca de 172 kbp, apresenta um conteúdo de G + C de 59% e codifica cerca de 100 genes. Existem dois tipos principais de EBV (tipos A e B).

A. Biologia do vírus Epstein-Barr

O linfócito B constitui a principal célula-alvo do EBV. Quando linfócitos B humanos são infectados pelo EBV, linhagens celulares contínuas podem ser estabelecidas, indicando que as células foram imortalizadas pelo vírus. Um número muito pequeno de células imortalizadas produz vírus infecciosos. Os estudos laboratoriais do EBV são dificultados pela falta de um sistema celular totalmente permissivo capaz de propagar o vírus.

O EBV inicia a infecção das células B mediante sua ligação ao receptor viral, que também é o receptor do componente C3d do complemento (CR2 ou CD21); entra diretamente em um estado latente no interior do linfócito, sem passar por um período de replicação completa. As características marcantes

da latência são a persistência viral, expressão restrita do vírus e o potencial de reativação e replicação lítica.

A eficácia da imortalização das células B pelo EBV é muito alta. Quando o vírus se liga à superfície celular, as células são ativadas e entram no ciclo celular. Posteriormente, ocorre a expressão de um repertório limitado de genes do EBV, e as células são capazes de proliferar indefinidamente. O genoma linear do EBV forma um círculo e sofre amplificação durante o ciclo celular da fase S; a maior parte do DNA viral nas células imortalizadas ocorre em forma de episômos circulares.

Os linfócitos B imortalizados pelo EBV expressam funções diferenciadas, como a secreção de imunoglobulinas. Além disso, ocorre a expressão de produtos de ativação das células B (p. ex., CD23). Diversos padrões de expressão do gene viral latente são reconhecidos, com base no espectro de proteínas e transcritos expressos. Estes incluem os antígenos nucleares do EBV (EBNA1, 2, 3A a 3C, LP) e duas proteínas de membrana do estado latente (LMP1, 2) e pequenos RNA não traduzidos (EBER).

A qualquer momento dado, um número muito pequeno de células (< 10%) em uma população imortalizada libera partículas virais. A latência pode ser interrompida e o genoma do EBV ativado replica-se em uma célula por diversos estímulos, como agentes químicos indutores ou ligações cruzadas entre superfície celular e imunoglobulinas.

O EBV pode replicar-se *in vivo* nas células epiteliais da orofaringe, das glândulas parótidas e do colo uterino. É encontrado nas células epiteliais de alguns carcinomas nasofaríngeos. Embora as células epiteliais *in vivo* contenham um receptor para o EBV, esse receptor é perdido nas células cultivadas.

O EBV está associado a inúmeros distúrbios linfoproliferativos. A expressão dos genes virais nessas células é limitada e varia de um único EBNA1 à totalidade das proteínas do complemento encontradas em células B infectadas de modo latente.

B. Antígenos virais

Os antígenos do EBV estão divididos em três classes com base na fase do ciclo de vida do vírus em que se expressam: (1) os antígenos da fase latente são sintetizados por células infectadas por vírus latente, consistindo nos EBNA e na LMP; sua expressão revela a presença de um genoma do EBV; apenas o EBNA1, necessário para manter os episômos do DNA viral, é invariavelmente expresso; a expressão dos outros antígenos da fase latente pode ser regulada em diferentes células; a LMP1 imita um receptor de fator de crescimento ativado; (2) os antígenos iniciais são proteínas não estruturais cuja síntese não depende da replicação do DNA viral; a expressão dos antígenos iniciais indica o início da replicação viral; (3) os antígenos tardios constituem os componentes estruturais do capsídeo (antígeno do capsídeo viral) e do envelope (glicoproteínas) do vírus; são produzidos em quantidades abundantes nas células que sofrem infecção por vírus produtivos.

C. Infecções em animais de laboratório

O EBV é altamente específico de espécie para seres humanos. Entretanto, saguis inoculados com EBV frequentemente desenvolvem linfomas malignos fatais.

Patogênese e patologia

A. Infecção primária

O EBV é comumente transmitido pela saliva infectada e inicia a infecção na orofaringe. A replicação do vírus ocorre nas células epiteliais (ou na superfície de linfócitos B) da faringe e nas glândulas salivares. Muitos indivíduos eliminam baixos níveis do vírus durante semanas a meses após a infecção. As células B infectadas disseminam a infecção da orofaringe para o corpo todo. Em indivíduos normais, a maioria das células infectadas pelo vírus é eliminada, porém um pequeno número de linfócitos infectados persiste durante toda a vida do hospedeiro (1 em 10^5 a 10^6 células B).

As infecções primárias em crianças geralmente são subclínicas — mas, se ocorrerem em adultos jovens, frequentemente irá se desenvolver mononucleose infecciosa aguda. A mononucleose é uma estimulação policlonal dos linfócitos. As células B infectadas por EBV sintetizam imunoglobulinas. Os autoanticorpos são típicos da doença, com anticorpos heterófilos que reagem com antígenos em eritrócitos de carneiro, sendo o autoanticorpo clássico.

B. Reativação após latência

Podem ocorrer reativações de infecções latentes pelo EBV, conforme comprovadas pela detecção de maiores níveis do vírus na saliva e de DNA nas células sanguíneas. Entretanto, essas reações costumam ser clinicamente silenciosas. Sabe-se que a imunossupressão reativa a infecção, algumas vezes com consequências graves.

Manifestações clínicas

As infecções primárias em crianças são, em sua maioria, assintomáticas. Em adolescentes e adultos jovens, a síndrome clássica associada à infecção primária é a mononucleose infecciosa (cerca de 50% das infecções). O EBV também está associado a diversos tipos de câncer.

A. Mononucleose infecciosa

Depois de um período de incubação de 30 a 50 dias, surgem sintomas como febre, cefaleia, mal-estar, fadiga e faringite. O aumento dos linfonodos e do baço é característico. Alguns pacientes desenvolvem sinais de hepatite.

A doença típica é autolimitada, com duração de 2 a 4 semanas. Durante a doença, verifica-se um aumento no número de leucócitos circulantes, com predomínio de linfócitos. Muitas dessas células consistem em linfócitos T grandes e atípicos. A febre baixa e o mal-estar podem persistir por semanas a meses após a doença aguda. As complicações são raras em hospedeiros normais.

B. Câncer

O EBV está associado a linfoma de Burkitt, carcinoma nasofaríngeo, linfomas de Hodgkin e não Hodgkin e carcinoma gástrico. Distúrbios linfoproliferativos pós-transplante associados ao EBV são uma complicação para pacientes imunodeficientes. O soro de pacientes com linfoma de Burkitt ou carcinoma nasofaríngeo contém elevados níveis de anticorpos para antígenos

específicos de vírus e os tecidos tumorais contêm DNA de EBV e expressam um número limitado de genes virais.

O linfoma de Burkitt é um tumor da mandíbula em crianças e adultos jovens africanos (ver Cap. 43). A maioria dos tumores africanos (> 90%) contém o DNA do EBV e expressa o antígeno EBNA1. Em outras partes do mundo, apenas cerca de 20% dos linfomas de Burkitt contêm o DNA do EBV. Acredita-se que o EBV pode estar envolvido no estágio inicial do linfoma de Burkitt ao immortalizar as células B. A malária, que segundo suspeitas seria um cofator, pode favorecer o aumento do reservatório de células transformadas pelo EBV. Por fim, existem translocações cromossômicas características que envolvem genes das imunoglobulinas, resultando em desregulação da expressão do proto-oncogene *c-myc*.

O carcinoma nasofaríngeo é um câncer de células epiteliais, comum em indivíduos do sexo masculino de origem chinesa. O DNA do EBV é regularmente encontrado em células de carcinoma nasofaríngeo, e os pacientes apresentam níveis elevados de anticorpos dirigidos contra o EBV. O EBNA1 e o LMP1 são expressos. Acredita-se que os fatores genéticos e ambientais também sejam importantes no desenvolvimento do carcinoma nasofaríngeo.

Os pacientes imunodeficientes são suscetíveis a doenças linfoproliferativas induzidas pelo EBV, que podem ser fatais. Cerca de 1 a 10% dos pacientes que receberam transplante desenvolvem distúrbios linfoproliferativos associados ao EBV, frequentemente quando apresentam uma infecção primária. Linfomas agressivos das células B monoclonais podem desenvolver-se.

Os pacientes com Aids são suscetíveis de desenvolver várias lesões associadas ao EBV — linfomas policlonais difusos, pneumonite intersticial linfocítica e leucoplaquia oral pilosa, um crescimento semelhante à verruga que se desenvolve na língua, e é um foco epitelial de replicação do EBV. Com certeza, todos os linfomas não Hodgkin do sistema nervoso central estão associados ao EBV, enquanto menos de 50% dos linfomas sistêmicos são positivos para o EBV. Além disso, o EBV está associado à doença clássica de Hodgkin, sendo o genoma viral detectado em células malignas de Reed-Sternberg em até 50% dos casos.

Imunidade

As infecções pelo EBV desencadeiam intensa resposta imunológica, que consiste na produção de anticorpos dirigidos contra muitas proteínas específicas do vírus, em várias respostas mediadas por células e na secreção de linfocinas. A imunidade mediada por células e células T citotóxicas é importante para limitar as infecções primárias e controlar as infecções crônicas.

Os testes sorológicos empregados para a determinação do padrão de anticorpos específicos contra diferentes classes de antígenos do EBV são os métodos habituais para o estabelecimento do estado do paciente em termos de infecção pelo EBV.

Diagnóstico laboratorial

A. Testes moleculares e identificação do vírus

A hibridização do ácido nucleico é o método mais sensível para a detecção do EBV em amostras de pacientes. Os EBER RNA são abundantemente expressos em células infectadas de forma latente e líticamente, fornecendo um alvo diagnóstico útil para

a detecção de células infectadas por hibridização. Os antígenos virais podem ser demonstrados diretamente nos tecidos linfoides e carcinomas nasofaríngeos. Durante a fase aguda da infecção, cerca de 1% dos linfócitos circulantes contêm marcadores do EBV. Após a recuperação da infecção, cerca de 1 em 1 milhão de linfócitos B transportará o vírus.

B. Isolamento do vírus

O EBV pode ser isolado da saliva, do sangue periférico ou do tecido linfóide por immortalização dos linfócitos humanos normais, geralmente obtidos do sangue do cordão umbilical, ensaio trabalhoso e lento (6 a 8 semanas) que exige recursos especializados, sendo raramente feito. Além disso, é possível cultivar linfócitos B “espontaneamente transformados” de pacientes infectados pelo vírus. Qualquer agente immortalizante isolado é considerado EBV com base na detecção do DNA do vírus ou de antígenos específicos do EBV nos linfócitos immortalizados.

O EBV é encontrado na saliva de muitos pacientes imunossuprimidos. Lavados de garganta positivos para o vírus também são obtidos em até 20% dos adultos saudáveis.

C. Sorologia

Os procedimentos sorológicos comuns para a detecção de anticorpos dirigidos contra o EBV consistem nos testes de Elisa, ensaios *immunoblot*, bem como ensaios e testes de imunofluorescência indireta com a utilização de células linfóides positivas para o EBV.

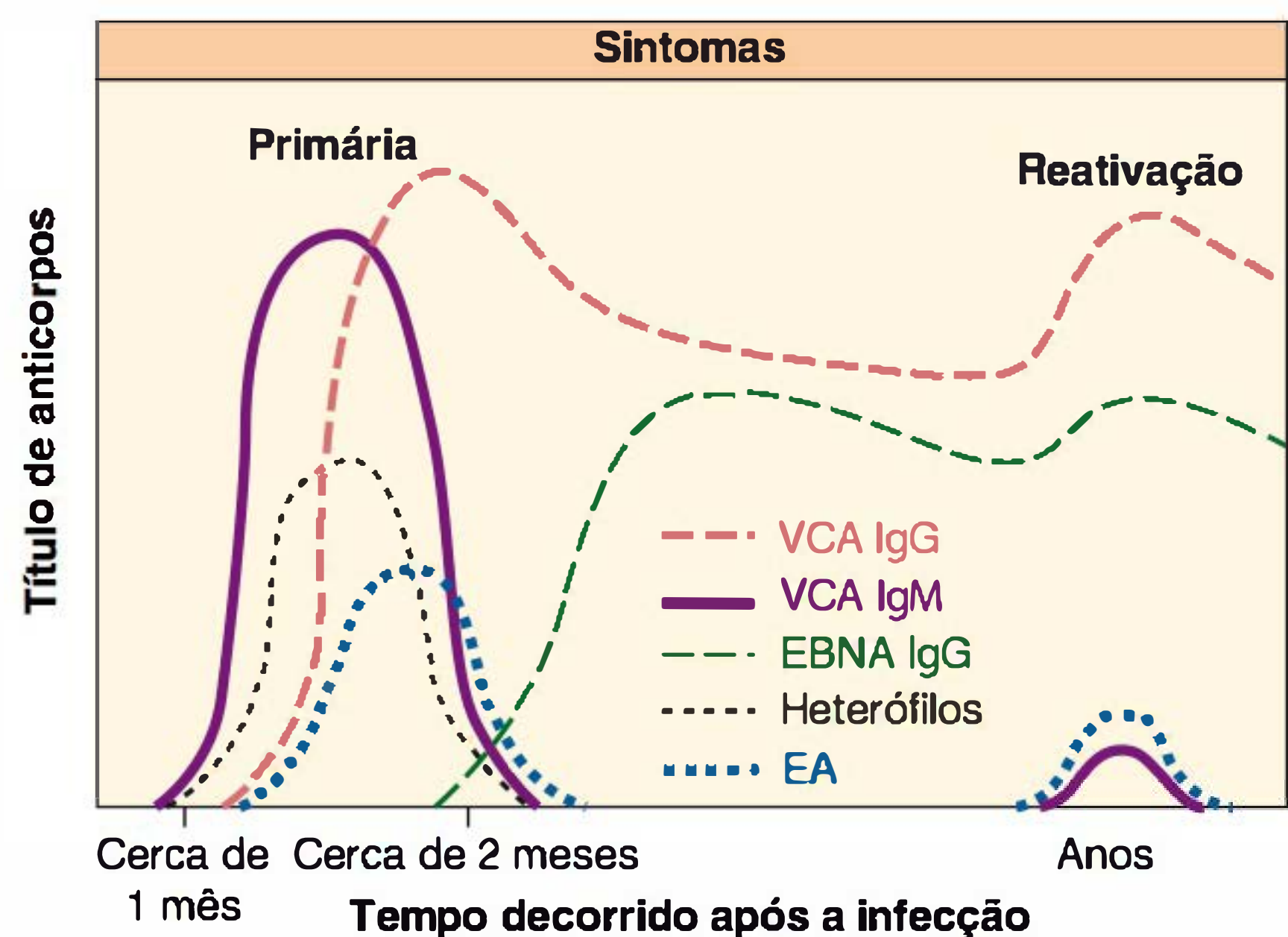


FIGURA 33.13 Padrão típico da formação de anticorpos contra antígenos específicos do EBV após infecção primária. Os indivíduos com infecção recente apresentam anticorpos IgM e IgG contra o antígeno do capsídeo viral (VCA IgM, VCA IgG). Apenas os anticorpos IgG persistem durante vários anos. Desenvolve-se anticorpos heterófilos transitórios que podem aglutinar hemácias de carneiro. São produzidos anticorpos contra os antígenos iniciais (AI) em muitos pacientes, que persistem por vários meses. Algumas semanas após a infecção aguda aparecem anticorpos contra os antígenos nucleares do EBV (EBNA) e contra o antígeno de membrana, que persistem durante toda a vida do indivíduo. (Reimpressa de Gulley ML, Tang W: Laboratory assays for Epstein-Barr virus-related disease. *J Mol Diagn* 2008;10:279-292, com autorização, da American Society for Investigative Pathology e da Association for Molecular Pathology.)

A Figura 33.13 mostra o padrão típico de respostas humorais a antígenos específicos do EBV após infecção primária. No estágio inicial da doença aguda, ocorre a elevação transitória dos anticorpos IgM contra o antígeno do capsídeo viral; tais anticorpos são substituídos, em poucas semanas, por anticorpos IgG dirigidos contra esse antígeno, que persistem por toda a vida do indivíduo. Pouco mais tarde, surgem anticorpos contra o antígeno inicial, que persistem por vários meses. Algumas semanas após a infecção aguda, são produzidos anticorpos contra EBNA e o antígeno de membrana, que persistem por toda a vida.

O teste de aglutinação heterofílica menos específico pode ser utilizado para estabelecer o diagnóstico de infecção pelo EBV. Durante o curso da mononucleose infecciosa, a maioria dos pacientes produz anticorpos heterofílicos transitórios que aglutinam células de carneiro. Os testes *spot* disponíveis comercialmente são convenientes. As relações antigênicas acidentais fornecem a especificidade dessa reação heterofílica.

Os testes sorológicos para anticorpos contra o EBV requerem alguma interpretação. A presença de anticorpo do tipo IgM contra o antígeno do capsídeo viral é indicativa de infecção ativa. O anticorpo do tipo IgG contra o antígeno do capsídeo viral é um marcador de infecção anterior e indica imunidade à mononucleose. Em geral, os anticorpos contra antígenos iniciais fornecem uma evidência de infecção viral ativa, embora esses anticorpos sejam frequentemente encontrados em pacientes com linfoma de Burkitt ou com carcinoma nasofaríngeo. Os anticorpos contra os antígenos EBNA revelam infecção anterior pelo EBV, embora a detecção de uma elevação nos títulos de anticorpos antiEBNA possa sugerir uma infecção primária. Nem todos os indivíduos produzem anticorpos antiEBNA.

Epidemiologia

O EBV é comum em todas as partes do mundo, com mais de 90% de soropositividade entre os adultos. É transmitido principalmente por contato com secreções da orofaringe. Nos países em desenvolvimento, as infecções ocorrem no início da vida, e mais de 90% das crianças são infectadas aos 6 anos de idade. Em geral, essas infecções observadas no início da infância ocorrem sem qualquer doença reconhecível. As infecções inaparentes resultam em imunidade permanente contra a mononucleose infecciosa. Nos países industrializados, mais de 50% das infecções pelo EBV ocorrem no final da adolescência e início da vida adulta. Em quase 50% dos casos, a infecção manifesta-se em forma de mononucleose infecciosa. Existe uma estimativa de que ocorrem, nos EUA, 100.000 casos anualmente.

Prevenção, tratamento e controle

Não existe vacina disponível contra o EBV.

O aciclovir diminui a eliminação do EBV da orofaringe durante o período de administração do fármaco, mas não afeta o número de células B imortalizadas pelo vírus. O aciclovir não tem efeito sobre os sintomas da mononucleose nem apresenta qualquer benefício comprovado no tratamento dos linfomas associados ao EBV em pacientes imunocomprometidos.

A transferência adotiva das células T reativas ao EBV mostra-se promissora como tratamento para a doença linfoproliferativa relacionada com o EBV.

HERPES-VÍRUS HUMANO 6

O HHV-6 linfotrópico T foi reconhecido pela primeira vez em 1986. Foi isolado inicialmente de culturas de células mononucleares do sangue periférico de pacientes com distúrbios linfoproliferativos.

Propriedades do vírus

O DNA viral tem cerca de 160 a 170 kbp de tamanho e composição média de 43 a 44% (G + C). O arranjo genético do genoma do HHV-6 assemelha-se ao do CMV humano.

O HHV-6 não parece antigenicamente relacionado com outros herpes-vírus humanos conhecidos, à exceção de alguma reatividade cruzada limitada com o HHV-7. Os HHV-6 isolados segregam-se em dois grupos antigênicos estreitamente relacionados porém distintos (designados por A e B).

O vírus cresce bem nos linfócitos T CD4. Outros tipos celulares também servem para a replicação viral, como as células B e células de origem glial, fibroblastoide e megacariocítica. As células na orofaringe podem tornar-se infectadas devido à presença do vírus na saliva. Não se sabe quais células do corpo apresentam infecção latente. A molécula CD46 humana é o receptor celular do vírus.

Epidemiologia e manifestações clínicas

Os estudos soropidemiológicos que utilizam testes de imunofluorescência para anticorpos séricos ou ensaios de PCR para o DNA viral na saliva ou no sangue demonstraram que o HHV-6 encontra-se disseminado na população. Estima-se que mais de 90% das crianças com mais de 1 ano de idade e adultos sejam soropositivos.

As infecções pelo HHV-6 ocorrem tipicamente no início da infância. A infecção primária provoca exantema súbito (roséola do lactente ou “sexta doença”), uma doença infantil comum e discreta, caracterizada por febre alta e erupção cutânea. A variante 6B parece ser a causa dessa doença. O vírus está associado a convulsões febris em crianças.

Presume-se que o modo de transmissão do HHV-6 seja por secreções da via oral. O fato de constituir um agente ubíquo sugere que ele precisa estar espalhado no meio ambiente a partir de um portador infectado.

As infecções persistem durante toda a vida. A reativação parece comum em pacientes que receberam transplante e durante a gravidez. As consequências da infecção reativada ainda não foram estabelecidas. A reativação do HHV-6 ocorre em 50% dos pacientes que sofreram transplante de células germinativas hematopoiéticas. Essas reativações ocorrem logo após o transplante, sendo associadas a atraso do enxerto, disfunção do sistema nervoso central e maior mortalidade.

HERPES-VÍRUS HUMANO 7

O herpes-vírus humano linfotrópico T, denominado HHV-7, foi isolado pela primeira vez em 1990 de células T ativadas obtidas de linfócitos do sangue periférico de um indivíduo sadio.

Do ponto de vista imunológico, o HHV-7 é distinto do HHV-6, apesar de compartilharem 50% de homologia em nível do DNA.

O HHV-7 parece um agente onipresente, e a maioria das infecções observadas na infância ocorre mais tarde que a infecção pelo herpes-vírus HHV-6. Infecções persistentes são estabelecidas nas glândulas salivares, e o vírus pode ser isolado da saliva da maioria dos indivíduos. Em um estudo longitudinal realizado com adultos saudáveis, 75% dos participantes excretaram vírus infecciosos na saliva 1 ou mais vezes durante um período de observação de 6 meses. De modo similar ao que ocorre com o HHV-6, a infecção primária com o HHV-7 tem sido associada a roséola infantil em crianças. Todas as outras associações de HHV-7 ainda não foram estabelecidas.

HERPES-VÍRUS HUMANO 8

Um novo herpes-vírus, designado HHV-8 (KSHV), também denominado herpes-vírus associado ao sarcoma de Kaposi, foi detectado pela primeira vez em 1994, em amostras de sarcoma de Kaposi. O KSHV é linfotrópico e está mais estreitamente relacionado com o EBV e o herpes-vírus saimiri do que com outros herpes-vírus conhecidos. O genoma do KSHV (cerca de 165 kbp) contém inúmeros genes relacionados com genes celulares regulatórios envolvidos na proliferação celular, apoptose e em respostas do hospedeiro (ciclina D, citocinas, receptor de quimiocinas) que presumivelmente contribuem para a patogênese viral. Essa “pirataria” molecular dos genes regulatórios celulares é uma característica marcante do vírus. O KSHV é a causa dos sarcomas de Kaposi, de tumores vasculares de composição celular mista, e está envolvido na patogênese dos linfomas de cavidades corporais que ocorrem em pacientes com Aids e naqueles com doença de Castleman multicêntrica.

O KSHV não é tão onipresente, quanto os outros herpes-vírus. Nos EUA e no norte da Europa, cerca de 5% da população geral apresentam evidências sorológicas de infecção pelo KSHV. O contato com secreções orais parece a rota mais comum de transmissão. O vírus também pode ser transmitido por via sexual, verticalmente, pelo sangue e por órgãos transplantados. O DNA viral também tem sido detectado em amostras de leite materno na África, onde as infecções são comuns (> 50%) e são adquiridas no início da vida.

O DNA viral pode ser detectado em amostras de pacientes com o emprego de testes de PCR. O cultivo direto do vírus é difícil e impraticável. Testes sorológicos encontram-se disponíveis para se medir a persistência de anticorpos para o KSHV com o uso de testes de imunofluorescência indireta, *Western blot* e Elisa.

O foscarnete, o ganciclovir e o cidofovir têm atividade contra a replicação do KSHV. A taxa da replicação do KSHV e de novos sarcomas de Kaposi é fortemente reduzida em pacientes HIV-positivos em terapia antirretroviral efetiva, provavelmente refletindo a vigilância do sistema imunológico reconstituído contra as células infectadas pelo KSHV.

VÍRUS B

O herpes-vírus B dos macacos do Velho Mundo é atualmente patogênico para os seres humanos. A transmissão do vírus para os seres humanos é limitada, mas as infecções que ocorrem estão associadas a elevada taxa de mortalidade (cerca de 60%).

A doença pelos vírus B em seres humanos consiste em mielite ascendente aguda e encefalomielite.

Propriedades do vírus

O vírus B é um herpes-vírus típico nativo dos macacos do Velho Mundo na Ásia. O vírus B é enzoótico em macacos *rhesus*, macacos cinomolgos e outros macacos (gênero *Macaca*). Na atualidade, é denominado herpes-vírus cercopitecrino 1, substituindo a antiga denominação *Herpes simiae*. A organização de seu genoma é similar à dos HSV, com muitos genes arranjados colinearmente; o genoma possui 75% de G + C, o mais alto entre os herpes-vírus. A exemplo de todos os herpes-vírus, o vírus B estabelece infecções latentes nos hospedeiros infectados. O vírus cresce bem em culturas de rim de macaco, rim de coelho e células humanas, com ciclo de crescimento curto. Os efeitos citopáticos assemelham-se aos dos HSV.

Patogênese e patologia

As infecções pelo vírus B raramente causam doença em macacos *rhesus*. Lesões vesiculares da orofaringe podem ocorrer e assemelham-se às induzidas em seres humanos pelo HSV. Lesões genitais também ocorrem. Muitos macacos *rhesus* apresentam infecções latentes pelo vírus B, que podem ser reativadas por condições de estresse.

O vírus é transmissível a outros macacos, coelhos, cobaias, ratos e camundongos. Os coelhos rotineiramente desenvolvem infecções fatais após a inoculação do vírus B.

Nos seres humanos, as infecções pelo vírus B geralmente resultam da mordida de macacos, embora a infecção pela via respiratória ou por exposição a salpicos oculares seja possível. A característica notável das infecções pelo vírus B nos seres humanos reside na sua acentuada tendência a provocar doença neurológica. Muitos dos sobreviventes apresentam grave comprometimento neurológico.

Epidemiologia e manifestações clínicas

O vírus B é transmitido por contato direto com o vírus ou com material contendo o vírus. A transmissão ocorre entre macacos do gênero *Macaca* e entre macacos e seres humanos, e raramente entre seres humanos. O vírus pode estar presente na saliva, nos líquidos conjuntival e vesicular, em áreas genitais e nas fezes de macacos. Pode ocorrer transmissão respiratória. Outras fontes de infecção consistem em contato direto com gaiolas de animais e com culturas de células de macaco infectadas.

A infecção no hospedeiro natural raramente está associada a doença óbvia. As infecções por vírus B são muito comuns em colônias de macacos *rhesus*. Nos animais adultos, a soroprevalência atinge 70% ou mais. Como as infecções latentes podem ser reativadas, os animais soropositivos são reservatórios para a transmissão da infecção pelo vírus B. A frequência da excreção dos vírus B por macacos provavelmente não ultrapassa 3%.

Correm risco de contrair infecção pelo vírus B pessoas que tratam de animais e, em particular, de macacos do gênero *Macaca*, inclusive médicos pesquisadores, veterinários, donos de animais de estimação e tratadores de zoológicos. Os indivíduos que têm contato íntimo com pessoas que trabalham com macacos também correm certo risco.

Tratamento e controle

Não existe tratamento específico quando a doença clínica se manifesta. Entretanto, recomenda-se o tratamento imediato com aciclovir após a exposição. A gamaglobulina não se mostrou eficaz no tratamento das infecções humanas pelo vírus B. Não há vacina.

O risco de infecção pelo vírus B pode ser reduzido por meio de procedimentos apropriados no laboratório e na manipulação de macacos do gênero *Macaca*. O risco torna esses macacos inapropriados como animais de estimação.

RESUMO DO CAPÍTULO

- Os herpes-vírus compreendem vírus grandes e de DNA de dupla fita. Cerca de 100 diferentes agentes virais são conhecidos e infectam diferentes espécies.
- Membros da família herpes-vírus variam enormemente em suas propriedades biológicas.
- Todos os herpes-vírus apresentam uma fase de latência em sua patogênese.
- Vários herpes-vírus são importantes patógenos humanos, causando uma variedade de patologias.
- Infecções primárias e infecções recidivantes causadas pelos herpes-vírus variam marcadamente.
- Os herpes-vírus causam doenças graves em indivíduos imunossuprimidos.
- Os herpes-simples tipo 1 e tipo 2 compartilham algumas sequências homólogas em seu genoma, apresentam uma ampla variedade de hospedeiros, crescem rapidamente e estabelecem infecções latentes em células nervosas.
- O herpes-simples tipo 1 está geralmente associado a lesões na orofaringe e o tipo 2 causa infecções genitais.
- Vários fármacos antivirais são efetivos contra o vírus herpes-simples.
- O vírus herpes-simples tipo 1 é a principal causa de encefalites esporádicas e fatais.
- O vírus varicela-zóster causa a varicela (catapora), como infecção primária em crianças, e o zóster (cobreiro) em adultos após reativação.
- Vacinas atenuadas estão disponíveis. Uma versão mais eficiente está disponível na prevenção do zóster em idosos.
- O CMV é uma importante causa de comprometimento mental e de déficit de desenvolvimento após infecções congênitas.
- Infecções assintomáticas causadas por CMV são comuns na infância.
- Transplantados apresentam grande risco na reativação de doenças causadas pelo CMV, especialmente a pneumonia.
- O vírus varicela-zóster e o CMV apresentam crescimento lento em cultura de células.
- O vírus Epstein-Barr provoca infecções latentes em linfócitos B.
- O vírus Epstein-Barr causa a mononucleose infecciosa e está associado com diferentes tipos de neoplasias humanas, incluindo o linfoma de Burkitt e o carcinoma nasofaríngeo.
- O vírus associado ao sarcoma de Kaposi não é onipresente como outros herpes-vírus.
- O vírus associado ao sarcoma de Kaposi causa o sarcoma de Kaposi, um tumor vascular.

QUESTÕES DE REVISÃO

1. Um menino saudável, de 3 anos de idade, desenvolve uma clássica doença viral da infância. Qual das seguintes infecções virais infantis geralmente é assintomática?
 - (A) Citomegalovírus (CMV)
 - (B) Vírus Epstein-Barr (EBV)
 - (C) Vírus da hepatite B
 - (D) Vírus varicela-zóster
 - (E) Parvovírus B19
2. Qual das seguintes alternativas indica uma terapia recomendada para infecções genitais por herpes-vírus simples?
 - (A) Aciclovir
 - (B) Vacina de vírus atenuado
 - (C) Imunoglobulina contra o herpes
 - (D) Interferon- α
 - (E) Ribavirina
3. A maioria das infecções por herpes-vírus (HSV) é endêmica em todo o mundo. Qual dos seguintes vírus apresenta marcadas diferenças geográficas na soroprevalência?
 - (A) Citomegalovírus (CMV)
 - (B) EBV
 - (C) HSV-2
 - (D) Herpes-vírus do sarcoma de Kaposi (KHSV)
 - (E) Vírus varicela-zóster
4. Uma estudante de 19 anos de idade teve febre, dor de garganta e linfadenopatia acompanhada de linfocitose com células atípicas e aumento nas aglutininas de células de carneiro. O diagnóstico mais provável é:
 - (A) Hepatite infecciosa
 - (B) Mononucleose infecciosa
 - (C) Catapora
 - (D) Infecção por herpes-simples
 - (E) Meningite viral
5. Um esfregaço de Tzanck, obtido de raspado de vesícula da pele, apresenta células gigantes multinucleares. Este tipo de célula está associado a qual dos seguintes vírus?
 - (A) Varicela-zóster
 - (B) Variola
 - (C) Vírus Coxsackie
 - (D) Vírus do molusco contagioso
6. Qual das seguintes afirmativas sobre os herpes-vírus β está incorreta?
 - (A) Estabelecem infecções latentes e persistem indefinidamente no hospedeiro
 - (B) São reativados em pacientes imunocomprometidos
 - (C) A maior parte das infecções é subclínica
 - (D) Podem infectar células linfoides
 - (E) Apresentam ciclos de crescimento em cultura de células curtos e citolíticos
7. Uma mulher de 28 anos de idade teve herpes genital recorrente. Qual das seguintes afirmativas sobre as infecções por herpes genital é verdadeira?
 - (A) A reativação do vírus latente durante a gravidez não implica tratamento do recém-nascido
 - (B) O vírus não pode ser transmitido na ausência de lesões aparentes
 - (C) Os episódios recorrentes devidos à reativação do vírus latente tendem a ser mais graves do que a infecção primária
 - (D) Podem ser causadas por HSV-1 ou por HSV-2
 - (E) O HSV latente pode ser encontrado nas células dendríticas

8. Qual dos seguintes vírus causa sintomas semelhantes aos da síndrome de mononucleose e é excretado na urina?
- (A) Citomegalovírus (CMV)
 (B) EBV
 (C) Herpes-vírus humano 6
 (D) Vírus varicela-zóster
 (E) HSV-2
9. Uma mulher de 53 anos de idade desenvolve febre e sinais neurológicos focais. As imagens por ressonância magnética mostram uma lesão no lobo temporal esquerdo. Qual dos seguintes testes pode ser o mais apropriado para se confirmar um diagnóstico de encefalite por herpes-simples nessa paciente?
- (A) Biópsia de cérebro
 (B) Esfregaço de Tzanck
 (C) Teste de reação em cadeia da polimerase (PCR) para o DNA viral a partir do líquido cefalorraquidiano
 (D) Teste sorológico para os anticorpos IgM virais
10. Qual dos seguintes tumores é causado por um vírus diferente do EBV?
- (A) Linfomas pós-transplante
 (B) Doença de Hodgkin
 (C) Sarcoma de Kaposi
 (D) Linfomas não Hodgkin do sistema nervoso central relacionados com a Aids
 (E) Linfoma de Burkitt
11. Um surto de uma erupção cutânea conhecida como herpes do gladiador ocorreu entre estudantes de ensino médio que haviam participado de um torneio de luta livre. Qual das seguintes afirmativas é a mais precisa?
- (A) A erupção cutânea não é contagiosa entre os lutadores
 (B) O agente causador é o HSV-1
 (C) O agente causador é o vírus varicela-zóster
 (D) As lesões geralmente duram 1 mês ou mais
 (E) Os estudantes devem ser vacinados antes de participar de torneios de luta livre
12. A vacina contra o zóster (cobreiro) é recomendada para qual dos seguintes grupos?
- (A) Adolescentes saudáveis
 (B) Indivíduos com mais de 60 anos
 (C) Mulheres grávidas
 (D) Pessoas que nunca tiveram varicela
13. A infecção congênita mais comum é causada por
- (A) Vírus varicela-zóster
 (B) HSV-2
 (C) Herpes-vírus humano 8
 (D) Citomegalovírus
 (E) Parvovírus
14. Qual dos seguintes grupos tem risco aumentado para herpes-zóster?
- (A) Pessoas de idade avançada
 (B) Pacientes com dermatite atópica
 (C) Mulheres grávidas
 (D) Pessoas que foram vacinadas com a vacina contra varicela
 (E) Crianças com infecções congênitas
15. Qual das seguintes afirmações *melhor explica* a ação seletiva do aciclovir (acicloguanosina) a células infectadas pelo vírus herpes-simples?
- (A) O aciclovir se liga especificamente ao receptor viral somente na superfície de uma célula infectada pelo HSV
 (B) O aciclovir é fosforilado por uma fosfoquinase codificada pelo vírus somente em células infectadas pelo HSV
 (C) O aciclovir seletivamente inibe a RNA polimerase do vírus HSV
 (D) O aciclovir especificamente bloqueia a proteína matriz do HSV, assim prevenindo a liberação de novos virions
16. Todas as afirmações em relação à latência do herpes-vírus estão corretas, *exceto*:
- (A) O estímulo exógeno estimula a reativação da infecção latente com o aparecimento de sintomatologia clínica
 (B) Durante a latência, anticorpos antivirais não são detectados no soro dos indivíduos infectados
 (C) A reativação da latência do herpes-vírus é mais comum em pacientes com deficiência de imunidade de base celular, do que em indivíduos imunocompetentes
 (D) Os vírus podem ser isolados a partir de cocultivo de células infectadas de indivíduos em latência com células não infectadas
17. Em qual das seguintes situações vacinas têm demonstrado ser eficientes na prevenção de infecções causadas por herpes-vírus?
- (A) Na infecção primária pelo HSV-1
 (B) Na reativação do HSV-2
 (C) Na reativação do vírus varicela-zóster
 (D) Na infecção primária pelo CMV
 (E) Na reativação do EBV
18. O HSV e o CMV compartilham muitas características em comum, *exceto*
- (A) São importantes causas de morbidade e mortalidade em neonatos
 (B) Causam anomalias congênitas pela passagem transplacentária
 (C) Causam sérias infecções em indivíduos imunossuprimidos
 (D) Causam infecções brandas ou assintomáticas
19. O Vírus HSV-1 é diferente do vírus HSV-2 em vários aspectos, com *exceção*
- (A) O HSV-1 causa infecções supraumbilicais mais comumente que o HSV-2
 (B) A infecção pelo HSV-1 não está associada à formação de tumores em seres humanos
 (C) Anticorpos anti-HSV-1 neutralizam o HSV-1 de forma mais eficiente do que o HSV-2
 (D) Enquanto o HSV-1 causa reativação, o HSV-2 raramente induz esse comportamento
20. As seguintes afirmações sobre o EBV estão corretas, com *exceção*
- (A) Muitas infecções são brandas e assintomáticas
 (B) A infecção primária ocorre nos primeiros anos de vida do indivíduo e se manifesta tipicamente pela mononucleose infecciosa
 (C) Linfócitos B infectados permanecem viáveis no período de latência após infecção primária
 (D) A infecção confere imunidade contra um segundo episódio de mononucleose infecciosa

Respostas

- | | | | |
|------|-------|-------|-------|
| 1. D | 6. E | 11. B | 16. B |
| 2. A | 7. D | 12. B | 17. C |
| 3. D | 8. A | 13. D | 18. B |
| 4. B | 9. C | 14. A | 19. D |
| 5. A | 10. C | 15. B | 20. B |

REFERÊNCIAS

- Baines JD: Herpes simplex virus capsid assembly and DNA packaging: a present and future antiviral drug target. *Trends Microbiol* 2011;19:606.
- Espy MJ, Uhl JR, Sloan LM et al.: Real-time PCR in clinical microbiology: Applications for routine laboratory testing. *Clin Microbiol Rev* 2006;19:165.
- Gulley ML, Tang W: Laboratory assays for Epstein-Barr virus-related disease. *J Mol Diagnost* 2008;10:279.
- Hassan J, Connell J: Translational mini-review series on infectious disease: Congenital cytomegalovirus infection: 50 years on. *Clin Exp Immunol* 2007;149:205.
- Huff JL, Barry PA: B-virus (Cercopithecine herpesvirus 1) infection in humans and macaques: Potential for zoonotic disease. *Emerg Infect Dis* 2003;9:246.
- Jackson SE, Mason GM, Wills MR: Human cytomegalovirus immunity and immune evasion. *Virus Res* 2011;157:151.
- Kimberlin DW, Whitley RJ: Human herpesvirus-6: Neurologic implications of a newly-described viral pathogen. *J Neurovirol* 1998;4:474.
- Knipe DM, Howley PM (editors-in-chief): Herpesviridae. In *Fields Virology*, 5th ed. Lippincott Williams & Wilkins, 2007.
- Oxman MN: Zoster vaccine: Current status and future prospects. *Clin Infect Dis* 2010;51:197.
- Recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP): Prevention of herpes zoster. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2008;57(RR-5):1.
- Recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP): Prevention of varicella. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2007;56(RR-4):1.
- Weinberg A, Cannon M, Pereira L (guest editors): Congenital CMV supplement, 2008 Congenital Cytomegalovirus (CMV) Conference. *J Clin Virol* 2009;46(Suppl 4). [Entire issue.]

Poxvírus

Os poxvírus são os maiores e mais complexos dos vírus associados a infecções humanas. A família abrange um grande grupo de agentes que apresentam semelhanças morfológicas e têm um antígeno nucleoproteico comum. As infecções pela maioria dos poxvírus caracterizam-se por exantema, embora as lesões induzidas por alguns membros da família sejam acen-tuadamente proliferativas. O grupo inclui o vírus da varíola, o agente etiológico da varíola — a doença viral que veio acometendo os seres humanos por toda a História.

Embora a varíola tenha sido declarada erradicada do mundo (em 1980) após intensa campanha coordenada pela Organização Mundial de Saúde (OMS), há uma preocupação de que o vírus possa ser reintroduzido como arma biológica. Existe uma contínua necessidade de estar familiarizado com o vírus da vacínia (utilizado nas vacinações contra a varíola) e suas possíveis complicações em seres humanos. Além disso, é preciso estar atento às outras doenças causadas pelo poxvírus, que podem assemelhar-se à varíola, devendo ser diferenciadas desta por meios laboratoriais. Por fim, o vírus da vacínia está sendo objeto de estudo intensivo como vetor para a introdução de genes imunizantes ativos, como vacinas de vírus vivo para uma variedade de doenças virais que acometem seres humanos e animais domésticos.

PROPRIEDADES DOS POXVÍRUS

No Quadro 34.1, é fornecida uma lista das propriedades importantes dos poxvírus.

Estrutura e composição

Os poxvírus são grandes o suficiente para serem visualizados como partículas sem traços característicos à microscopia óptica. À microscopia eletrônica, aparecem como partículas em forma de tijolo ou elipsoides, que medem cerca de 300 a 400 × 230 nm. Sua estrutura é complexa e não tem simetria icosaédrica ou helicoidal. A superfície externa das partículas contém cristas. Existe uma membrana lipoproteica externa ou envelope que envolve um núcleo e duas estruturas de função desconhecida, denominadas corpúsculos laterais (Fig. 34.1).

O núcleo contém o grande genoma viral de DNA de fita dupla linear (130 a 375 kbp). A sequência completa do genoma é conhecida em vários poxvírus, inclusive os da vacínia e da varíola. O genoma do vírus da vacínia contém cerca de 185 quadros de leitura abertos. O DNA contém repetições terminais invertidas

QUADRO 34.1 Propriedades importantes dos poxvírus

Virion: estrutura complexa, em forma oval ou de tijolo, 300 a 400 nm de diâmetro; a superfície externa apresenta cristas e contém núcleo e corpúsculos laterais

Composição: DNA (3%), proteína (90%), lipídeos (5%)

Genoma: DNA de fita dupla, linear; tamanho de 130 a 375 kbp; possui alças terminais, baixo conteúdo de G + C (30 a 40%), à exceção de *Parapoxvirus* (63%)

Proteínas: os virions contêm mais de 100 polipeptídeos; muitas enzimas estão presentes no núcleo, inclusive o sistema de transcrição

Envelope: a organização do virion envolve a formação de várias membranas

Replicação: fábricas citoplasmáticas

Características marcantes:

São os maiores e mais complexos dos vírus; muito resistentes à inativação.

As proteínas codificadas pelos vírus ajudam a escapar do sistema imunológico do hospedeiro

A varíola foi a primeira doença viral a ser erradicada do mundo

de comprimento variável, e as fitas estão unidas nas extremidades por alças terminais em forma de grampo. As repetições terminais invertidas podem incluir regiões de codificação, de modo que alguns genes são encontrados em ambas as extremidades do genoma. O DNA é rico em bases de adenina e timina.

A composição química do poxvírus assemelha-se à de uma bactéria. O vírus da vacínia é constituído predominantemente de proteínas (90%), lipídeos (5%) e DNA (3%). Mais de 100 polipeptídeos estruturais foram detectados nas partículas virais. Várias das proteínas são glicosiladas ou fosforiladas. Os lipídeos consistem em colesterol e fosfolipídeos.

O virion contém uma multiplicidade de enzimas, inclusive um sistema de transcrição capaz de sintetizar, poliadenilar, formar um *cap* e metilar o RNAm viral.

Classificação

Os poxvírus são divididos em duas subfamílias com base nos hospedeiros vertebrados ou insetos infectados. Os poxvírus de vertebrados são divididos em nove gêneros, e os membros

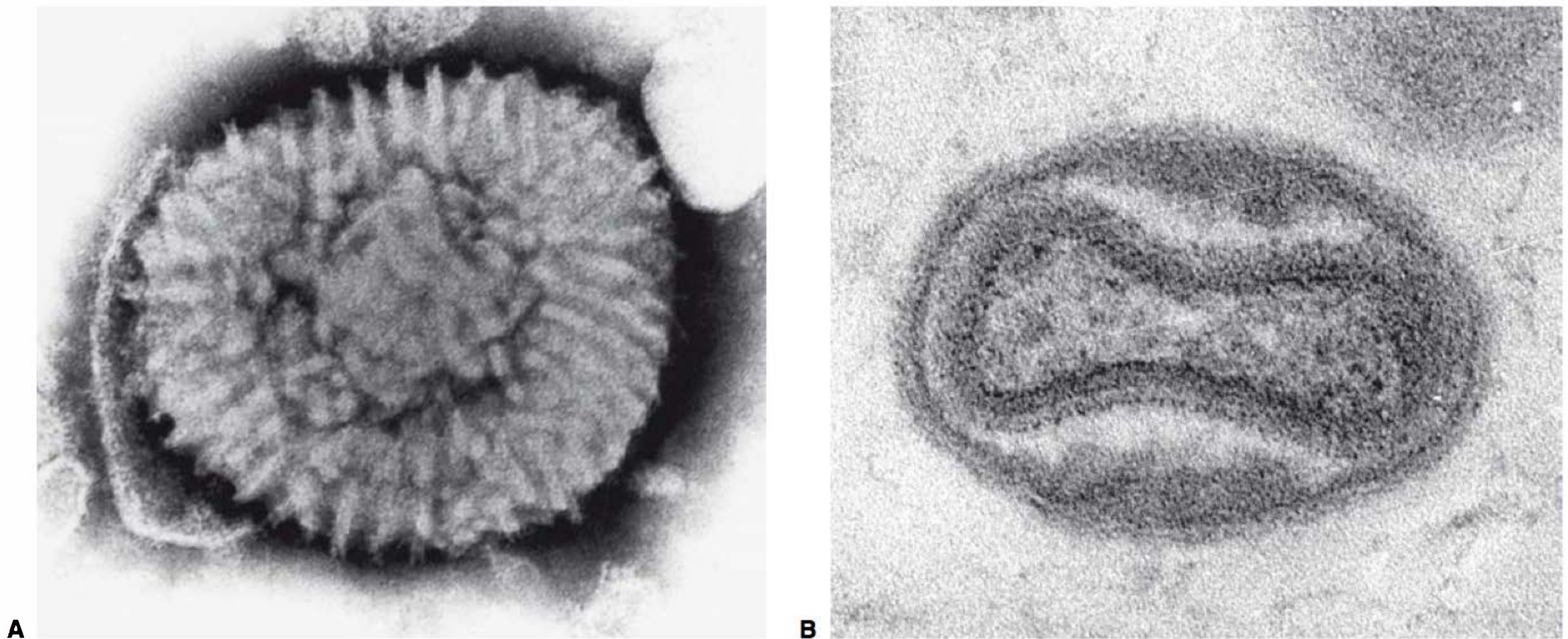


FIGURA 34.1 Micrografias eletrônicas de virions da vacínia (*Orthopoxvirus*). (A) Partícula de coloração negativa que mostra crista ou elementos tubulares que recobrem a superfície (ampliada 228.000 vezes). (Reproduzida, com autorização, de Dales S: The uptake and development of vaccinia virus in strain L cells followed with labeled viral deoxyribonucleic acid. *J Cell Biol* 1963;18:51.) (B) Corte delgado de virion da vacínia que mostra um núcleo bicôncavo central, dois corpúsculos laterais e membrana externa (ampliada 220.000 vezes). (Reproduzida, com autorização, de Pogo BGT, Dales S: Two deoxyribonuclease activities within purified vaccinia virus. *Proc Natl Acad Sci USA* 1969;63:820.)

de cada gênero exibem morfologia e uma variedade de hospedeiros semelhantes, bem como alguma relação antigênica.

Em sua maioria, os poxvírus capazes de provocar doença em seres humanos pertencem aos gêneros *Orthopoxvirus* e *Parapoxvirus*; além disso, existem vários poxvírus classificados nos gêneros *Yatapoxvirus* e *Molluscipoxvirus* (Quadro 34.2).

Os ortopoxvírus apresentam ampla variedade de hospedeiros e afetam diversos vertebrados; incluem os vírus da ectromelia (variolas do camundongo), varíola dos camelos, varíola bovina, varíola dos macacos, vacínia e varíola humana. Os últimos quatro vírus são infecciosos para os seres humanos. O vírus da vacínia difere dos vírus das variolas humana e bovina unicamente em aspectos morfológicos mínimos. Trata-se do protótipo dos poxvírus em termos de estrutura e replicação. O vírus da varíola dos macacos pode infectar tanto macacos e roedores quanto seres humanos e, do ponto de vista clínico, pode assemelhar-se à varíola.

Alguns poxvírus têm uma variedade restrita de hospedeiros e só infectam coelhos (fibroma e mixoma) ou apenas aves. Outros infectam principalmente ovinos e caprinos (variolas ovina e caprina) ou o gado bovino (pseudovariola ou nódulo do ordenhador).

Os parapoxvírus são morfológicamente distintos; quando comparados com os ortopoxvírus, são partículas um pouco menores (260 × 160 nm), e sua superfície exibe um padrão em xadrez (Fig. 34.2). Seus genomas são menores (cerca de 135 kbp) e apresentam maior conteúdo de guanina e citosina (63%) do que os dos ortopoxvírus (cerca de 170 a 250 kbp; G + C, 30 a 40%).

Todos os poxvírus dos vertebrados têm um antígeno nucleoproteico em comum no interior do núcleo. Ocorre reatividade cruzada sorológica entre vírus de determinado gênero, porém a reatividade é muito limitada entre gêneros diferentes. Por conseguinte, a imunização com vírus da vacínia não

QUADRO 34.2 Poxvírus que causam doenças em seres humanos

Gênero	Vírus	Hospedeiro primário	Doença
<i>Orthopoxvirus</i>	Varíola	Seres humanos	Varíola (atualmente erradicada)
	Vacínia	Seres humanos	Lesões localizadas; utilizado para vacinação contra a varíola
	Varíola do búfalo	Búfalo indiano	Infeções humanas são raras; doença localizada
	Varíola dos macacos	Roedores, macacos	Infeções humanas são raras; doença generalizada
	Vírus da varíola bovina	Vacas	Infeções humanas são raras; lesão ulcerativa localizada
<i>Parapoxvirus</i>	Orf	Ovinos	Infeções humanas são raras; doença localizada
	Pseudovariola de vacas	Vacas	
	Estomatite papular bovina	Vacas	
<i>Molluscipoxvirus</i>	Molusco contagioso	Seres humanos	Muitos nódulos cutâneos benignos
<i>Yatapoxvirus</i>	Tanapox	Macacos	Infeções humanas são raras; doença localizada
	Yabapox	Macacos	Infeções humanas são muito raras e acidentais; tumores cutâneos localizados

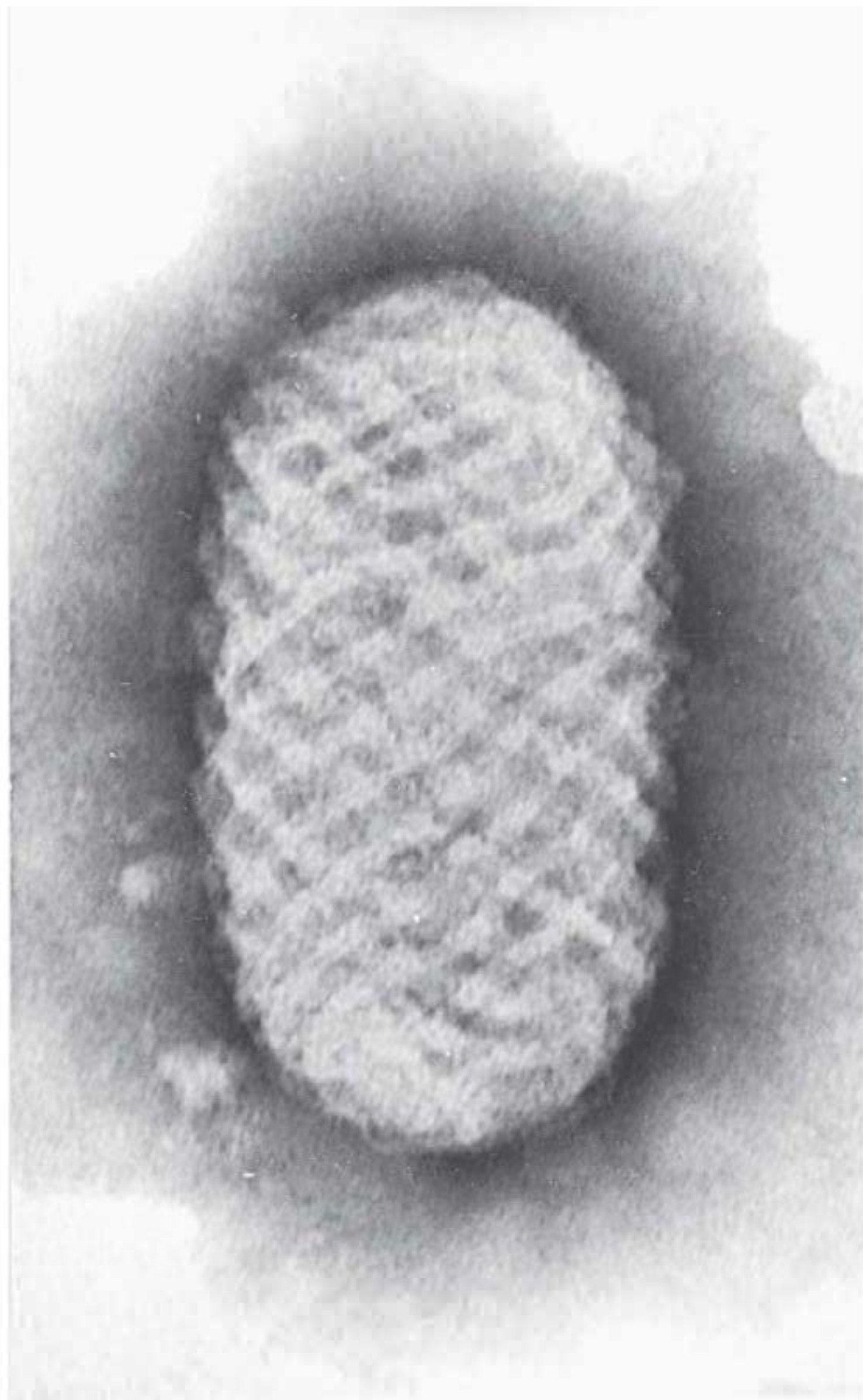


FIGURA 34.2 Micrografia eletrônica do vírus orf (*Parapoxvirus*). Observar o padrão em xadrez distinto da superfície do virion (ampliada 200.000 vezes). (Cortesia de FA Murphy e EL Palmer.)

fornece proteção alguma contra doença causada por parapoxvírus ou poxvírus não classificados.

Replicação dos poxvírus

O ciclo de replicação do vírus da vacínia está resumido na Figura 34.3. Os poxvírus são peculiares entre os vírus de DNA, visto que todo o ciclo de multiplicação ocorre no citoplasma das células infectadas. Entretanto, é possível que fatores nucleares estejam envolvidos na transcrição e organização dos virions. Além disso, os poxvírus são distinguidos dos outros vírus de animais pelo fato de a etapa de desnudamento exigir uma proteína recém-sintetizada, codificada pelo vírus.

A. Fixação, penetração e desnudamento do vírus

As partículas virais estabelecem contato com a superfície celular e, em seguida, fundem-se com a membrana celular. Algumas partículas podem aparecer no interior de vacúolos. Os núcleos virais são liberados no citoplasma. Entre as várias enzimas encontradas no interior da partícula do poxvírus, existe uma RNA polimerase viral que transcreve cerca de metade do genoma viral em RNAm inicial. Esses RNAm são transcritos no interior do núcleo do vírus e, em seguida, liberados no citoplasma. Como as enzimas necessárias estão contidas no núcleo

do vírus, a transcrição precoce não é afetada por inibidores da síntese proteica. A proteína de “desnudamento” que atua sobre o núcleo é um dos mais de 50 polipeptídeos produzidos logo após a infecção. O segundo estágio do desnudamento libera o DNA viral dos núcleos, processo que requer a síntese do RNA e proteínas. A síntese das macromoléculas da célula hospedeira é inibida nesse estágio.

Os poxvírus inativados pelo calor podem ser reativados por poxvírus viáveis ou poxvírus inativados por mostardas nitrogenadas (que inativam o DNA). Tal processo, denominado **reativação não genética**, deve-se à ação da proteína de desnudamento. O vírus inativado pelo calor não consegue produzir o segundo estágio do desnudamento devido à termolabilidade da RNA polimerase. Aparentemente, o vírus destruído pelo calor fornece o modelo, enquanto o segundo vírus proporciona as enzimas necessárias à transcrição. Qualquer poxvírus de vertebrados é capaz de reativar qualquer outro poxvírus de vertebrados.

B. Replicação do DNA viral e síntese das proteínas virais

Entre as proteínas iniciais produzidas após infecção pelo vírus da vacínia destacam-se as enzimas envolvidas na replicação do DNA, tais como uma DNA polimerase e a timidinoquinase. A replicação do DNA viral ocorre no citoplasma e parece ser atingida por enzimas codificadas pelo vírus. A replicação do DNA viral começa logo após a liberação do DNA viral no segundo estágio do desnudamento, 2 a 6 horas após a infecção em áreas distintas do citoplasma, que aparecem como “fábricas” ou corpúsculos de inclusão em micrografias eletrônicas. O número de corpúsculos de inclusão por célula é proporcional à multiplicidade da infecção, sugerindo que cada partícula infecciosa é capaz de induzir a formação de uma “fábrica”. Taxas de recombinação homóloga elevadas ocorrem no interior das células infectadas por poxvírus, o que tem sido explorado experimentalmente para a construção e o mapeamento de mutações.

O padrão de expressão dos genes virais modifica-se acentuadamente com o início da replicação do DNA viral. A síntese de muitas proteínas iniciais é inibida. Existe uma pequena classe intermediária de genes, cuja expressão precede temporalmente a expressão da classe tardia de genes. O RNAm viral tardio é traduzido em grandes quantidades de proteínas estruturais bem como pequenas quantidades de outras proteínas e enzimas virais.

C. Maturação

A montagem da partícula viral a partir dos componentes produzidos é um processo complexo. Algumas das partículas são liberadas da célula por brotamento, porém a maioria das partículas de poxvírus permanece dentro da célula do hospedeiro. Cerca de 10.000 partículas virais são produzidas por célula. O processo pelo qual os vários componentes do sistema de transcrição são incorporados ao interior do núcleo da partícula viral em organização permanece desconhecido.

A morfogênese das partículas de poxvírus é afetada por um antiviral. A rifampicina é capaz de bloquear a formação e organização do envelope do vírus da vacínia.

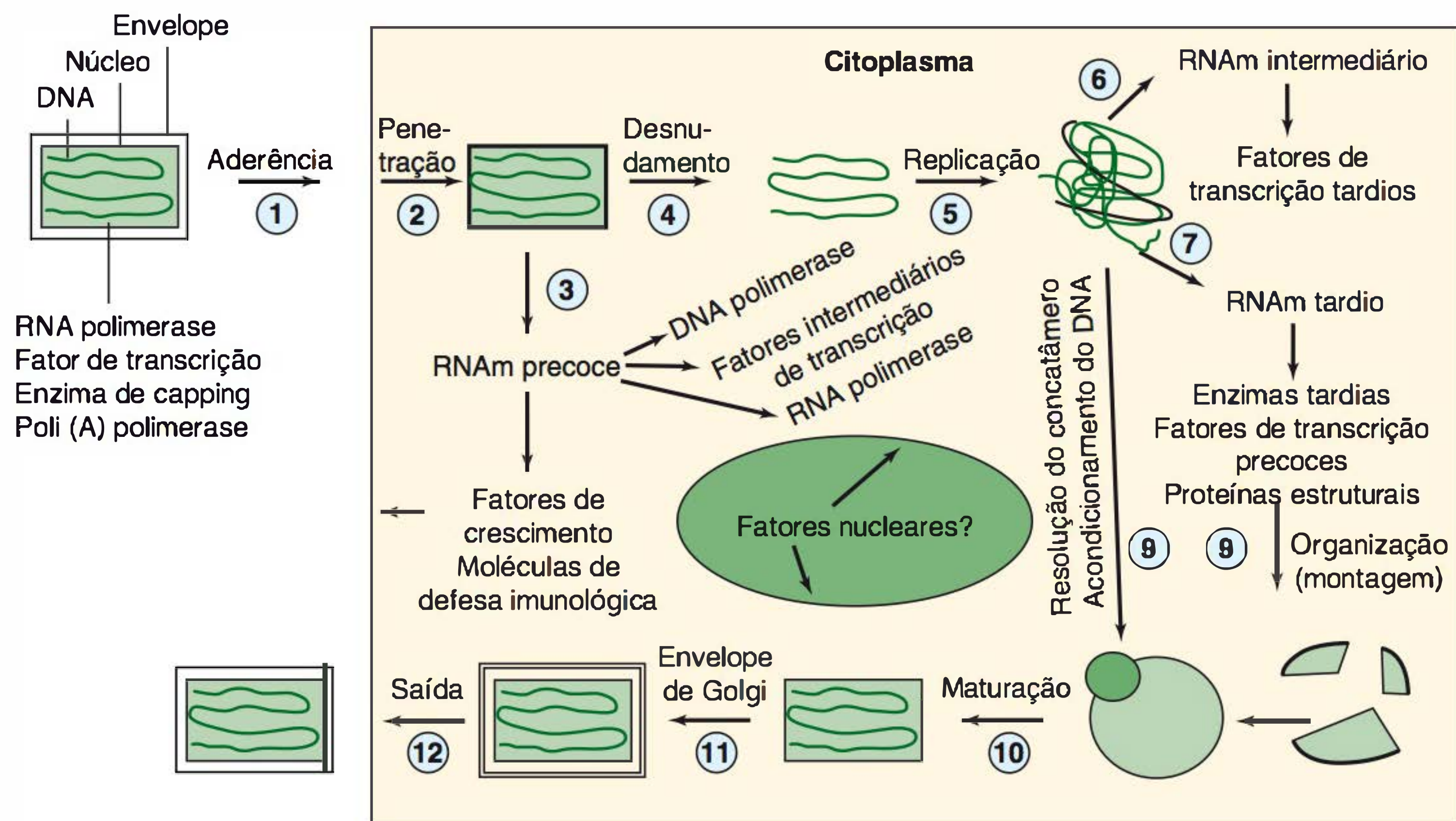


FIGURA 34.3 Resumo do ciclo de replicação do vírus da vacínia. A replicação desse vírus de DNA ocorre no citoplasma celular. (1) A partícula viral se adere à célula hospedeira. (2) Ocorre sua fusão com a membrana celular e a liberação do núcleo viral no citoplasma. (3) Ocorre a síntese de RNAs, usando enzimas e fatores de transcrição virais contidos no interior do núcleo viral. Esses RNAs são traduzidos em proteínas virais importantes na replicação viral. (4) O núcleo é desnudado e (5) o DNA viral é replicado. (6-7) Os genes intermediários e tardios são transcritos (os produtos incluem proteínas estruturais virais). (8-10) Ocorre a montagem dos virions infecciosos. (11) O envelope é adquirido no Golgi e na membrana da célula hospedeira, resultando na (12) liberação dos novos virions envelopados por brotamento. (Reproduzida, com autorização, de Moss B: Poxviridae: The viruses and their replication. In Fields BN, Knipe DM, Howley PM [editors-in-chief]. *Fields Virology*, 3rd ed. Lippincott-Raven, 1996.)

D. Genes modificadores do hospedeiro codificados pelos vírus

Um polipeptídeo codificado por um dos genes iniciais do vírus da vacínia está estreitamente relacionado com o fator de crescimento epidérmico e o fator α transformador de crescimento. A produção de fatores de crescimento semelhantes ao fator de crescimento epidérmico por células infectadas pelo vírus pode contribuir para o desenvolvimento das doenças proliferativas associadas aos membros da família dos poxvírus, como os vírus do fibroma de Shope, do tumor de Yaba e do molusco contagioso.

Vários genes dos poxvírus assemelham-se a genes de mamíferos para as proteínas passíveis de inibir os mecanismos de defesa do hospedeiro. São exemplos o receptor do fator de necrose tumoral, o receptor de Interferon- γ , o receptor de interleucina-1 (IL-1) e uma proteína de ligação do complemento. Esses modificadores da defesa do hospedeiro, codificados pelos poxvírus, presumivelmente neutralizam o complemento e as redes de citocinas importantes na resposta imunológica do hospedeiro à infecção viral, permitindo maior replicação dos vírus e talvez facilitando sua transmissão.

INFECÇÕES POR POXVÍRUS EM SERES HUMANOS: VACÍNIA E VARÍOLA

Controle e erradicação da varíola

O controle da varíola por meio de infecção deliberada com formas leves da doença foi praticado durante séculos. Este

processo, denominado variolização, era perigoso, mas reduzia os efeitos desastrosos das grandes epidemias, diminuindo a taxa de mortalidade de 25 para 1%. Edward Jenner introduziu a vacinação com vírus vivo da vacínia em 1798.

Em 1967, a OMS implantou uma campanha mundial para erradicação da varíola. As características epidemiológicas da doença (descritas adiante) tornaram exequível a tentativa de uma erradicação total. Naquela época, existiam 33 países com varíola endêmica, havendo 10 a 15 milhões de casos por ano. O último caso asiático ocorreu em Bangladesh, em 1975, e a última ocorrência natural foi diagnosticada na Somália em 1977. A varíola foi oficialmente declarada erradicada em 1980. Houve várias razões para esse notável sucesso: há apenas um único sorotipo viral, a maioria das infecções é clinicamente aparente, a vacina é de fácil preparo, estável e segura; pode ser administrada de maneira simples pela equipe de trabalho de campo; e a vacinação em massa da população mundial não foi necessária. Os casos de varíola foram investigados, e as pessoas que haviam tido contato com os pacientes e aquelas que se encontravam em regiões próximas foram vacinadas.

Embora não houvesse evidências de transmissão da varíola em qualquer parte do mundo, a OMS coordenou a investigação de 173 possíveis casos de varíola entre 1979 e 1984. Todos os casos eram doenças diferentes da varíola, mais comumente varicela ou outras doenças que causam exantema. Mesmo assim, um caso suspeito de varíola torna-se uma emergência de saúde pública, devendo ser imediatamente investigado por meio de avaliação clínica, coleta de amostras para exame e diagnóstico laboratorial preliminar.

A presença de estoques de vírus virulentos da varíola em laboratórios gera preocupação devido ao perigo de infecção laboratorial e posterior propagação para a comunidade. Os estoques de vírus da varíola foram supostamente destruídos em todos os laboratórios, exceto em dois centros de colaboração da OMS (um em Atlanta e outro em Moscou), que realizam um trabalho de pesquisa e diagnóstico dos poxvírus relacionados com a varíola. Entretanto, em 1990 soube-se que a extinta União Soviética teria usado o vírus da varíola em seu programa de guerra biológica. Não se sabe quantos países possuem o vírus nos dias atuais. O vírus da varíola é considerado um potencial agente de bioterrorismo. Como foi erradicado no mundo inteiro, a população humana possui imunidade baixa ou inexistente, sendo, assim, altamente suscetível a infecção pelo vírus da varíola.

Os cientistas e pesquisadores podem obter partes do genoma do vírus da varíola a partir de centros de colaboração, mas não o genoma completo. A distribuição, a síntese e o manuseio do DNA do vírus da varíola são regidos por recomendações da OMS.

Comparação do vírus da vacínia com o da varíola

O vírus da vacínia, o agente utilizado para vacinação contra a varíola, é uma espécie distinta de *Orthopoxvirus*. Os mapas do genoma do vírus da vacínia por endonuclease de restrição são nitidamente diferentes daqueles do vírus da varíola bovina, que se acreditava ser seu ancestral. Algum tempo após o uso original do vírus da “varíola bovina” por Jenner, o vírus da vacina tornou-se o “vírus da vacínia”; o momento e as razões dessa mudança permanecem desconhecidos. O vírus da vacínia pode ser o produto de recombinação genética, uma nova espécie derivada do vírus da varíola bovina ou do vírus da varíola humana por meio de passagem seriada, ou o descendente de um gênero de vírus atualmente extinto.

A varíola tem estreita variedade de hospedeiros (apenas seres humanos e macacos), enquanto o vírus da vacínia apresenta amplo espectro de hospedeiros, como coelhos e camundongos. Algumas cepas do vírus da vacínia podem causar uma doença grave em coelhos de laboratório, denominada varíola do coelho. O vírus da vacínia também infecta bovinos e o búfalo indiano, e a doença no búfalo persiste na Índia (varíola do búfalo). Tanto o vírus da vacínia quanto o da varíola crescem na membrana corioalantoide de embriões de galinha de 10 a 12 dias, porém o vírus da varíola produz pústulas muito menores. Ambos crescem em vários tipos de linhagem celular de galinhas e primatas.

As sequências de nucleotídeos da varíola (186 kb) e da vacínia (192 kb) são semelhantes, e a maior diferença é observada nas regiões terminais dos genomas. Entre as 187 supostas proteínas, 150 exibiram acentuada similaridade na sequência dos dois vírus. As 37 proteínas restantes divergiram ou foram específicas da varíola, podendo representar determinantes potenciais de virulência. As sequências não revelam as origens do vírus da varíola nem explicam sua estreita variedade de hospedeiros humanos ou a sua virulência específica.

Patogênese e patologia da varíola

Embora a varíola tenha sido erradicada, a patogênese da doença (descrita aqui com os verbos no passado) é instrutiva para

outras infecções causadas por poxvírus. A Figura 30.3 ilustra a patogênese da varíola do camundongo.

A porta de entrada do vírus da varíola era constituída pelas mucosas do trato respiratório superior. Após a penetração do vírus, acreditava-se que ocorriam os seguintes eventos: (1) multiplicação primária no tecido linfóide, drenando o local de entrada; (2) viremia transitória e infecção das células reticuloendoteliais em todo o corpo; (3) uma fase de multiplicação secundária nessas células; tal fase resultava em (4) viremia secundária mais intensa; e (5) doença clínica.

Na fase pré-eruptiva, a doença era pouco contagiosa. Entre o sexto e o nono dia, as lesões na boca tendiam a ulcerar, eliminando o vírus. Por conseguinte, no estágio inicial da doença, o vírus infeccioso originava-se nas lesões da boca e das vias respiratórias superiores. Em seguida, as pústulas sofriam ruptura e descarregavam os vírus no ambiente do paciente acometido.

O exame histopatológico da pele revelava proliferação de células da camada basal, as quais continham muitas inclusões citoplasmáticas. Ocorria infiltração com células mononucleares, particularmente ao redor dos vasos no cório. As células epiteliais da camada de Malpighi ficavam intumescidas em consequência da distensão do citoplasma e sofriam “degeneração em balão”. Os vacúolos no citoplasma aumentavam de tamanho. A membrana celular sofria ruptura e fundia-se com as células vizinhas afetadas de modo semelhante, resultando na formação de vesículas. As vesículas aumentavam de tamanho e ficavam repletas de leucócitos bem como restos teciduais. Todas as camadas da pele eram afetadas, e verificava-se uma verdadeira necrose do cório. Assim, havia a formação de cicatriz após a infecção da varíola. Um quadro histopatológico semelhante é observado na vacínia, embora o vírus normalmente cause lesões pustulares localizadas apenas no local de inoculação.

Manifestações clínicas

O período de incubação da varíola era de 10 a 14 dias. O início da doença costumava ser súbito. O aparecimento do exantema era precedido de 1 a 5 dias de febre e mal-estar, que se iniciava com máculas, pápulas seguidas de vesículas e finalmente pústulas, as quais formavam crostas que se desprendiam após 2 semanas, deixando cicatrizes róseas que desapareciam lentamente. Em cada área acometida, as lesões geralmente encontravam-se no mesmo estágio de desenvolvimento (diferentemente da varicela).

O “Cartão de Identificação da Varíola” preparado pela OMS mostra o exantema típico (Fig. 34.4). As lesões eram mais abundantes no rosto e menos no tronco. Nos casos graves, a erupção era hemorrágica. A taxa de mortalidade variava de 5 a 40%. Na varíola leve, denominada varíola *minor*, ou em pessoas vacinadas, a taxa de mortalidade era inferior a 1%.

Imunidade

Todos os vírus do gênero *Orthopoxvirus* mostram-se tão estreitamente relacionados do ponto de vista antigênico, que não é possível diferenciá-los com facilidade em testes sorológicos. A infecção por um vírus induz a resposta imunológica contra todos os outros membros do grupo.

Um surto de varíola conferia proteção completa contra a reinfeção. A vacinação com o vírus da vacínia induzia

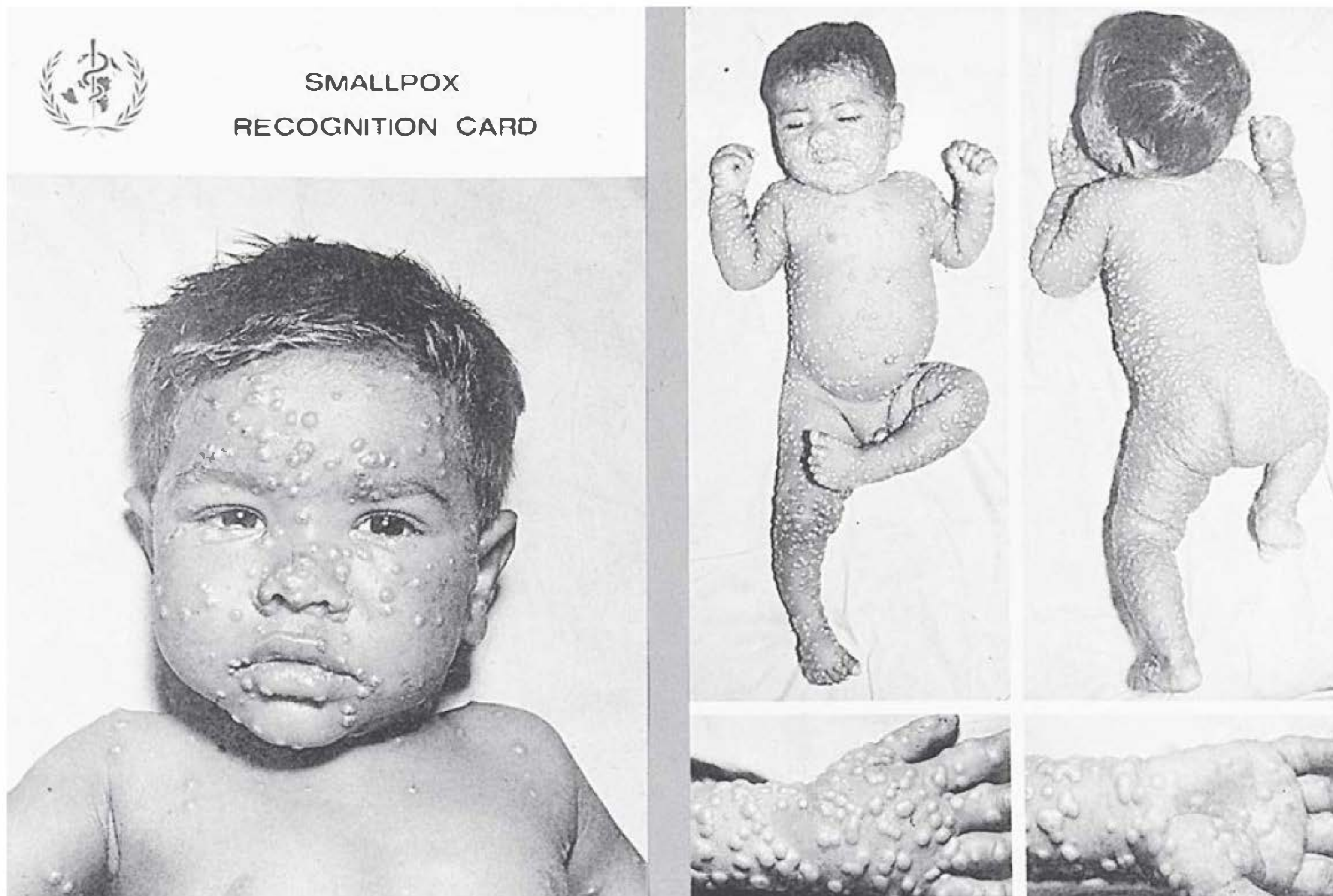


FIGURA 34.4 Erupção da varíola. "Cartão de Identificação de Variola", da OMS, ilustra a distribuição e a natureza da erupção típica da varíola em criança não vacinada. (Cortesia de F Fenner e da Organização Mundial de Saúde.)

imunidade contra o vírus da varíola durante pelo menos 5 anos e, algumas vezes, por mais tempo. Os anticorpos isoladamente não são suficientes para a recuperação da infecção primária por poxvírus. No hospedeiro humano, anticorpos neutralizantes aparecem poucos dias após o início da varíola, mas não previnem a evolução das lesões, podendo ocasionar óbito nos pacientes em estágio pustular com títulos elevados de anticorpos. A imunidade mediada por células é provavelmente mais importante que os anticorpos circulantes. Em geral, os pacientes com hipogamaglobulinemia reagem normalmente à vacinação e desenvolvem imunidade apesar da aparente ausência de anticorpos. Os pacientes com defeitos nas respostas imunológicas celular e humoral desenvolvem uma doença progressiva e geralmente fatal após a vacinação.

A produção de interferon (ver Cap. 30) é outro possível mecanismo imunológico. Animais irradiados sem anticorpos detectáveis ou hipersensibilidade tardia recuperaram-se da infecção por vacínia tão rapidamente quanto os animais de controle não tratados.

Diagnóstico laboratorial

Vários testes estão disponíveis para confirmação do diagnóstico de varíola. Como hoje a doença encontra-se presumivelmente erradicada, é importante diagnosticar qualquer caso que se assemelhe à varíola. Os testes dependem da identificação do DNA viral ou antígeno a partir da lesão, do exame microscópico direto de material obtido das lesões cutâneas, do isolamento do vírus do paciente e, menos importante, da demonstração de anticorpos no sangue.

A. Isolamento e identificação do vírus

As lesões cutâneas são as melhores amostras para isolamento do vírus. Os poxvírus são estáveis, permanecendo viáveis em amostras durante várias semanas, mesmo sem qualquer refrigeração.

O exame direto do material clínico ao microscópio eletrônico é utilizado para a identificação rápida de partículas virais (em cerca de 1 h), podendo diferenciar rapidamente entre uma infecção por poxvírus e uma por varicela (esta última é causada por um herpes-vírus). Os ortopoxvírus não podem ser distinguidos uns dos outros à microscopia eletrônica em virtude de sua semelhança quanto ao tamanho e à morfologia. Entretanto, podem ser facilmente diferenciados dos tanapoxvírus e dos parapoxvírus.

Os testes de reação em cadeia da polimerase (PCR) que são específicos para vários poxvírus estão disponíveis e podem ser utilizados para fins de detecção e identificação.

O antígeno viral pode ser detectado por imuno-histoquímica em tecidos e material coletados de lesões da pele. Muitos antígenos apresentam reação cruzada e identificam ortopoxvírus como um grupo. O uso de PCR ou clivagem do DNA viral com enzimas de restrição, ou a análise de polipeptídeos em células infectadas, podem demonstrar características distintas para varíola, vacínia, varíola de macacos e varíola bovina. Doenças semelhantes à varíola devem ser identificadas para se certificar de que a varíola foi realmente erradicada e não está ressurgindo.

Culturas de células também podem ser usadas para isolamento do vírus. As células de seres humanos e de primatas

não humanos não são suscetíveis. Os ortopoxvírus crescem adequadamente em culturas de células; os parapoxvírus e os tanapoxvírus não crescem tão bem; e o vírus do molusco contagioso não pode ser cultivado.

O isolamento do vírus é efetuado por inoculação de líquido vesicular na membrana corioalantoide de embriões de galinha. Trata-se do exame laboratorial que mais facilmente distingue entre os casos de varíola e os de vacínia generalizada, visto que as lesões provocadas por esses vírus na membrana corioalantoide diferem acentuadamente. Em 2 a 3 dias, as pústulas da vacínia tornam-se grandes, com centros necróticos, enquanto as da varíola são bem menores. Os vírus da varíola bovina e da varíola dos macacos causam lesões hemorrágicas distintas. Os parapoxvírus, o vírus do molusco contagioso e o tanapoxvírus não crescem na membrana corioalantoide.

B. Sorologia

Ensaio com anticorpos podem ser utilizados para confirmar o diagnóstico da infecção pelo poxvírus. Os anticorpos aparecem depois da primeira semana de infecção, podendo ser detectados por testes de inibição da hemaglutinação, de neutralização, testes imunoenzimáticos (Elisa) e radioimunoensaio ou por imunofluorescência. Nenhum desses testes distingue os ortopoxvírus uns dos outros.

Tratamento

A imunoglobulina contra a vacínia é preparada a partir de sangue de pessoas vacinadas com o vírus da vacínia, sendo recomendada para o tratamento de todas as complicações, exceto a encefalite pós-vacinal. A partir de 2003, os estoques da imunoglobulina contra a vacínia ficaram muito reduzidos, sendo disponíveis somente nos Centers for Disease Control and Prevention (CDC) dos EUA.

A metisazona é um quimioterápico com algum valor contra os poxvírus, sendo eficaz na profilaxia, porém inútil no tratamento da doença estabelecida. O cidofovir, um análogo de nucleotídeo, mostra atividade contra os poxvírus *in vitro* e *in vivo*.

Estudos realizados em macacos revelaram que o tratamento antiviral é mais eficaz que a vacinação pós-exposição na redução da mortalidade por infecções virais letais.

Epidemiologia

A transmissão da varíola ocorria por contatos entre os casos. A varíola era altamente contagiosa. O vírus mostrava-se estável no ambiente extracelular, mas comumente era transmitido por aerossóis respiratórios. O vírus ressecado em crostas de lesões cutâneas podia sobreviver em roupas ou outros materiais, resultando em infecções.

Os pacientes ficavam altamente contagiosos durante a primeira semana de erupções, assim que a febre tivesse começado. Os perdigotos eram infecciosos antes das lesões cutâneas.

As seguintes características epidemiológicas tornaram o vírus da varíola passível de erradicação total: não existia reservatório não humano conhecido; havia apenas um sorotipo estável; dispunha-se de uma vacina eficaz; não ocorriam casos

infecciosos subclínicos; e não havia portadores assintomáticos crônicos do vírus. Como o vírus presente no ambiente do paciente originava-se das lesões da boca e garganta (bem como, mais tarde, da pele), os pacientes com infecção grave o suficiente para transmitir a doença, provavelmente ficavam muito doentes, despertando rapidamente a atenção das autoridades médicas. O contato próximo necessário para a efetiva propagação da doença em geral permitia uma rápida identificação das pessoas que tinham contato com o paciente, possibilitando a instituição de medidas específicas de controle para interromper o ciclo de transmissão.

A OMS foi bem-sucedida na erradicação da varíola por meio de um programa de vigilância e contenção. A origem de cada surto era determinada, e todos os contatos suscetíveis, identificados e vacinados.

Vacinação com o vírus da vacínia

O vírus da vacínia para vacinação é preparado a partir de lesões vesiculares (“linfa”) na pele de bezerras ou carneiros, ou pode ser cultivado em embriões de galinha. A vacina final contém 40% de glicerol para estabilizar o vírus e 0,4% de fenol para destruir as bactérias. Os critérios da OMS exigem que as vacinas antivariólicas tenham uma potência não inferior a 10^8 unidades formadoras de pústulas por mililitro. Uma nova vacina atenuada, produzida em cultura de células, foi aprovada para uso, nos EUA em 2007. A vacina com o vírus da vacínia não contém o vírus da varíola.

O sucesso da erradicação da varíola fez com que a vacinação de rotina não fosse mais recomendada. Nos EUA, a vacinação rotineira de crianças contra a varíola foi interrompida em 1971. Por isso, todos os nascidos a partir de 1972 são suscetíveis de desenvolver a infecção.

O vírus da vacínia é utilizado em pesquisa e tem resultado em infecções adquiridas em laboratório. As recomendações correntes são que os laboratoristas que manuseiam culturas ou animais infectados com vacínia ou outros ortopoxvírus que infectam seres humanos devem ser vacinados a cada 10 anos. Recente preocupação sobre um possível ataque terrorista com o emprego do vírus da varíola resultou em recomendação para uso da vacina contra varíola em escala limitada (p. ex., iniciando pelos agentes de saúde).

A seguir, um resumo da vacinação é fornecido, visto que o vírus da vacínia também está sendo considerado vetor para a introdução de genes estranhos para fins de imunização e como terapia viral oncolítica para o câncer. Desde 2000, duas infecções humanas pelo vírus da vacínia foram relatadas, após administração de preparado vacinal, contendo vírus da raiva selvagem. Esses preparados continham o vírus da vacínia recombinante e atenuado, e um gene codificante para uma glicoproteína do vírus da raiva.

A. Momento da vacinação

As complicações da vacinação (ver adiante) ocorrem mais comumente em crianças com menos de 1 ano. Por conseguinte, a vacinação entre 1 e 2 anos de idade é preferível à vacinação durante o primeiro ano de vida. A revacinação era efetuada a intervalos de 3 anos.

B. Reações e interpretações

1. **Acometimento primário** — no indivíduo totalmente suscetível, uma pápula circundada por hiperemia aparece no terceiro ou quarto dias. A pápula aumenta de tamanho até a formação de vesícula (no quinto ou sexto dia). A vesícula atinge seu tamanho máximo por volta do nono dia e, em seguida, torna-se pustular. Em seguida, ocorre dessecação, que se completa em cerca de 2 semanas, levando à formação de cicatriz rosada definida, a qual finalmente se torna esbranquiçada. Em geral, a leitura do resultado da vacina é efetuada no sétimo dia. Uma pessoa é considerada completamente protegida após a observação da resposta vesicular ou da resposta pustular ao redor da lesão central (crosta ou úlcera). Se essa reação não for observada, a vacinação deverá ser repetida.
2. **Revacinação** — na revacinação bem-sucedida, uma lesão vesicular ou pustular, ou uma área de endurecimento palpável, circundando uma lesão central, será verificada em 6 a 8 dias, podendo ser uma crosta ou úlcera. Somente essa reação indica com certeza que houve a multiplicação do vírus. As reações equivocadas podem representar imunidade, mas também podem indicar apenas reações alérgicas a uma vacina que se tornou inativada. Quando ocorre uma reação equivocada, deve-se efetuar a revacinação, utilizando-se um novo lote de vacina.

C. Efeitos adversos da vacinação

A vacinação contra a varíola estava associada a um risco mensurável definido. Nos EUA, o risco de morte devido a todas as complicações era de 1 por milhão na primeira vacinação e 0,6 por milhão na revacinação. Nas crianças com menos de 1 ano de idade, o risco de morte era de 5 por milhão de vacinações primárias. As complicações graves da vacinação ocorriam em associação com imunodeficiência, imunossupressão, neoplasias e gravidez. Estas condições são contraindicações para o uso da vacina contra a vacínia, bem como o eczema, alergia aos componentes da vacina ou morar com alguém que tenha contraindicação à vacinação.

1. **Autoinoculação inadvertida** — ocorre quando uma parte do corpo distante do local de inoculação torna-se infectada através de arranhadura ou por uso de material inanimado, como as roupas. Esta é a complicação mais comum, ocorrendo cerca de 25 vezes por milhão. A vacínia ocular era o problema mais frequente e, algumas vezes, resultava em defeitos visuais residuais. Além dos olhos, os locais mais comuns eram a face, o nariz, a boca, os lábios e a genitália.
2. **Transmissão por contato** — a transmissão por contato do vírus da vacínia ocorre quando o vírus é transferido de uma pessoa vacinada para outra pessoa próxima. O vírus pode disseminar-se até que a crosta cicatrize; sobrevive por diversos dias nas roupas, no leito e em outros objetos. A infecção adquirida através do contato pode resultar nas mesmas reações adversas que as da vacinação.
3. **Eczema vaccinatum** — síndrome localizada ou generalizada que pode ocorrer em qualquer região do corpo.



FIGURA 34.5 *Eczema vaccinatum* em uma criança com eczema. A doença desenvolve-se após exposição a um membro da família recém-vacinado. (Cortesia de AE Kaye; Centers for Disease Control and Prevention Public Health Image Library.)

Pessoas com dermatite atópica (eczema) são as de maior risco, sendo a doença mais grave em crianças menores. O *eczema vaccinatum* pode ocorrer concomitantemente ao desenvolvimento de lesão vacinal local e até 3 semanas após exposição ou contato com uma pessoa vacinada. Esta condição apresenta alta mortalidade, e a imunoglobulina contra a vacínia auxilia no tratamento dos pacientes.

4. **Vacínia generalizada** — manifesta-se pela ocorrência de crostas de lesões vacinais em qualquer lugar do corpo, 4 dias ou mais após a vacinação (23 casos por milhão). Acredita-se que as lesões da pele contenham vírus que se disseminam pela rota hematogênica. A vacínia generalizada normalmente é autolimitada em pacientes imunocompetentes, mas frequentemente é mais grave em pessoas com imunodeficiência.
5. **Vacínia progressiva** — complicação rara e grave que ocorre quando o local de vacinação não cicatriza e a replicação do vírus da vacínia persiste. Verifica-se em pessoas com imunodeficiência humoral e celular de base, sendo com frequência fatal. A incidência da doença nos EUA era de cerca de 1 por milhão. Imunossupressão e imunodeficiência congênita ou adquirida são contraindicações à vacinação, uma vez que um caso foi relatado, em 2009, em um militar que foi diagnosticado com leucemia.
6. **Vacínia fetal** — muito raramente, uma mulher vacinada na fase avançada da gravidez transmitia o vírus da vacínia ao feto, resultando em natimorto. Por conseguinte, a vacinação deve ser evitada durante a gravidez.
7. **Doença pós-vacinal do sistema nervoso central** — esta reação rara e séria é uma inflamação do parênquima do sistema nervoso central após a vacinação contra a varíola, como a encefalite pós-vacinal. A taxa de mortalidade de tal complicação é alta. A incidência nos EUA era de cerca de 3 por milhão entre os vacinados de todas as idades, sendo mais comum em crianças com menos de 1 ano de idade. O início ocorre 12 dias após a vacinação. A causa não é clara.

INFEÇÕES PELO VÍRUS DA VARÍOLA DOS MACACOS

O vírus da varíola dos macacos é uma espécie *Orthopoxvirus*. A doença foi reconhecida pela primeira vez em macacos cativos em 1958. Infecções humanas por esse vírus foram descobertas no início da década de 1970 na África Ocidental e na África Central, após a erradicação da varíola de tais regiões.

A doença é uma zoonose rara, detectada em lugares remotos, em áreas de florestas tropicais, particularmente nos países da bacia do Congo e talvez no oeste da África. A doença é provavelmente adquirida por contato direto com animais selvagens mortos para alimentação ou para obtenção de sua pele. O hospedeiro reservatório primário não é conhecido, mas podem ser esquilos e roedores infectados.

As manifestações clínicas da varíola dos macacos são semelhantes aos das formas habituais e modificadas da varíola. Ocorre erupção em alguns pacientes, constituindo um problema diagnóstico com a varicela. A linfadenopatia pronunciada ocorria na maioria dos pacientes, característica não observada nem na varíola nem na varicela.

As complicações eram comuns e frequentemente graves. Em geral, consistiam em deficiência pulmonar e infecções bacterianas secundárias. Nos pacientes não vacinados, a taxa de mortalidade era de cerca de 10%. A vacinação com o vírus da vacínia protege contra a varíola dos macacos ou diminui a gravidade da doença. Desde a interrupção da vacinação contra o vírus da varíola, o número de casos da infecção, causada pelo vírus da varíola dos macacos, aumentou marcadamente na África tropical.

Em geral, acredita-se que a infecção humana pelo vírus da varíola dos macacos não é facilmente transmitida de uma pessoa para outra. Estimativas anteriores eram de que apenas cerca de 15% dos contatos familiares suscetíveis adquiriam a varíola dos macacos de pacientes. Entretanto, um surto ocorrido no Zaire em 1996 e 1997 sugeriu maior potencial de transmissão interpessoal.

O primeiro surto de varíola dos macacos no hemisfério ocidental ocorreu nos EUA em 2003. Mais de 80 casos em seres humanos (sem mortes) foram diagnosticados, principalmente nos Estados do Meio-Oeste. A fonte identificada era uma loja de animais exóticos que aparentemente havia importado um rato africano que disseminara o vírus entre os cães domésticos, os quais o transmitiram aos seres humanos. Provavelmente, o vírus da varíola dos macacos introduzido era um vírus naturalmente atenuado do oeste da África, menos patogênico para o homem do que os isolados da África Central.

INFEÇÕES PELO VÍRUS DA VARÍOLA BOVINA

O vírus da varíola bovina é outra espécie de *Orthopoxvirus*. Essa doença do gado bovino é mais leve que as doenças causadas por poxvírus em outros animais, sendo as lesões limitadas às tetas e úberes (Fig. 34.6A). A infecção de seres humanos ocorre por contato direto durante a ordenha, e as lesões observadas nos ordenhadores em geral se limitam às mãos (Fig. 34.6D). A doença é mais grave em pessoas não vacinadas do que nas vacinadas com o vírus da vacínia.

O vírus da varíola bovina assemelha-se ao da vacínia do ponto de vista imunológico e quanto à variedade de hospedeiros.

Além disso, exibe estreita relação imunológica com o vírus da varíola. Jenner observou que os indivíduos que contraíram a varíola bovina eram imunes à varíola humana. O vírus da varíola bovina pode ser distinguido do vírus da vacínia pelas lesões hemorrágicas de coloração vermelho-intensa que produz na membrana corioalantoide do embrião de galinha.

O reservatório natural do vírus da varíola bovina parece ser um roedor, e tanto o gado bovino quanto os seres humanos são apenas hospedeiros acidentais. Os gatos domésticos também são suscetíveis ao vírus da varíola bovina. Mais de 50 casos foram relatados em felinos no Reino Unido, mas acredita-se que a transmissão do gato para o ser humano seja incomum. O vírus da varíola bovina não é mais enzoótico em bovinos, embora ocasionalmente ocorram casos em bovinos e casos associados em seres humanos. A varíola em felinos é esporádica, e a transmissão ocorre provavelmente através de um pequeno roedor selvagem. Podem ocorrer casos humanos (com lesões cutâneas hemorrágicas, febre e mal-estar geral) sem qualquer contato animal conhecido, os quais podem não ser diagnosticados. Não existe tratamento.

INFEÇÕES PELO VÍRUS DA VARÍOLA DO BÚFALO

O vírus da varíola do búfalo é um derivado do vírus da vacínia que persistiu na Índia em búfalos, desde a interrupção da vacinação antivariólica. A doença no búfalo — e, em certas ocasiões, no gado bovino — é indistinguível da varíola bovina. A varíola do búfalo pode ser transmitida a seres humanos, e verifica-se o aparecimento de lesões localizadas. Existe certa preocupação quanto à possível ocorrência de transmissão entre seres humanos.

INFEÇÕES PELO VÍRUS ORF

O vírus orf é uma espécie de *Parapoxvirus*. Provoca doença em bovinos e caprinos, com prevalência mundial (Fig. 34.6C). A doença também é denominada dermatite pustular contagiosa ou úlcera bucal.

Tal vírus é transmitido a seres humanos por contato direto com animais infectados. Trata-se de uma doença ocupacional de pessoas que lidam com cabras e carneiros. Relatos recentes nos EUA enfatizaram a associação temporal entre lesões humanas e vacinação recente de rebanhos com o vírus vivo. A infecção pelo vírus orf é facilitada por traumatismos de pele. Em geral, a infecção em seres humanos ocorre em forma de lesão isolada em um dedo, na mão ou no antebraço (Fig. 34.6F), podendo aparecer também no rosto ou no pescoço. As lesões consistem em nódulos grandes e bastante dolorosos, circundados por pele inflamada. A infecção raramente é generalizada. A cicatrização leva algumas semanas.

A microscopia eletrônica pode confirmar infecções por parapoxvírus, mas somente a PCR pode identificar definitivamente um parapoxvírus como um vírus orf.

MOLUSCO CONTAGIOSO

O molusco contagioso é um tumor epidérmico benigno que só ocorre em seres humanos (embora haja evidências da existência de um vírus estreitamente relacionado em cavalos).

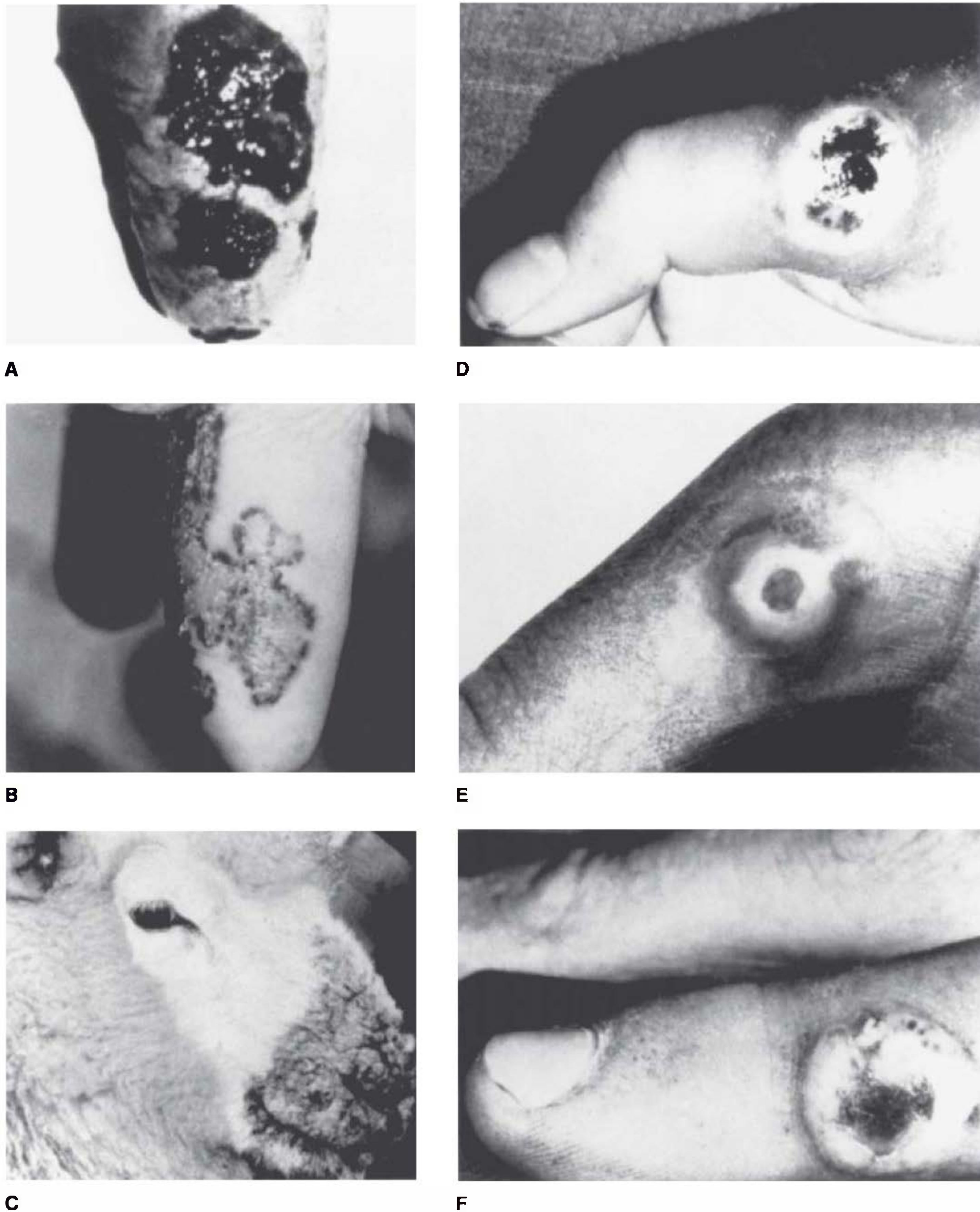


FIGURA 34.6 Vírus da varíola bovina, pseudovaríola e orf em animais e seres humanos. (A) Úlcera de varíola bovina em teta de vaca 7 dias após o aparecimento dos sinais. (B) Pseudovacínia (vírus do nódulo do ordenhador) em teta de vaca. (C) Crostas na boca de cordeiro, causadas pelo vírus orf. (D, E, F) Lesões nas mãos causadas por esse vírus. (D) Vírus da varíola bovina. (E) Nódulo do ordenhador (pseudovaríola). (F) Orf. (A e B, cortesia de EPJ Gibbs; C, cortesia de A Robinson; D, cortesia de AD McNae; E e F, cortesia de J Nagington.

O agente etiológico é classificado como único membro do gênero *Molluscipoxvirus*.

O vírus ainda não foi transmitido a animais nem cresce em culturas de tecido. Foi estudado em lesões humanas por microscopia eletrônica. O vírus purificado é oval ou em forma de tijolo e mede cerca de 230×330 nm; assemelha-se ao vírus da vacínia. Os anticorpos produzidos contra esse vírus não exibem reação cruzada com quaisquer outros poxvírus.

O DNA viral assemelha-se ao do vírus da vacínia em virtude da ligação cruzada terminal e repetições terminais invertidas.

Tem conteúdo global de G + C de cerca de 60%. A sequência de todo o genoma do vírus do molusco contagioso (cerca de 190 kbp) é conhecida. Contém pelo menos 163 genes, dos quais cerca de 66% assemelham-se aos genes dos vírus da varíola e da varíola bovina. O grande número de genes distintos deve contribuir para as diferentes doenças humanas causadas pelo vírus do molusco contagioso e pelo vírus da varíola.

As lesões dessa doença consistem em pequenos tumores rosados, semelhantes a verrugas, que aparecem no rosto, nos braços, nas costas e nas nádegas (Fig. 34.7), sendo raramente

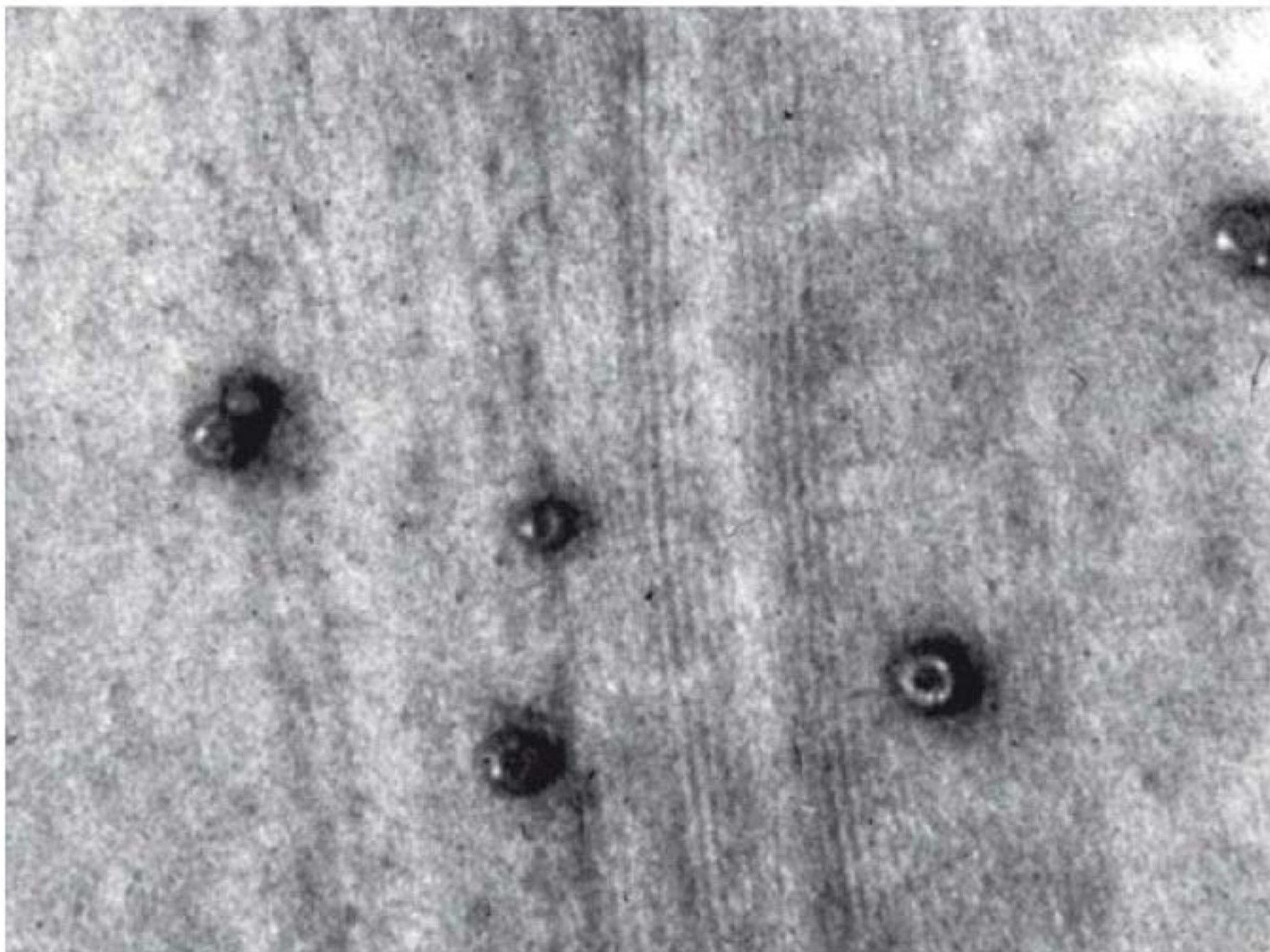


FIGURA 34.7 Lesões provocadas pelo molusco contagioso no ser humano. (Cortesia de D Lowy.)

encontradas nas palmas das mãos, plantas dos pés ou mucosas. A doença ocorre em todo o mundo, tanto na forma esporádica quanto na epidêmica, sendo mais frequente em crianças do que em adultos. Propaga-se por contatos direto e indireto (p. ex., em barbearias, com o uso comum de toalhas e em piscinas).

A incidência do molusco contagioso como doença sexualmente transmissível em adultos jovens está aumentando. O molusco contagioso também é observado em alguns pacientes com Aids. A pele dos pacientes com Aids no estágio avançado pode se mostrar coberta de inúmeras pápulas. Apesar de a lesão típica ser uma pápula umbilicada, as lesões nas áreas genitais úmidas, podem ficar inflamadas ou ulceradas, podendo ser confundidas com as lesões causadas pelo herpes-vírus simples (HSV). Amostras dessas lesões são frequentemente submetidas a exames laboratoriais de diagnóstico viral para isolamento do HSV (ver adiante).

O período de incubação pode estender-se por até 6 meses. As lesões podem ser pruriginosas, resultando em autoinoculação, e persistir por até 2 anos, embora acabem sofrendo regressão espontânea. O vírus é um imunógeno fraco; cerca de 33% dos pacientes nunca produzem anticorpos contra o vírus. Episódios secundários são comuns.

Embora ainda não tenha sido propagado em série em cultura de células, o vírus do molusco contagioso pode infectar células humanas e de primatas, bem como sofrer infecção abortiva. O desnudamento do vírus produz núcleo, seguido de efeito citopático característico transitório. As alterações celulares podem ser confundidas com as provocadas pelo HSV. Por conseguinte, os microrganismos isolados de amostras sob suspeita de HSV devem ser identificados especificamente por métodos imunológicos. Em um estudo realizado em 1985 com 137 amostras cultivadas para o HSV com o uso de fibroblastos humanos, 49 apresentaram HSV e 6 outras tiveram efeitos citopáticos, mas foram negativas para o antígeno do HSV. A microscopia eletrônica confirmou a presença do vírus do molusco contagioso nas amostras HSV-negativas com efeitos citopáticos positivos.

Em geral, o diagnóstico de molusco contagioso pode ser estabelecido em bases clínicas. Entretanto, um material caseoso semissólido pode ser obtido das lesões e utilizado para diagnóstico laboratorial. A PCR pode detectar sequências de DNA

viral, enquanto a microscopia eletrônica pode detectar partículas de poxvírus.

INFEÇÕES PELO VÍRUS TANAPOX E POXVÍRUS TUMORAL YABA DE MACACOS

O vírus Tanapox provoca uma infecção cutânea muito comum em partes da África, principalmente no Quênia e na República Democrática do Congo. O hospedeiro natural é provavelmente o macaco, embora seja possível a existência de outro reservatório, sendo os macacos hospedeiros apenas incidentais. O modo de transmissão é desconhecido.

Os vírus tumorais Tanapox e Yaba dos macacos estão sorologicamente relacionados entre si, embora sejam diferentes dos outros poxvírus, sendo classificados no gênero *Yatapoxvirus*. Do ponto de vista morfológico, assemelham-se aos ortopoxvírus. O genoma do vírus do Tanapox tem o tamanho de 160 kbp, enquanto o poxvírus tumoral Yaba do macaco é menor (145 kbp; 32,5% de G + C). Os vírus crescem somente em culturas de células humanas e de macacos, exercendo efeitos citopáticos. Não crescem na membrana corioalantoide de ovos embrionados.



A



B

FIGURA 34.8 Lesões produzidas pelo vírus Tanapox. (A) Dez dias após o aparecimento da lesão. (B) Trinta e um dias após o aparecimento da lesão. (Cortesia de Z Jezek.)

O Tanapox começa com um período febril de 3 a 4 dias, podendo incluir cefaleia intensa e prostração. Em geral, ocorrem apenas uma ou duas lesões cutâneas, e nunca aparece pustulação (Fig. 34.8). A cicatrização pode levar 4 a 7 semanas.

O poxvírus tumoral Yaba do macaco causa histiocitomas benignos 5 a 20 dias após administração subcutânea ou intramuscular em macacos. Os tumores regridem depois de cerca de 5 semanas. A administração intravenosa do vírus provoca o aparecimento de múltiplos histiocitomas nos pulmões, no coração e nos músculos esqueléticos. Não ocorrem alterações neoplásicas verdadeiras. O vírus é facilmente isolado do tecido tumoral, e inclusões características são encontradas nas células tumorais. Os macacos de várias espécies e os seres humanos são suscetíveis aos efeitos proliferativos celulares do vírus, enquanto outros animais de laboratório não o são. Embora os indivíduos que manipulam animais sejam infectados, infecções de seres humanos pelo vírus Yaba não foram observadas de modo natural na África.

RESUMO DO CAPÍTULO

- Os poxvírus são vírus grandes e complexos, que apresentam muitas enzimas, incluindo um sistema transcricional.
- A família *Poxviridae* inclui o vírus da varíola que, segundo dados da OMS, foi erradicada.
- Os poxvírus codificam proteínas que inibem o sistema imunológico do hospedeiro.
- O vírus da vacínia é usado para vacinação contra o vírus da varíola e como modelo laboratorial para o estudo dos poxvírus.
- Existe um risco da vacinação de indivíduos imunossuprimidos, gestantes e indivíduos com câncer.
- A maioria das infecções pelos poxvírus resulta em *rash* cutâneo.
- O vírus da varíola é um agente potencial de bioterrorismo, uma vez que a população mundial atual apresenta baixa ou nenhuma imunidade contra esse agente viral.
- Vários vírus da varíola em animais, incluindo o de macacos e de bovinos, podem infectar humanos, além do vírus orf e tanapox.
- O molusco contagioso causa tumores epidérmicos benignos.

QUESTÕES DE REVISÃO

1. Um agente de saúde de uma ala do setor de emergência, de 40 anos de idade, é vacinado contra a varíola devido ao potencial para o bioterrorismo. Ele indaga sobre a vacina, descobrindo que a reação adversa mais comum ou complicação após a vacinação (vacínia) contra a varíola é:
 - (A) Vacínia generalizada
 - (B) Eczema *vaccinatum*
 - (C) Vacínia progressiva
 - (D) Reação alérgica grave
 - (E) Autoinoculação inadvertida
2. O agente de saúde da questão anterior também encontrou dados sobre as contraindicações ao uso da vacina contra varíola. Qual das seguintes condições não é uma contraindicação ao uso da vacina (vacínia) contra varíola em condições de rotina, em casos que não são de emergência?

- (A) Imunossupressão
 - (B) Alergia grave a um dos componentes da vacina
 - (C) Contato com pessoa com eczema
 - (D) Gravidez
 - (E) Vacinação prévia contra varíola
3. Qual dos seguintes poxvírus infecta somente seres humanos?
 - (A) Vírus da varíola dos macacos
 - (B) Molusco contagioso
 - (C) Tanapox
 - (D) Vírus da varíola bovina
 - (E) Vírus do tumor de Yaba
 4. Um menino de 7 anos de idade teve lesões semelhantes às causadas pela varíola no braço e na mão esquerda. O menino possuía um roedor doméstico importado da África Ocidental. Foi diagnosticada varíola de macacos no menino e no roedor. Qual das seguintes afirmativas sobre o vírus da varíola dos macacos é a mais correta?
 - (A) A doença clínica assemelha-se à varíola humana
 - (B) Essas infecções no homem nunca são fatais
 - (C) A vacinação contra varíola não confere proteção
 - (D) As infecções são facilmente transmitidas entre os membros da família
 - (E) As partículas virais podem ser distinguidas do vírus da varíola por microscopia eletrônica
 5. Qual das seguintes alternativas melhor descreve a vacina contra varíola (vacínia) atualmente licenciada?
 - (A) Vacina atenuada do vírus da varíola
 - (B) Vírus da varíola inativado
 - (C) Vírus da vacínia vivo
 - (D) Vírus da vacínia inativado
 - (E) Vacina mista que contém os vírus da vacínia e da varíola
 6. Qual das seguintes alternativas não se aplica à replicação do vírus da vacínia em culturas de células?
 - (A) O ciclo da replicação viral ocorre no citoplasma das células infectadas
 - (B) A etapa do desnudamento que leva à liberação do genoma viral requer a síntese de nova proteína viral
 - (C) A transcrição precoce de mais de 50 genes virais ocorre dentro dos núcleos virais e precede a replicação do DNA viral
 - (D) As partículas virais recém-formadas tornam-se maduras por brotamento através da membrana nuclear
 7. Uma enfermeira de 37 anos de idade, que trabalha em um setor de emergência, é vacinada contra varíola devido ao risco de contato por bioterrorismo. Vinte dias depois, teve uma complicação causada pela vacina. Foi administrada imunoterapia antivacínia. Para qual das seguintes condições o tratamento com imunoglobulinas para vacínia não apresenta benefício?
 - (A) Varíola grave generalizada
 - (B) Varíola progressiva
 - (C) Encefalite pós-vacinal
 - (D) Eczema *vaccinatum*
 - (E) Vacínia ocular
 8. Outra enfermeira da mesma ala em que estava a paciente da questão anterior também é vacinada contra varíola. A partir de quando ela pode ser considerada completamente protegida?
 - (A) Dez dias após a primeira dose da vacina, desde que ocorra resposta no local de administração
 - (B) Dez dias após a segunda dose da vacina, desde que ocorra resposta no local de administração

- (C) Após a vacinação, sem o aparecimento de reação no local de administração
- (D) Após o aparecimento de lesão (pústulas vesiculares) no local de administração
- (E) Após o aparecimento de erupções generalizadas na pessoa vacinada
9. Qual das seguintes alternativas não preenche o critério de exposição à vacínia?
- (A) Vacinação contra varíola
- (B) Contato próximo com pessoa vacinada contra varíola
- (C) Exposição intrauterina
- (D) Injeção de imunoglobulina contra vacínia
10. Um pesquisador deseja obter o genoma completo do vírus da varíola para estudos vacinais. Qual das seguintes alternativas é a fonte apropriada de DNA viral?
- (A) O Centers for Disease Control and Prevention (CDC dos EUA)
- (B) Um centro de colaboração da OMS
- (C) A American Type Culture Collection (ATCC)
- (D) Um colega com um clone de varíola
- (E) A distribuição do genoma viral completo é proibida
11. Cientistas de um laboratório que trabalha com culturas de células infectadas pelo vírus da vacínia ou animais estão em risco de exposição acidental ao vírus. Qual dos seguintes procedimentos é o menos benéfico para proteger os laboratoristas contra uma infecção acidental com o vírus da vacínia?
- (A) Uso correto dos equipamentos de proteção, tais como luvas e óculos
- (B) Limpeza da área de trabalho antes da realização dos experimentos
- (C) Vacinação contra varíola
- (D) Práticas de segurança no manuseio de agulhas
- (E) Uso de exaustores de biossegurança
12. O vírus vacínia apresenta os seguintes atributos, *exceto*:
- (A) Pode causar doença localizada e disseminada grave
- (B) É um vírus atenuado semelhante ao da varíola
- (C) Induz imunidade que dura poucos anos
- (D) Tem sido usado por mais de 200 anos
- (E) Sequências gênicas de outras proteínas virais podem ser inseridas em seu genoma
13. A erradicação da varíola foi facilitada por diversas características atribuídas ao agente viral. Qual das afirmações melhor contribuiu para a erradicação?
- (A) Apresenta apenas um único sorotipo
- (B) Infecções assintomáticas são raras
- (C) A administração da vacina atenuada induz imunidade
- (D) Se multiplica no citoplasma das células infectadas
14. A vacinação com o vírus vacínia protege contra infecções, *exceto* pelo seguinte poxvírus:
- (A) Molusco contagioso
- (B) Varíola
- (C) Vírus da varíola bovina
- (D) Vírus da varíola do macaco

Respostas

- | | | | |
|------|------|-------|-------|
| 1. E | 5. C | 9. D | 13. D |
| 2. E | 6. D | 10. E | 14. A |
| 3. B | 7. C | 11. B | |
| 4. A | 8. D | 12. B | |

REFERÊNCIAS

- Li Y, Carroll DS, Gardner SN et al.: On the origin of smallpox: Correlating variola phylogenics with historical smallpox records. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007;104:15787.
- MacNeil A, Reynolds MG, Damon IK: Risks associated with vaccinia virus in the laboratory. *Virology* 2009;385:1.
- McFadden G: Poxvirus tropism. *Nat Rev Microbiol* 2005;3:201.
- Moss B: Genetically engineered poxviruses for recombinant gene expression, vaccination, and safety. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996;93:11341.
- Surveillance guidelines for smallpox vaccine (vaccinia) adverse reactions. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2006;55(RR-1):1.
- Vaccinia (smallpox) vaccine: Recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP), 2001. *MMWR Recomm Rep* 2001;50(RR-10):1.
- Wharton M, Strikas RA, Harpaz R et al.: Recommendations for using smallpox vaccine in a pre-event vaccination program: Supplemental recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP) and the Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee (HICPAC). *MMWR Recomm Rep* 2003;52(RR-7):1.
- WHO recommendations concerning the distribution, handling and synthesis of variola virus DNA, May 2008. *World Health Org Wkly Epidemiol Rec* 2008;83:393.

Vírus da hepatite

A hepatite viral é uma doença sistêmica que afeta primariamente o fígado. Os casos de hepatite viral aguda em crianças e adultos são causados, em sua maioria, por um dos cinco seguintes agentes: vírus da hepatite A (HAV), o agente etiológico da hepatite viral tipo A (hepatite infecciosa); vírus da hepatite B (HBV), associado à hepatite viral B (hepatite sérica); vírus da hepatite C (HCV), o agente da hepatite C (causa comum das hepatites pós-transfusionais); vírus da hepatite D (HDV), um vírus defectivo e dependente da coinfeção com o vírus HBV; ou o vírus da hepatite E (HEV), o agente da hepatite transmitida por via entérica. Além disso, outros vírus bem caracterizados passíveis de provocar hepatite esporádica, como o vírus da febre amarela, o citomegalovírus, o vírus Epstein-Barr, o herpes-vírus simples, o vírus da rubéola e os enterovírus, são discutidos em outros capítulos. Os vírus da hepatite causam inflamação aguda do fígado, resultando em doença clínica caracterizada por febre, sintomas gastrintestinais, como náuseas e vômitos, e icterícia. Independentemente do tipo de vírus, lesões histopatológicas idênticas são observadas no fígado durante a doença aguda.

PROPRIEDADES DOS VÍRUS DA HEPATITE

As características dos cinco vírus da hepatite conhecidos estão apresentadas no Quadro 35.1. A nomenclatura dos vírus da hepatite, de seus antígenos e anticorpos é fornecida no Quadro 35.2.

Hepatite tipo A

O HAV é um membro distinto da família dos picornavírus (ver Cap. 36). O HAV é uma partícula esférica de 27 a 32 nm, de simetria cúbica, que contém um genoma de RNA de fita única linear com tamanho de 7,5 kb, sendo alocado no gênero de picornavírus, *Hepatovirus*. Além disso, apenas um sorotipo é conhecido. Não ocorre qualquer reatividade cruzada antigênica com o HBV nem com os outros vírus da hepatite. A análise da sequência do genoma de uma região variável envolvendo a junção dos genes 1D e 2A levou à divisão dos HAV isolados em 7 genótipos. No Quadro 36.1, é fornecida uma lista das propriedades importantes da família *Picornaviridae*.

QUADRO 35.1 Características dos vírus da hepatite

Vírus	Hepatite A	Hepatite B	Hepatite C	Hepatite D	Hepatite E
Família	<i>Picornaviridae</i>	<i>Hepadnaviridae</i>	<i>Flaviviridae</i>	Não classificado	<i>Herpesviridae</i>
Gênero	<i>Hepatovirus</i>	<i>Orthohepadnavirus</i>	<i>Hepacivirus</i>	<i>Deltavirus</i>	<i>Hepevirus</i>
Virion	27 nm, icosaédrico	42 nm, esférico	60 nm, esférico	35 nm, esférico	30 a 32 nm, icosaédrico
Envelope	Ausente	Presente (HbsAg)	Presente	Presente (HbsAg)	Ausente
Genoma	RNAfs	DNAfd	RNAfs	RNAfs	RNAfs
Tamanho do genoma (kb)	7,5	3,2	9,4	1,7	7,2
Estabilidade	Termoestável e acidoestável	Sensível a ácido	Sensível a ácido e éter	Sensível a ácido	Termoestável
Transmissão	Orofecal	Parenteral	Parenteral	Parenteral	Orofecal
Prevalência	Alta	Alta	Moderada	Baixa, regional	Regional
Doença fulminante	Rara	Rara	Rara	Frequente	Durante a gravidez
Doença crônica	Nunca	Frequente	Frequente	Frequente	Nunca
Oncogênico	Ausente	Presente	Presente	?	Ausente

fd, fita dupla; HbsAg, antígeno de superfície do HBV; fs, fita simples.

QUADRO 35.2 Nomenclatura e definições dos vírus, antígenos e anticorpos da hepatite

Doença	Componente do sistema	Definição
Hepatite A	HAV	Vírus da hepatite A. Agente etiológico da hepatite infecciosa. Picornavírus, protótipo do gênero <i>Hepatovirus</i>
	Anti-HAV	Anticorpo anti-HAV. Detectável no início dos sintomas; persistência por toda a vida
	IgM anti-HAV	Anticorpo de classe IgM para HAV. Indica infecção recente por hepatite A; positivo até 4 a 6 meses após a infecção
Hepatite B	HBV	Vírus da hepatite B. Agente etiológico da hepatite sérica. Hepadnavírus
	HBsAg	Antígeno de superfície da hepatite B. Antígenos de superfície do HBV detectáveis em grande quantidade no soro. Vários subtipos identificados
	HBeAg	Antígeno da hepatite B. Associado ao nucleocapsídeo de HBV; indica replicação viral; circula como antígeno solúvel no soro
	HBcAg	Antígeno do núcleo da hepatite B
	Anti-HBs	Anticorpo anti-HBsAg. Indica infecção passada com imunidade ao HBV, presença de anticorpos passivos de HBIG ou resposta imunológica à vacina contra o HBV
	Anti-HBe	Anticorpo anti-HBeAg. Sua presença no soro dos portadores de HBsAg sugere baixos títulos de HBV
	Anti-HBc	Anticorpo anti-HBcAg. Indica infecção pelo HBV em algum momento indefinido no passado
	IgM anti-HBc	Anticorpo da classe IgM anti-HBcAg. Indica infecção recente provocada pelo HBV; positivo durante 4 a 6 meses após a infecção
Hepatite C	HCV	Vírus da hepatite C, agente etiológico comum da hepatite pós-transfusional. Flavivírus do gênero <i>Hepacivirus</i>
	Anti-HCV	Anticorpo anti-HCV
Hepatite D	HDV	Vírus da hepatite D. Agente etiológico da hepatite delta; causa infecção somente na presença de HBV
	HDAg	Antígeno delta (delta-Ag). Detectável no início da fase aguda da infecção por HDV
	Anti-HDV	Anticorpo antiantígeno delta (antidelta). Indica infecção passada ou presente pelo HDV
Hepatite E	HEV	Vírus da hepatite E. Vírus da hepatite transmitido por via entérica. Causa grandes epidemias na Ásia, norte e oeste da África e México; transmissão orofecal ou pela água. Não classificado
Imunoglobulinas	IG	Imunoglobulina USP. Contém anticorpos anti-HAV; nenhum anticorpo anti-HBsAg, HCV ou vírus da imunodeficiência humana (HIV)
	HBIG	Imunoglobulina da hepatite B. Contém altos títulos de anticorpos anti-HBV

O HAV é estável ao tratamento com éter a 20%, ácido (pH de 1,0 durante 2 h) e calor (60°C durante 1 h), e sua infecciosidade pode ser preservada durante pelo menos 1 mês após ser desidratado e conservado a 25°C, ou por vários anos a -20°C. O vírus é destruído por autoclavagem (121°C durante 20 min), fervura em água durante 5 min, calor seco (180°C durante 1 h), irradiação ultravioleta (1 min a 1,1 watt), tratamento com formol (1:4.000 durante 3 dias a 37°C) ou tratamento com cloro (10 a 15 ppm durante 30 min). O aquecimento do alimento a mais de 85°C durante 1 min e a desinfecção das superfícies com hipoclorito de sódio (água sanitária em uma diluição de 1:100) são necessários para inativar o HAV. A resistência relativa do HAV a procedimentos de desinfecção reforça a necessidade de precauções adicionais ao se lidar com pacientes portadores de hepatite e seus dejetos.

O HAV foi inicialmente identificado em preparações de fezes e de fígado, utilizando-se a imunomicroscopia eletrônica como sistema de detecção (Fig. 35.1). Os ensaios sorológicos sensíveis e os métodos de reação em cadeia da polimerase

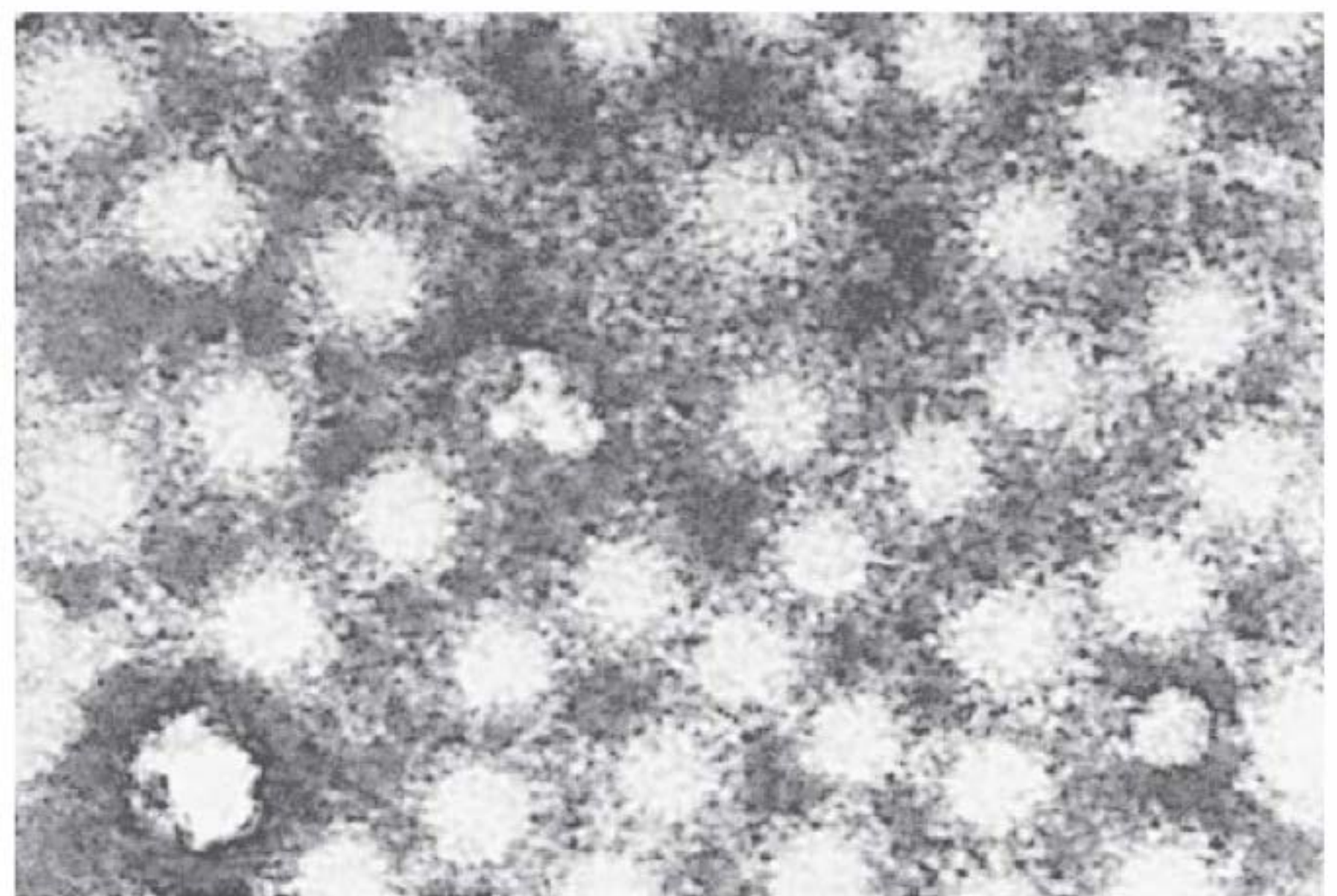


FIGURA 35.1 Micrografia eletrônica do vírus da hepatite A de 27 nm agregado a anticorpo (ampliada 222.000 vezes). Observar a presença de um "halo" de anticorpos em torno de cada partícula. (Cortesia de DW Bradley, CL Hornbeck e JE Maynard.)

(PCR) tornaram possível a detecção do HAV em fezes e outras amostras, bem como a determinação de anticorpos específicos no soro.

Várias linhagens celulares de primatas sustentam o crescimento do HAV, embora a adaptação e o crescimento de vírus recém-isolados sejam difíceis. Em geral, não se observa qualquer efeito citopático aparente. Mutações no genoma viral são selecionadas durante a adaptação à cultura de tecido.

Hepatite tipo B

O HBV é classificado como um hepadnavírus (Quadro 35.3) causador de infecções crônicas, particularmente em lactentes. Trata-se de um fator importante no desenvolvimento eventual de hepatopatia e carcinoma hepatocelular nesses indivíduos.

A. Estrutura e composição

A microscopia eletrônica do soro HBsAg-positivo revela três morfologias (Figs. 35.2 e 35.3A). As mais numerosas são as partículas esféricas com 22 nm de diâmetro (Fig. 35.3B), constituídas exclusivamente de HBsAg — como as formas tubulares e filamentosas, que apresentam o mesmo diâmetro, mas cujo comprimento pode ultrapassar 200 nm — e resultam da superprodução de HBsAg. Virions esféricos maiores, de 42 nm (originalmente denominados partículas de Dane), são observados com menor frequência (Fig. 35.2). A superfície externa ou envelope contém HBsAg e circunda um nucleocapsídeo interno de 27 nm que contém HBcAg (Fig. 35.3C). O comprimento variável de uma região de fita simples do genoma de DNA circular resulta em partículas geneticamente heterogêneas com ampla faixa de densidades de flutuação.

O genoma viral (Fig. 35.4) consiste em DNA circular de fita parcialmente dupla com 3.200 bp de comprimento. Diferentes

QUADRO 35.3 Propriedades importantes dos hepadnavírus^a

Virion: cerca de 42 nm de diâmetro total (nucleocapsídeos, 18 nm)
Genoma: uma molécula de DNA de fita dupla, circular, de 3,2 kbp. No virion, a fita de DNA negativa está presente em toda a sua extensão, enquanto a fita positiva é parcialmente completa. A lacuna deve ser completada no início do ciclo de replicação
Proteínas: dois polipeptídeos principais estão presentes (um glicosilado) no HBsAg; um polipeptídeo está presente no HBcAg
Envelope: contém HBsAg e lipídeo
Replicação: através de uma cópia intermediária de RNA do genoma do DNA (HBcAg no núcleo; HBsAg no citoplasma). Tanto o vírus maduro quanto as partículas esféricas de 22 nm consistem em HBsAg secretado pela superfície celular
Características marcantes: A família é constituída por muitos tipos que infectam seres humanos e animais inferiores (p. ex., marmotas, esquilos e patos) Causam hepatites aguda e crônica, progredindo frequentemente para um estado de portador permanente e para carcinoma hepatocelular

^aQuanto ao HAV, ver propriedades dos picornavírus (Quadro 36.1); para o HCV, ver descrição dos flavivírus (Quadro 38.1).

HBcAg, antígeno do núcleo do HBV; HBsAg, antígeno de superfície do HBV.

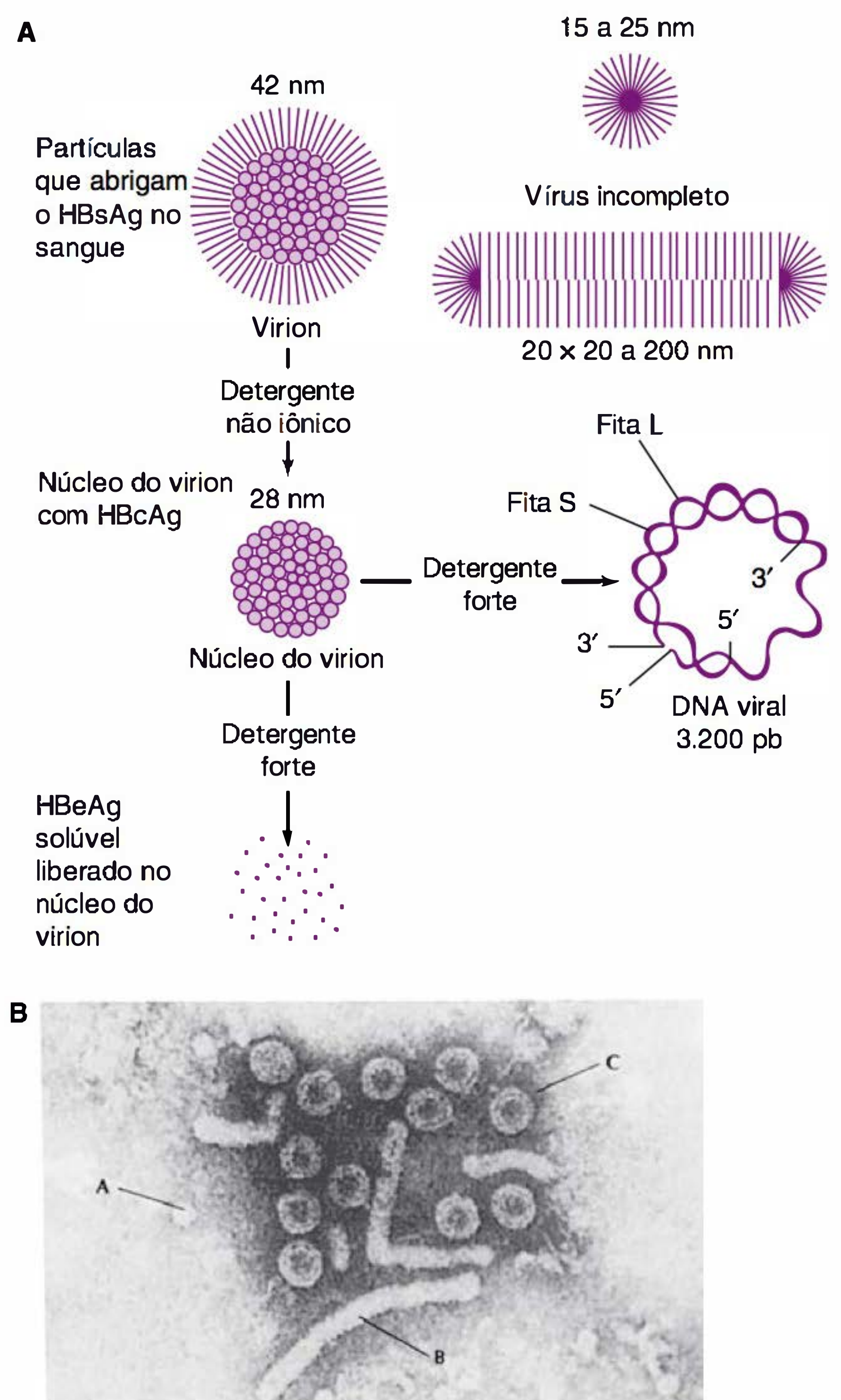


FIGURA 35.2 Formas viral e subviral da hepatite B. (A) Representação esquemática de três formas contendo HBsAg que podem ser identificadas no soro dos portadores de HBV. A partícula de Dane esférica de 42 nm pode ser rompida por detergentes não iônicos, liberando o núcleo de 28 nm que contém o genoma de DNA viral de fita parcialmente dupla. Um antígeno solúvel, denominado HBeAg, pode ser liberado das partículas do núcleo mediante tratamento com detergente forte. (B) Micrografia eletrônica que mostra três formas distintas que apresentam HBsAg: partículas esféricas pleomórficas de 20 nm (A), formas filamentosas (B) e partículas de Dane esféricas de 42 nm, a forma infecciosa do HBV (C). (Cortesia de FB Hollinger.)

HBV isolados compartilham uma homologia de sequência de nucleotídeos de 90 a 98%. A fita negativa de DNA de comprimento total (fita L ou longa) é complementar a todos os RNAm do HBV; a fita positiva (fita S ou curta) é variável, com comprimento de unidades de 50 a 80%.

Existem quatro estruturas de leitura aberta que codificam sete polipeptídeos, os quais incluem proteínas estruturais da superfície e do núcleo do virion, um pequeno transativador de transcrição (X) e uma grande proteína polimerase (P) que inclui atividades de DNA polimerase, transcriptase reversa e RNase H. O gene S apresenta três códons de iniciação e codifica

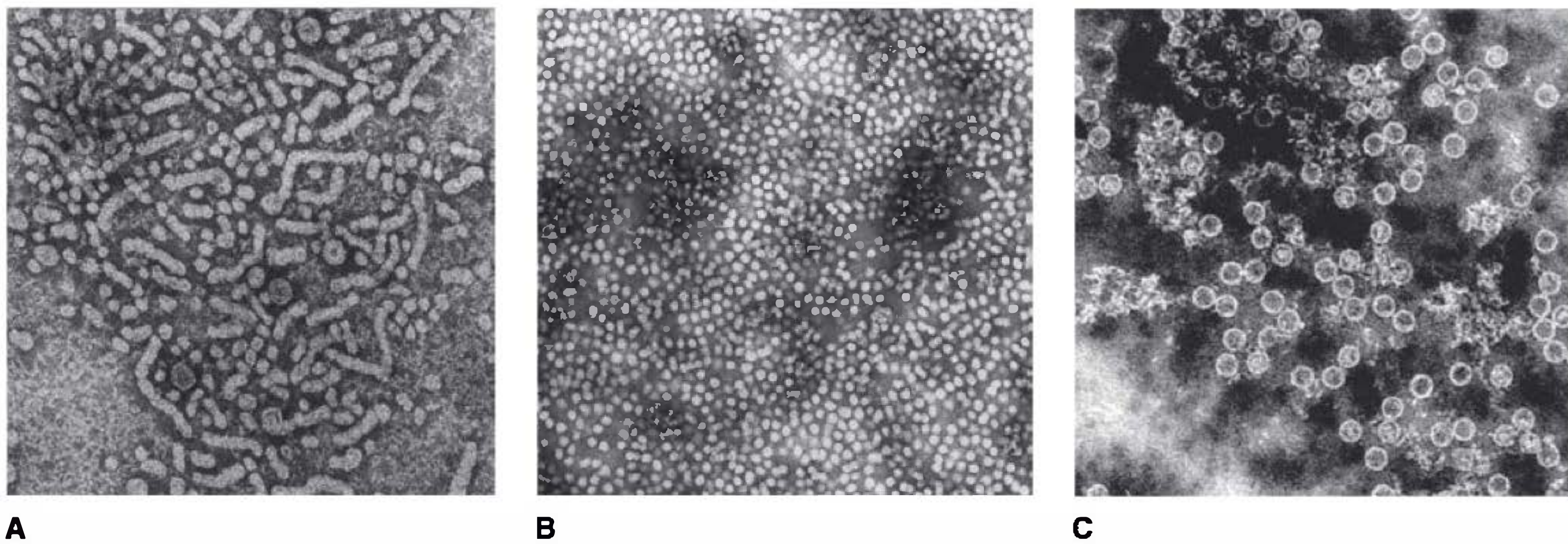


FIGURA 35.3 (A) Plasma humano HBsAg-positivo não fracionado; podem-se observar filamentos, partículas esféricas de 22 nm e alguns virions de 42 nm (ampliada 77.000 vezes). (B) HBsAg purificado (ampliada 55.000 vezes). (Cortesia de RM McCombs e JP Brunshwig.) (C) HBcAg purificado de núcleos de hepatócitos infectados (122.400 vezes). O diâmetro das partículas do núcleo é de 27 nm. (Cortesia de HA Fields, GR Dreesman e G Cabral.)

o HBsAg principal e polipeptídeos que contêm sequências pré-S2 ou pré-S1 e pré-S2. O gene C tem dois códon de iniciação e codifica o HBcAg mais a proteína HBe, processada para produzir o HBV e o HBeAg solúvel.

As partículas que contêm HBsAg são antígenicamente complexas. Cada uma contém um antígeno específico do grupo, *a*, além de dois pares de subdeterminantes mutuamente exclusivos, *d/y* e *w/r*. Assim, quatro fenótipos do HBsAg foram

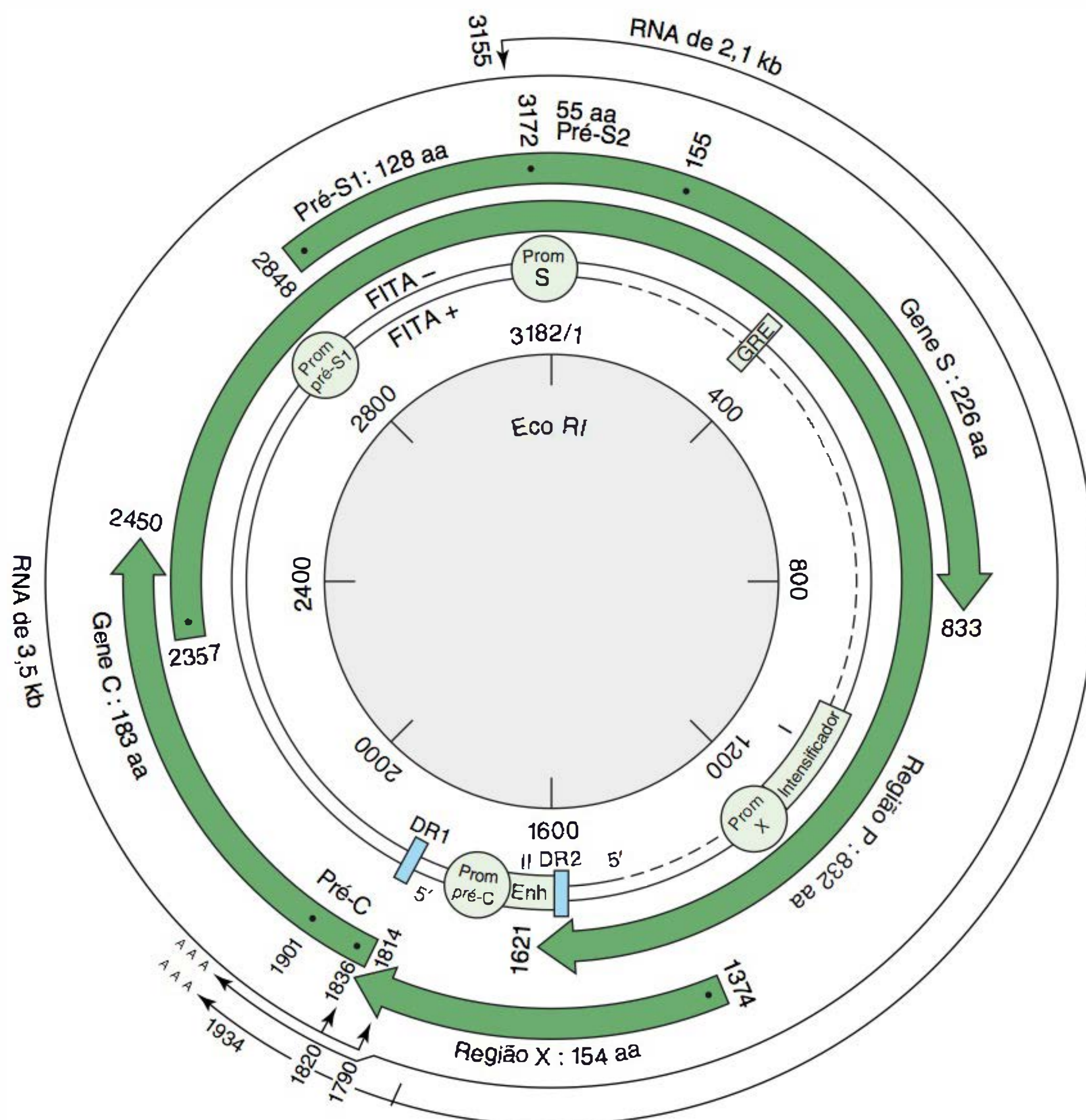


FIGURA 35.4 Organização genética do genoma do HBV. Quatro estruturas de leitura abertas, que codificam sete peptídeos, estão indicadas por setas grandes. A figura também mostra as sequências reguladoras (promotores [prom], intensificadores [Enh] e elemento responsivo aos glicocorticoides [GRE]). Apenas as duas principais transcrições (núcleo/pré-genoma e RNAm) estão representadas. DR1 e DR2 são duas sequências diretamente repetidas de 11 bp nas extremidades 5' do DNA de fita negativa e fita positiva. (Reproduzida, com autorização, de Buendia MA: Hepatitis B viruses and hepatocellular carcinoma. *Adv Cancer Res* 1992;59:167. Academic Press, Inc., 1992.)

observados: *adw*, *ayw*, *adr* e *ayr*. Nos EUA, o subtipo predominante é *adw*. Esses marcadores específicos do vírus são úteis em pesquisas epidemiológicas, visto que os casos secundários apresentam o mesmo subtipo do caso-índice.

A estabilidade do HBsAg nem sempre coincide com a do agente infeccioso. Entretanto, ambos mostram-se estáveis a -20°C durante mais de 20 anos e estáveis a congelamento e descongelamento repetidos. O vírus também exibe estabilidade a 37°C durante 60 min e permanece viável após ser desidratado e conservado a 25°C durante pelo menos 1 semana. O HBV (mas não o HBsAg) é sensível a temperaturas mais elevadas (100°C durante 1 min) ou por longos períodos de incubação (60°C durante 10 h). O HBsAg é estável a pH de 2,4 durante um período de até 6 horas, porém a infecciosidade do HBV se perde. Hipoclorito de sódio a 0,5% (p. ex., água sanitária a 1:10) destrói a antigenicidade em 3 min em baixas concentrações de proteínas; entretanto, as amostras de soro não diluídas exigem maiores concentrações (5%). O HBsAg não é destruído por irradiação ultravioleta do plasma ou de outros hemoderivados, e a infecciosidade do vírus também pode resistir a esse tratamento.

B. Replicação do vírus da hepatite B

O virion infeccioso fixa-se às células e sofre desnudamento (Fig. 35.5). No núcleo, o genoma viral parcialmente de fita dupla é convertido em DNA circular de fita dupla covalentemente

fechado (cccDNA), o qual serve de modelo para todas as transcrições do vírus, inclusive um RNA pré-genômico de 3,5 kb, que adquire um capsídeo com HBcAg recém-sintetizado. No interior do núcleo, a polimerase viral sintetiza uma cópia de DNA de fita negativa por transcrição reversa, começando a sintetizar a fita positiva de DNA, porém o processo não se completa. Os núcleos brotam das membranas pré-Golgi, adquirindo envelopes que contêm HBsAg, e podem sair da célula. Alternativamente, os núcleos podem ser novamente importados para o núcleo, dando início a outro ciclo de replicação na mesma célula.

Hepatite tipo C

Os estudos clínicos e epidemiológicos bem como os experimentos de estimulação (desafio) cruzada em chimpanzés sugeriram a existência de vários agentes da hepatite não A, não B (NANB) que, com base em testes sorológicos, não eram relacionados com o HAV nem com o HBV. O principal agente foi identificado como o HCV, um vírus de RNA de fita positiva, classificado na família *Flaviviridae*, gênero *Hepacivirus*. Diversos vírus podem ser diferenciados por análise de sequência do RNA em seis genótipos principais (*clades*) e mais de 100 subtipos. As *clades* diferem entre si por 25 a 35% em nível de nucleotídeos, os subtipos diferem entre si por 15 a 25%. O genoma tem 9,4 kb de tamanho e codifica uma proteína do núcleo, duas glicoproteínas do envelope e várias proteínas não estruturais

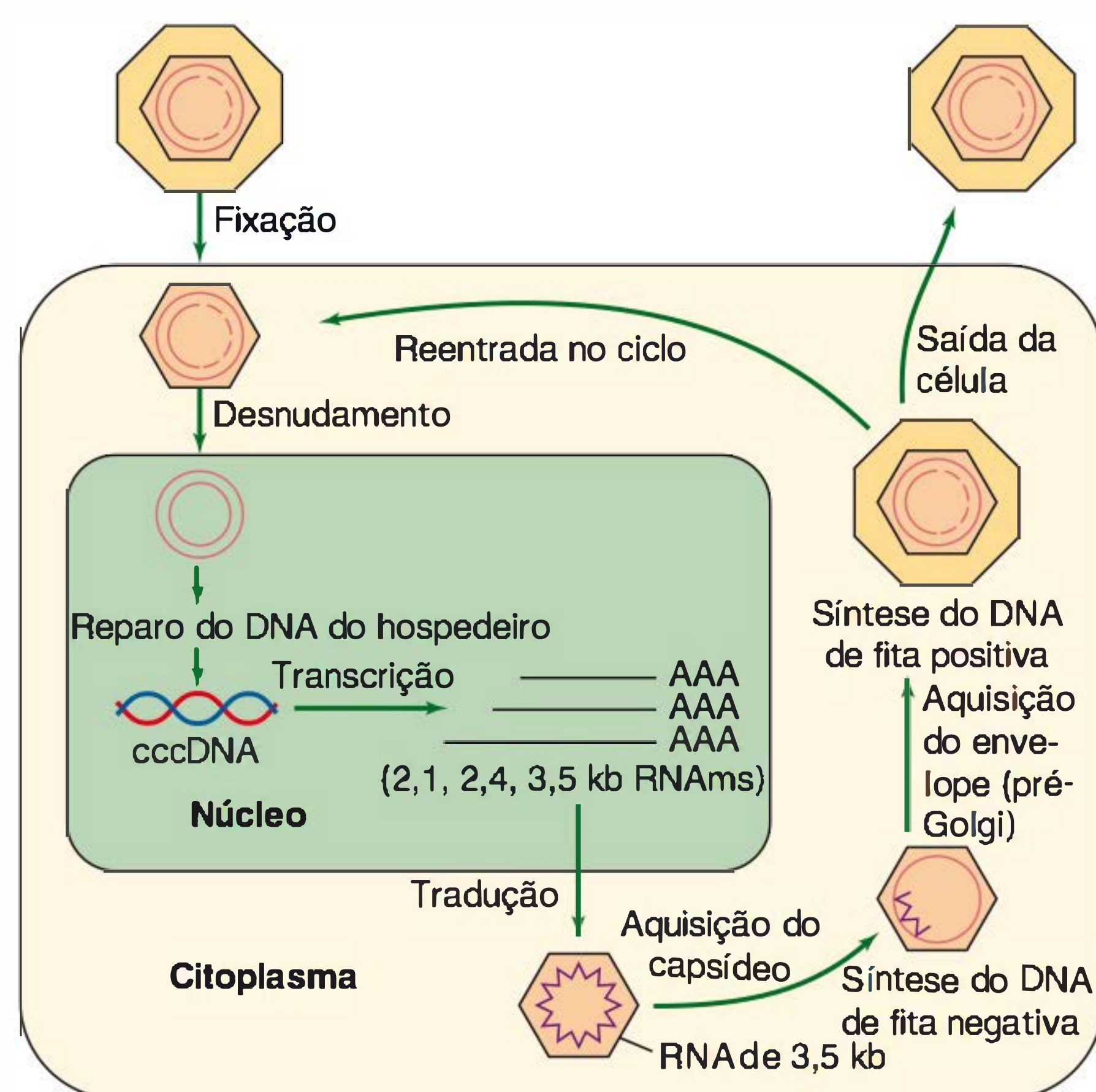


FIGURA 35.5 Ciclo de replicação do HBV. A fixação do HBV a um receptor na superfície dos hepatócitos ocorre pela porção da região pré-S do HBsAg. Após desnudamento do vírus, enzimas celulares não identificadas convertem o DNA de fita parcialmente dupla em DNA circular covalentemente fechado (ccc), que pode ser detectado no núcleo. O cccDNA atua como modelo para a produção de RNAm do HBV e do pré-genoma de RNA de 3,5 kb. O pré-genoma adquire um capsídeo por meio de um sinal de acondicionamento localizado próximo à extremidade 5' do RNA, resultando em partículas do núcleo recém-sintetizadas, em que atua como modelo para a transcriptase reversa do HBV codificada no gene da polimerase. Uma atividade RNase H da polimerase remove o modelo de RNA, à medida que ocorre a síntese do DNA de fita negativa. A síntese do DNA de fita positiva não prossegue até o final no interior do núcleo, resultando em intermediários replicativos, que consistem em DNA de fita negativa completo e em DNA de fita positiva de comprimento variável (20 a 80%). As partículas do núcleo que contêm esses intermediários replicativos de DNA brotam a partir das membranas pré-Golgi (adquirindo HBsAg durante o processo) e podem sair da célula ou entrar novamente no ciclo de infecção intracelular. (Reproduzida, com autorização, de Butel JS, Lee TH, Slagle BL: Is the DNA repair system involved in hepatitis-B-virus-mediated hepatocellular carcinogenesis? *Trends Microbiol* 1996;4:119.)

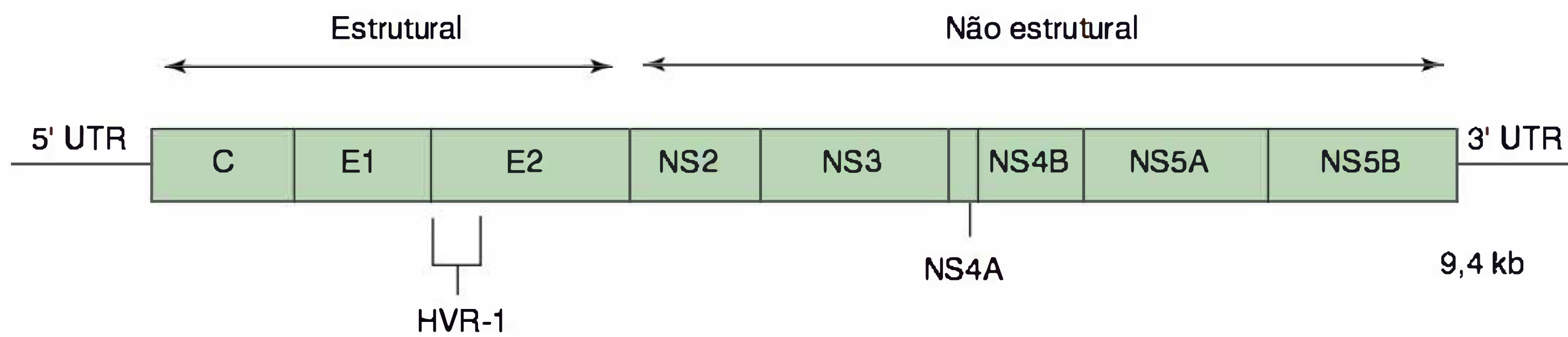


FIGURA 35.6 Organização genética do genoma do HCV. A única estrutura de leitura aberta é expressa em forma de poliproteína que é processada; as posições dos domínios estruturais e não estruturais estão indicadas. HVR-1 representa a região altamente variável de uma glicoproteína do envelope. UTR: região não traduzida; HVR: região hipervariável. (Reproduzida, com autorização, de Chung RT, Liang TJ: Hepatitis C virus and hepatocellular carcinoma. In Parsonnet J [editor]. *Microbes and Malignancy: Infection as a Cause of Human Cancers*. Oxford University Press, 1999.)

(Fig. 35.6). A expressão de clones do HCV de cDNA em leveduras levou ao desenvolvimento de testes sorológicos para os anticorpos contra o HCV. A maioria dos casos de hepatite NANB pós-transfusional foi provocada pelo HCV.

As novas infecções pelo HCV são, em sua maioria, subclínicas. A maioria (70 a 80%) dos pacientes com HCV desenvolve hepatite crônica, e muitos correm o risco de evoluir para hepatite ativa crônica e cirrose (10 a 20%). Em alguns países, como o Japão, a infecção pelo HCV frequentemente leva ao desenvolvimento de carcinoma hepatocelular. Nos EUA, cerca de 25.000 indivíduos morrem anualmente de hepatopatia crônica e cirrose; o HCV parece contribuir de modo significativo para essa elevada taxa (cerca de 40%).

O HCV exibe diversidade genômica, com predomínio de diferentes genótipos (*clades*) em diferentes partes do mundo. O vírus sofre variação de sequência durante as infecções crônicas. Esta população viral complexa no hospedeiro é chamada de “quasispécies”. Tal diversidade genética não está correlacionada com diferenças na doença clínica, embora existam diferenças na resposta à terapia antiviral, de acordo com o genótipo do vírus.

Hepatite tipo D (hepatite delta)

Um sistema antígeno-anticorpo, denominado antígeno delta (Ag- δ) e anticorpo (anti- δ), é detectado em algumas infecções pelo HBV. O antígeno é encontrado em determinadas partículas de HBsAg. No sangue, o vírus da hepatite delta (HDV) (agente δ) contém Ag- δ (HDAg) circundado por um envelope de HBsAg. Possui um tamanho de partículas de 35 a 37 nm e densidade de flutuação de 1,24 a 1,25 g/mL em CsCl. O genoma do HDV consiste em RNA circular de fita simples e polaridade negativa, de 1,7 kb de tamanho. O HDV é o menor dos patógenos humanos conhecidos e assemelha-se aos patógenos subvirais de plantas, ou seja, viroides. Não existe homologia com o genoma do HBV. O HDAg é a única proteína codificada pelo RNA do HDV e difere dos determinantes antigênicos do HBV. O HDV é um vírus defeituoso que adquire um envelope de HBsAg para a sua transmissão, estando frequentemente associado às formas mais graves de hepatite em pacientes HBsAg-positivos. O HDV é classificado no gênero *Deltavirus*, que não é atribuído a nenhuma família de vírus.

Hepatite tipo E

O vírus da hepatite E (HEV) é transmitido por via entérica e ocorre de modo epidêmico nos países em desenvolvimento, em que o abastecimento da água e dos alimentos é algumas vezes

contaminado com fezes. O HEV foi documentado pela primeira vez em amostras coletadas durante a epidemia de 1955 em Nova Délhi, quando foram registrados 29.000 casos de hepatite icterica após contaminação da água potável da cidade por esgoto. Outra epidemia ocorreu em Kashmir, Índia, em 1978, resultando em aproximadamente 1.700 mortes. As mulheres grávidas podem apresentar elevada taxa de mortalidade (20%) caso uma hepatite fulminante se desenvolva. O genoma viral foi clonado e consiste em RNA de fita simples e polaridade positiva, tendo 7,2 kb de tamanho. O vírus é classificado na família viral, *Herpesviridae* (gênero *Hepevirus*) assemelhando-se aos calicivírus. Cepas do HEV em animais são comuns no mundo inteiro. Nos EUA, há evidências de infecções por HEV ou vírus similares ao HEV em roedores, porcos, ovinos e no gado bovino, o vírus pode se disseminar de animais para seres humanos.

INFECÇÕES POR VÍRUS DA HEPATITE EM SERES HUMANOS

Patologia

Hepatite é um termo geral que designa inflamação no fígado. Microscopicamente, observa-se a ocorrência de degeneração pontilhada das células parenquimatosas, com necrose dos hepatócitos, reação inflamatória lobular difusa e ruptura dos cordões hepáticos. Essas alterações parenquimatosas são acompanhadas de hiperplasia das células reticuloendoteliais (de Kupffer), infiltração periportal por células mononucleares e degeneração celular. Áreas localizadas de necrose são frequentemente observadas. Em um estágio mais avançado da doença, verifica-se acúmulo de macrófagos próximo aos hepatócitos em degeneração. A preservação do arcabouço reticular permite a regeneração dos hepatócitos, de modo que a arquitetura altamente ordenada do lóbulo hepático pode ser finalmente recuperada. Em geral, o tecido hepático lesado é restaurado em 8 a 12 semanas.

Os portadores crônicos de HBsAg podem ou não apresentar sinais evidentes de hepatopatia. A hepatite viral persistente (que não sofre resolução), uma doença benigna discreta que pode ocorrer após a hepatite B aguda em 8 a 10% dos pacientes adultos, caracteriza-se por níveis esporadicamente anormais de transaminase e hepatomegalia. Histologicamente, a arquitetura lobular é preservada, com infiltração portal, intumescimento e palidez dos hepatócitos (com organização em “paralelepípedo”) e fibrose discreta a ausente. Com frequência, essa lesão é observada em portadores assintomáticos, geralmente não evolui para cirrose e apresenta prognóstico favorável.

A hepatite ativa crônica caracteriza-se por um espectro de alterações histológicas que incluem desde inflamação e necrose até colapso do arcabouço reticular normal com a formação de pontes entre as tríades portais ou veias hepáticas terminais. O HBsAg é detectado em 10 a 50% desses pacientes.

Ocasionalmente, durante a hepatite viral aguda, pode ocorrer uma lesão mais extensa, impedindo a regeneração ordenada dos hepatócitos. Essa necrose hepatocelular fulminante ou maciça é observada em 1 a 2% dos pacientes ictericos com hepatite B, sendo 10 vezes mais comum em pacientes com infecção concomitante pelo HDV do que na ausência deste vírus.

Nenhum dos vírus da hepatite é tipicamente citopatogênico, e acredita-se que a lesão celular observada na hepatite seja mediada imunologicamente.

Tanto o HBV quanto o HCV desempenham papéis significativos no desenvolvimento do carcinoma hepatocelular que pode surgir muitos anos (15 a 60) após o estabelecimento da infecção crônica.

Manifestações clínicas

As manifestações clínicas das infecções por HAV, HBV e HCV encontram-se resumidas no Quadro 35.4. Em casos individuais, não é possível efetuar uma distinção clínica confiável entre os casos provocados pelos vírus da hepatite.

Outras doenças virais que podem manifestar-se em forma de hepatite são a mononucleose infecciosa, a febre amarela, a infecção por citomegalovírus, o herpes-simples, a rubéola e algumas

QUADRO 35.4 Características clínicas e epidemiológicas das hepatites virais A, B e C

Característica	Hepatite viral tipo A	Hepatite viral tipo B	Hepatite viral tipo C
Período de incubação	10 a 50 dias (média, 25 a 30)	50 a 180 dias (média, 60 a 90)	15 a 160 dias (média, 50)
Principal distribuição etária	Crianças ^a , adultos jovens	15 a 29 anos ^b , bebês	Adultos ^b
Incidência sazonal	Durante todo o ano, mas com tendência a atingir o pico no outono	Durante todo o ano	Durante todo o ano
Rota de infecção	Predominantemente orofecal	Predominantemente parenteral	Predominantemente parenteral
Ocorrência do vírus			
Sangue	2 semanas antes a 1 semana ou menos após a icterícia	Meses a anos	Meses a anos
Fezes	2 semanas antes a 2 semanas após a icterícia	Ausente	Provavelmente ausente
Urina	Rara	Ausente	Provavelmente ausente
Saliva, sêmen	Rara (saliva)	Frequentemente presente	Presente (saliva)
Características clínicas e laboratoriais			
Início	Abrupto	Insidioso	Insidioso
Febre acima de 38°C	Comum	Menos comum	Menos comum
Duração da elevação das aminotransferases	1 a 3 semanas	1 a 6 meses ou mais	1 a 6 meses ou mais
Imunoglobulinas (níveis de IgM)	Elevadas	Normal ou levemente aumentadas	Normal ou levemente aumentadas
Complicações	Incomuns, ausência de cronicidade	Cronicidade em 5 a 10% (95% dos recém-nascidos)	Cronicidade em 70 a 90%
Taxa de mortalidade (casos ictericos)	< 0,5%	< 1 a 2%	0,5 a 1%
HBsAg	Ausente	Presente	Ausente
Imunidade			
Homóloga	Sim	Sim	Provavelmente não
Heteróloga	Não	Não	Não
Duração	Provavelmente permanente	Provavelmente permanente	?
Imunoglobulina intramuscular (IG, gamaglobulina, ISG)	Previne regularmente a icterícia	Previne a icterícia somente se a imunoglobulina tiver potência suficiente contra o HBV	?

^aA hepatite não icterica é comum em crianças.

^bNa faixa etária entre 15 e 29 anos, as hepatites B e C estão frequentemente associadas ao uso de drogas e práticas sexuais de alto risco. Os pacientes com HBV e HCV associados a transfusão geralmente têm idade superior a 29 anos.

HBsAg, antígeno de superfície do HBV; HBV, vírus da hepatite B; IG, imunoglobulina; IgM; imunoglobulina do isotipo M; ISG, imunoglobulina sérica.

infecções por enterovírus. A hepatite pode ocorrer ocasionalmente como uma complicação de leptospirose, sífilis, tuberculose, toxoplasmose e amebíase, todas suscetíveis a tratamento farmacológico específico. As causas não infecciosas consistem em obstrução biliar, cirrose biliar primária, doença de Wilson, toxicidade e reações de hipersensibilidade a fármacos.

Na hepatite viral, o aparecimento de icterícia é frequentemente precedido de sintomas gastrintestinais, como náuseas, vômitos, anorexia e febre baixa. A icterícia pode aparecer poucos dias após o período prodrômico, porém a hepatite anictérica é mais comum.

As manifestações extra-hepáticas da hepatite viral (principalmente do tipo B) consistem em pródromo transitório semelhante à doença do soro, abrangendo febre, exantema e poliartrite; vasculite necrosante (poliartrite nodosa); e glomerulonefrite. Foi sugerida a atuação de imunocomplexos circulantes como a causa dessas síndromes. As doenças associadas a infecções crônicas pelo HCV são a crioglobulinemia mista e a glomerulonefrite. As manifestações extra-hepáticas são incomuns nas infecções causadas pelo HAV.

A hepatite viral não complicada raramente persiste por mais de 10 semanas sem qualquer melhora. Recidivas ocorrem em 5 a 20% dos casos e manifestam-se por anormalidades da função hepática com ou sem recidiva dos sintomas clínicos.

O período de incubação mediano difere para cada tipo de hepatite viral (Quadro 35.4). Todavia, verifica-se considerável superposição no tempo, e o paciente pode não saber quando ocorreu a exposição, de modo que o período de incubação não tem muita utilidade na determinação da etiologia viral específica.

O início da doença tende a ocorrer de modo abrupto com o HAV (em 24 h), diferente do início mais insidioso observado com o HBV e o HCV. A recuperação completa ocorre na maioria dos casos de hepatite A; não tem sido observada cronicidade (Quadro 35.5). A doença é mais grave em adultos do que em crianças, nas quais frequentemente passa despercebida. Recidivas da infecção pelo HAV podem ocorrer 1 a 4 meses após a resolução dos sintomas iniciais.

A evolução após a infecção pelo HBV varia, desde recuperação completa até evolução para hepatite crônica e, raramente, para a morte em decorrência de doença fulminante. Em adultos, 65 a 80% das infecções são inaparentes, e 90 a 95% dos pacientes recuperam-se por completo. Em contrapartida, 80 a 95% dos lactentes e crianças pequenas infectados pelo HBV tornam-se portadores crônicos (Quadro 35.6), permanecendo o soro desses

QUADRO 35.5 Evoluções da infecção pelo vírus da hepatite A^a

Evolução	Transmissão ^a	
	Vertical (Ásia)	Parenteral, sexual
Idade no momento da infecção	Recém-nascidos, lactentes	Adolescentes, adultos
Recuperação da infecção aguda (%)	5	90 a 95
Progressão para infecção crônica (%)	95	5 a 10
Portadores crônicos ^b (% do total da população)	10 a 20	0,5

^aReproduzido, com autorização, de Hollinger FB, Ticehurst JR: Hepatitis A vírus. In: Fields BN, Knipe DM, Howley PM (editors-in-chief). *Fields Virology*, 3rd ed. Lippincott-Raven, 1996.

pacientes positivo quanto ao HBsAg. A maioria dos indivíduos com infecção crônica pelo HBV permanece assintomática durante muitos anos; pode ou não haver evidências bioquímicas ou histológicas de hepatopatia. Os portadores crônicos correm alto risco de desenvolver carcinoma hepatocelular.

Ocasionalmente, desenvolve-se hepatite fulminante durante a hepatite viral aguda, definida como encefalopatia hepática nas primeiras 8 semanas da doença em pacientes sem doença hepática prévia, e que é fatal em 70 a 90% dos casos, sendo a sobrevivência incomum depois dos 40 anos de idade. Doença fulminante pelo HBV está associada a superinfecção por outros agentes, como o HDV. Na maioria dos pacientes que sobrevivem, é regra a ocorrência de recuperação completa do parênquima hepático e normalização da função hepática. Doença fulminante raramente ocorre em infecções pelo HAV ou pelo HCV.

Em geral, a hepatite C é clinicamente leve com apenas elevação mínima a moderada das enzimas hepáticas. A hospitalização é rara e ocorre icterícia em menos de 25% dos casos. Apesar da natureza branda da doença, 70 a 90% dos casos evoluem para a hepatopatia crônica. A maioria dos pacientes é assintomática, porém a avaliação histológica frequentemente revela sinais de hepatite ativa crônica, em particular naqueles cuja doença é adquirida em consequência de transfusão. Muitos pacientes (20 a 50%) desenvolvem cirrose e são de alto risco para o desenvolvimento de carcinoma hepatocelular (5 a 25%) décadas mais tarde. Cerca de 40% dos casos de hepatopatia crônica estão relacionados com o HCV, resultando em uma estimativa de 8.000 a 10.000 mortes por ano nos EUA. A hepatopatia de estágio terminal associada ao HCV constitui a indicação mais frequente para o transplante de fígado em adultos.

Características laboratoriais

A biópsia hepática permite o estabelecimento do diagnóstico histológico de hepatite. As provas de função hepática anormais, como alanina-aminotransferase (ALT) e bilirrubina sérica, complementam os achados clínicos, patológicos e epidemiológicos.

QUADRO 35.6 Transmissão do vírus da hepatite B e espectro de evolução da infecção

Característica	Transmissão ^a		
	Vertical (Ásia)	Por contato (África)	Parenteral, sexual
Idade no momento da infecção	Recém-nascidos, lactentes	Crianças pequenas	Adolescentes, adultos
Recuperação da infecção aguda (%)	5	20	90 a 95
Progressão para infecção crônica (%)	95	80	5 a 10
Portadores crônicos ^b (% do total da população)	10 a 20	10 a 20	0,5

^aA transmissão vertical e a transmissão associada ao contato ocorrem em regiões endêmicas; as transmissões parenteral e sexual estão entre os principais modos de transmissão nas regiões não endêmicas.

^bCom alto risco de desenvolvimento de carcinoma hepatocelular.

A. Hepatite A

A Figura 35.7 mostra os eventos clínicos, virológicos e sorológicos observados após a exposição ao HAV. Partículas virais foram detectadas por meio de imunomicroscopia eletrônica em extratos fecais de pacientes com hepatite A (Fig. 35.1). O vírus aparece em um estágio inicial da doença e desaparece 2 semanas após o início da icterícia.

O HAV pode ser detectado no fígado, nas fezes, na bile e no sangue de seres humanos infectados naturalmente e de primatas não humanos infectados experimentalmente por meio de ensaios imunoenzimáticos, ensaios de hibridização do ácido nucleico e PCR. O HAV é detectado nas fezes cerca de 2 semanas antes até 2 semanas depois do aparecimento de icterícia.

O anti-HAV aparece na fração de IgM durante a fase aguda, atingindo um valor máximo cerca de 2 semanas após a elevação das enzimas hepáticas (Quadro 35.7). Em geral, a IgM anti-HAV declina para níveis não detectáveis em 3 a 6 meses. A IgG anti-HAV aparece pouco depois do início da doença e persiste por várias décadas. Por conseguinte, a detecção de anti-HAV específico da IgM no sangue de paciente com infecção aguda confirma o diagnóstico de hepatite A. O ensaio Elisa é o método de escolha para a determinação dos anticorpos anti-HAV.

B. Hepatite B

Os eventos clínicos e sorológicos que se seguem à exposição ao HBV são descritos na Figura 35.8 e resumidos no Quadro 35.8. A atividade da DNA polimerase, o DNA do HBV e o HBeAg, representativos do estado virêmico da hepatite B, aparecem no início do período de incubação, concomitantemente ao ou logo após o aparecimento inicial do HBsAg. Concentrações elevadas de partículas HBV podem estar presentes no sangue (até 10^{10} partículas/mL) durante a fase inicial da infecção; a contagiosidade é maior nessa época. Em geral, o HBsAg pode ser detectado 2 a 6 semanas

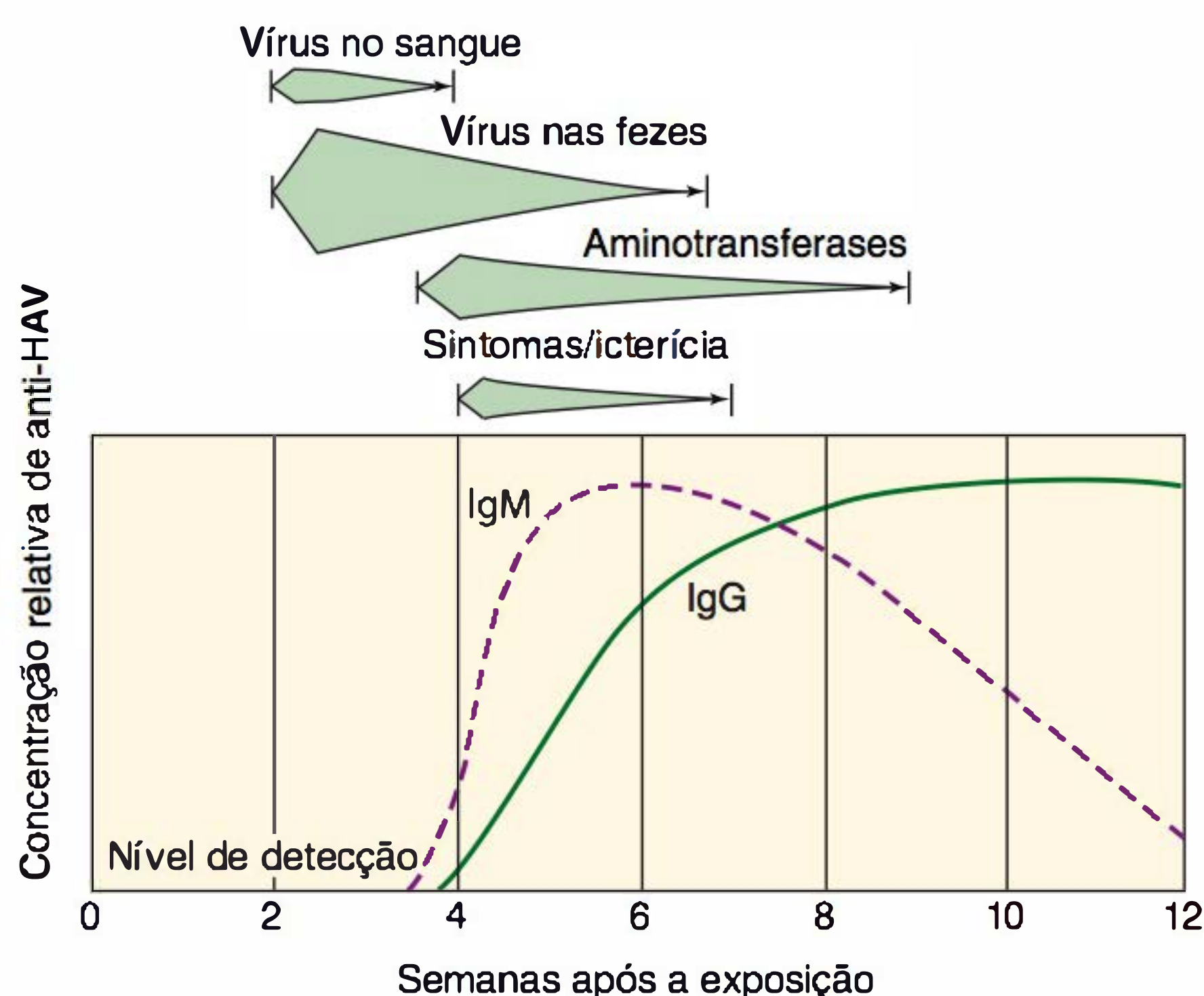


FIGURA 35.7 Eventos imunológicos e biológicos associados à infecção humana pelo vírus da hepatite A. (Reproduzida, com autorização, de Hollinger FB, Ticehurst JR: Hepatitis A virus. In Fields BN, Knipe DM, Howley PM [editors-in-chief]. Fields Virology, 3rd ed. Lippincott-Raven, 1996. Modificada, com autorização, de Hollinger FB, Dienstag JL: Hepatitis viruses. In *Manual of Clinical Microbiology*, 4th ed. American Society for Microbiology, 1985.)

QUADRO 35.7 Interpretação dos marcadores sorológicos de HAV, HCV e HDV em pacientes com hepatite

Resultados do teste	Interpretação
Anti-HAV IgM positivo	Infecção aguda pelo HAV
Anti-HAV IgG positivo	Infecção anterior com HAV
Anti-HCV positivo	Infecção corrente ou passada pelo HCV
Anti-HDV positivo, HBsAg positivo	Infecção pelo HDV
Anti-HDV positivo, anti-HBc IgM positivo	Coinfecção com HDV e HBV
Anti-HDV positivo, anti-HBc IgM negativo	Superinfecção de infecção crônica de HBV com HDV

Anti-HAV, anticorpos contra o vírus da hepatite A (HAV); anti-HBc, anticorpos contra antígeno do núcleo do vírus da hepatite B (HBV); anti-HCV, anticorpos contra o vírus da hepatite C (HCV); anti-HD, anticorpos contra o vírus da hepatite D (HDV); HbcAg, antígeno do núcleo do HBV; HbsAg, antígeno de superfície do HBV; IgG, imunoglobulina do isotipo G; IgM, imunoglobulina do isotipo M.

antes do aparecimento de sinais clínicos e bioquímicos de hepatite, persistindo durante toda a evolução clínica da doença mas em geral desaparecendo 6 meses após a exposição.

Níveis elevados de anti-HBc específico de IgM são frequentemente detectados no início da doença clínica. Como esse anticorpo é dirigido contra o componente do núcleo interno de 27 nm do HBV, seu aparecimento no soro indica a ocorrência de replicação viral. O anticorpo dirigido contra o HBsAg é detectado pela primeira vez no decorrer de um período variável após o desaparecimento do HBsAg; ocorre em baixas concentrações. Antes do desaparecimento do HBsAg, o HBeAg é substituído por anti-HBe, indicando o início do processo de resolução da doença. Os níveis de anti-HBe frequentemente não são mais detectáveis depois de 6 meses.

Por definição, os portadores crônicos de HBV são aqueles em que o HBsAg persiste por mais de 6 meses na presença de HBeAg ou anti-HBe. O HBsAg pode persistir por vários anos após a perda do HBeAg. Diferentemente dos títulos elevados de anti-HBc específico da IgM observados na doença aguda, baixos títulos de IgM anti-HBc são encontrados na maioria dos portadores crônicos de HBsAg. Pequenas quantidades de DNA do HBV em geral são detectáveis no soro enquanto o HBsAg estiver presente.

Os métodos mais úteis de detecção dos antígenos HBV e anticorpos consistem no ensaio Elisa e, para o DNA viral, a PCR.*

* N. de R.T. Em infecções com variantes de HBV, que não expressam HBeAg, não é possível diferenciar pacientes com ou sem replicação viral significativa. Mutações resultam em inabilidade do HBV para produzir o HBeAg, embora o vírus esteja se reproduzindo ativamente. Isto significa que por culpa destas mutações, pode-se ter um resultado negativo do HBeAg, porém nestes indivíduos o vírus se encontra ativo. Logo, é importante que testes de PCR quantitativos para avaliação da carga viral sejam realizados. Atualmente, no Brasil, a quantificação da carga viral é realizada por quatro metodologias distintas: I) PCR em tempo real, II) PCR-Elisa quantitativo, III) NASBA (Amplificação do ácido nucleico base) e IV) bDNA (DNA-ramificado). As três primeiras metodologias fazem a detecção e a quantificação de forma direta, amplificando o alvo. No 4º teste, a detecção e a quantificação ocorrem de forma indireta, por amplificação do sinal. Ocorre a hibridização do genoma viral com sondas e depois a amplificação do sinal do produto hibridizado.

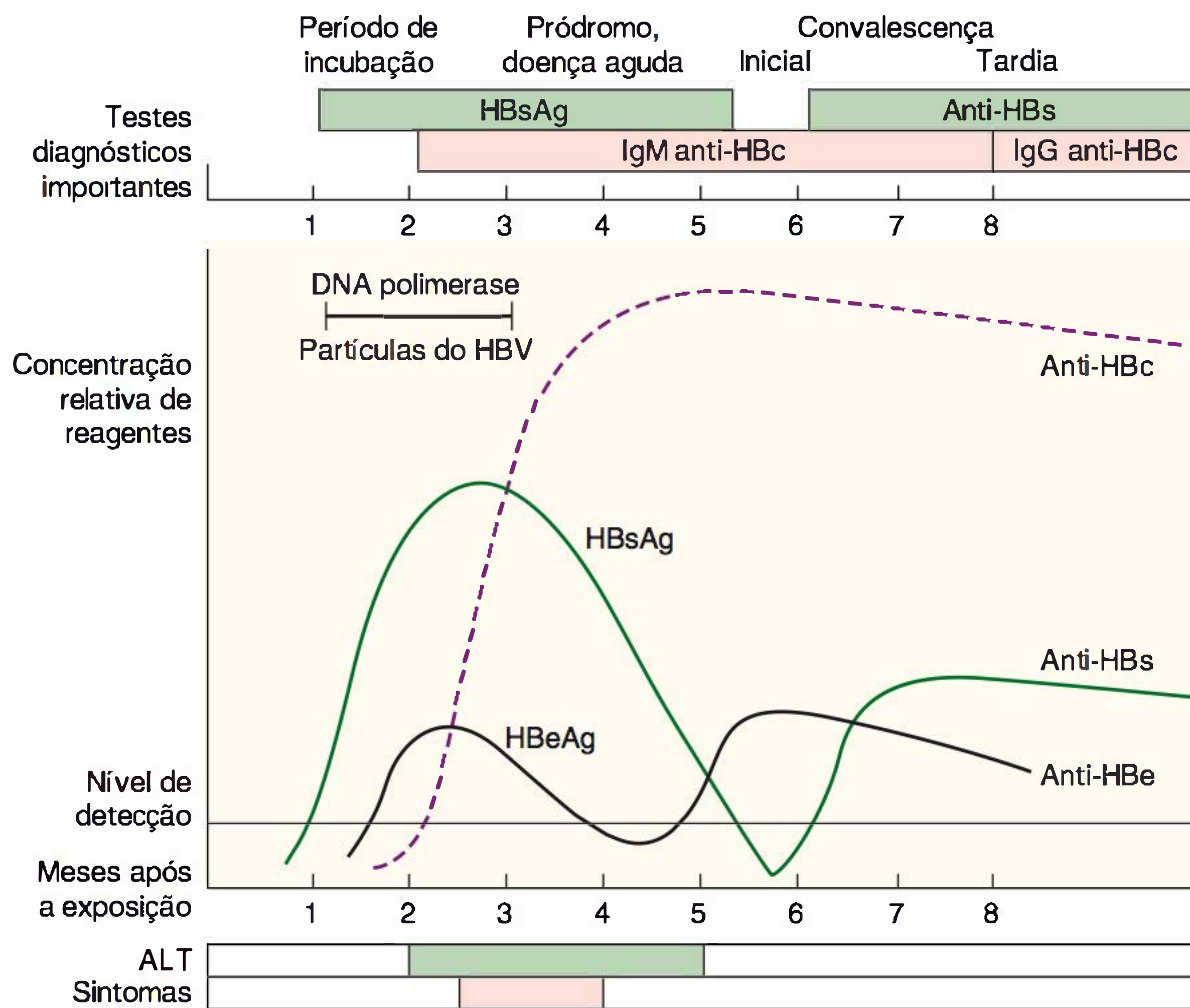


FIGURA 35.8 Eventos clínicos e sorológicos que ocorrem em um paciente com infecção aguda pelo vírus da hepatite B. Os testes diagnósticos comuns e sua interpretação são apresentados no Quadro 35.8. (ALT, alanina aminotransferase; anti-HBc, anticorpo para o cerne do vírus da hepatite B; anti-HBe, anticorpo para hepatite B e antígeno; anti-HBs, anticorpo para o antígeno de superfície do vírus da hepatite B; HBeAg, hepatite B e antígeno; HBsAg, antígeno de superfície do vírus da hepatite B, HBV, vírus da hepatite B; IgG, imunoglobulina G; IgM, imunoglobulina M) (Reproduzida, com autorização, de Hollinger FB, Dienstag JL, Murray PR: Hepatitis B and D viruses. In: *Manual of Clinical Microbiology*, 6th ed. Washington DC: ASM Press, 1995)

C. Hepatite C

Os eventos clínicos e sorológicos associados às infecções pelo HCV são mostrados na Figura 35.9. A maior parte das infecções primárias é assintomática ou clinicamente leve (20 a 30% apresentam icterícia, e 10 a 20% somente sintomas inespecíficos,

como anorexia, mal-estar e dor abdominal). Ensaios sorológicos estão disponíveis para o diagnóstico de infecção pelo HCV. Os ensaios imunoenzimáticos (Elisa) detectam anticorpos dirigidos contra o HCV, porém não distinguem entre infecção aguda, crônica ou que foi resolvida (Quadro 35.7). Os anticorpos anti-HCV podem ser detectados em 50 a 70% dos pacientes

QUADRO 35.8 Interpretação dos marcadores sorológicos do HBV em pacientes com hepatite^a

Resultados dos testes			Interpretação
HBsAg	Anti-HBs	Anti-HBc	
Positivo	Negativo	Negativo	Estágio inicial da infecção. É necessária a confirmação para se excluir reatividade inespecífica
Positivo	(±)	Positivo	Infecção aguda ou crônica pelo HBV. Diferenciar com a IgM anti-HBc. Determinar o nível de atividade de replicação (infectividade) com HBeAg ou com o DNA do HBV
Negativo	Positivo	Positivo	Indica infecção prévia pelo HBV e imunidade contra a hepatite B
Negativo	Negativo	Positivo	As possibilidades incluem: infecção pelo HBV em passado remoto; portador de HBV de "baixo nível"; "janela" entre o desaparecimento do HBsAg e o aparecimento de anti-HBs, ou reação falso-positiva ou inespecífica. Investigar com a IgM anti-HBc. Quando presente, o anti-HBc ajuda a validar a reatividade anti-HBc
Negativo	Negativo	Negativo	Nunca foi infectado pelo HBV. São possibilidades outro agente infeccioso, lesão tóxica no fígado, distúrbio imunológico, hepatopatia hereditária ou doença do trato biliar
Negativo	Positivo	Negativo	Resposta tipo vacinal

^a Reproduzido, com autorização, de Hollinger FB: Hepatitis B virus. In Fields BN, Knipe DM, Howley PM (editors-in-chief). *Fields Virology*, 3rd ed. Lippincott-Raven, 1996. Anti-HBc, anticorpo para o cerne do vírus da hepatite B; anti-HBe, anticorpo para hepatite B e antígeno; anti-HBs, anticorpo para o antígeno de superfície do vírus da hepatite B (HBsAg); HBeAg, hepatite B e antígeno; HBV, vírus da hepatite B; IgM, imunoglobulina M.

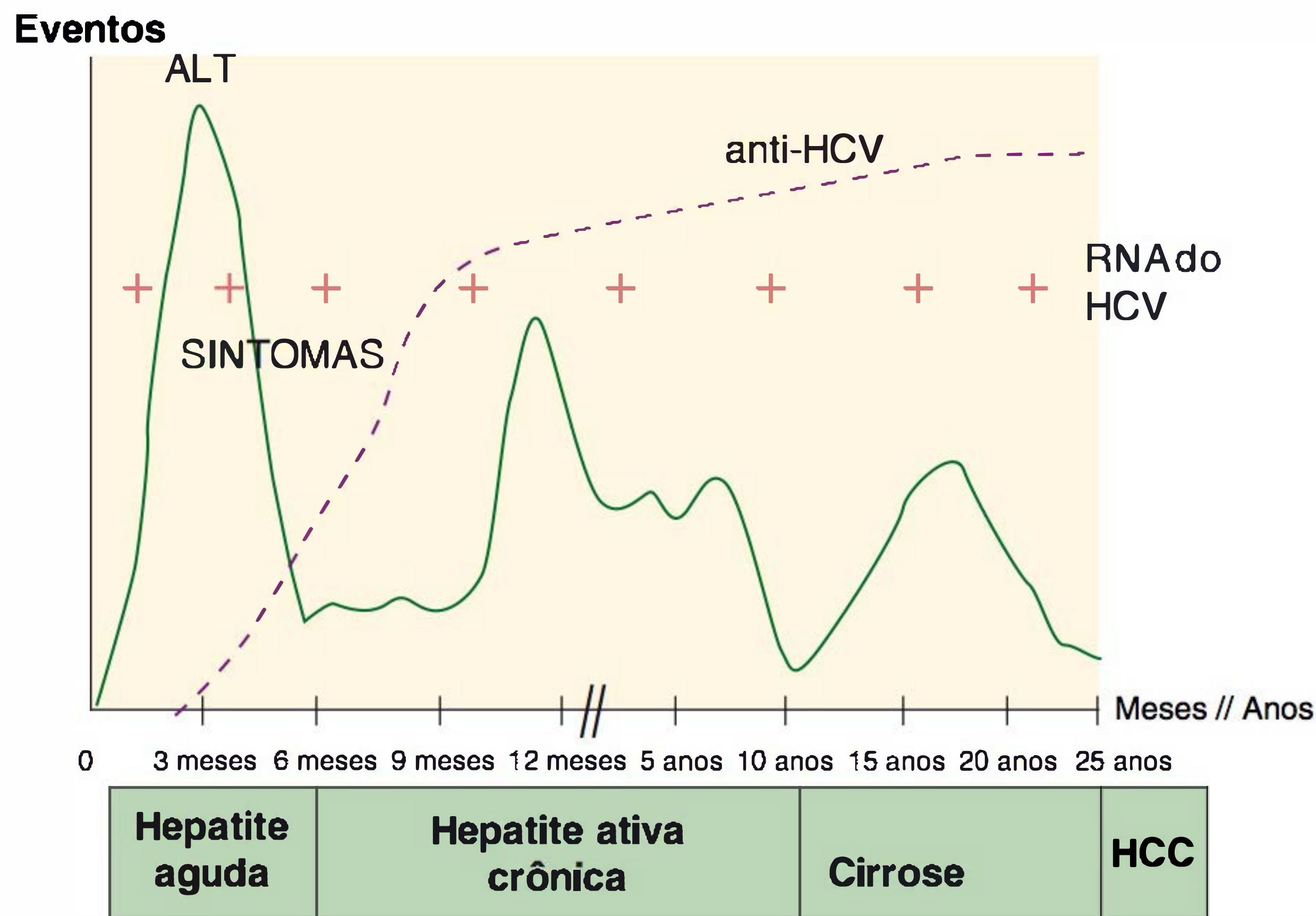


FIGURA 35.9 Eventos clínicos e sorológicos associados a infecções pelo vírus da hepatite C. ALT, alanina aminotransferase; anti-HCV, anticorpo para o vírus da hepatite C; HCC, carcinoma hepatocelular. (Reproduzida, com autorização, de Garnier L, Inchauspé G, Trépo C: Hepatitis C vírus. In Richman DD, Whitley RJ, Hayden FG [editors]. *Clinical Virology*, 2nd ed. ASM Press, 2002. Washington, DC.)

em início dos sintomas, enquanto em outros o surgimento de anticorpos pode levar 3 a 6 semanas. Os anticorpos são direcionados contra o núcleo, o envelope e proteínas NS3 e NS4, tendendo a apresentar títulos relativamente baixos. Os ensaios baseados nos ácidos nucleicos (p. ex., transcrição reversa — reação em cadeia da polimerase [RT-PCR] detectam a presença de RNA do HCV circulante e mostram-se úteis para a monitoração de pacientes submetidos a terapia antiviral. Os ensaios dos ácidos nucleicos também são utilizados para genotipagem dos HCV isolados.

Infecções ocultas pelo HBV ocorrem com frequência (cerca de 33% dos casos) em pacientes com hepatopatia crônica pelo HCV. As infecções ocultas são aquelas em que os pacientes carecem de HBsAg detectável, porém o DNA do HBV pode ser identificado em amostras de fígado ou soro. Estas infecções não reconhecidas pelo HBV podem ser clinicamente importantes.

D. Hepatite D

A Figura 35.10 e o Quadro 35.7 mostram os padrões sorológicos observados após a infecção pelo HDV. Como o HDV depende de infecção coexistente pelo HBV, a infecção aguda tipo D ocorre como infecção simultânea (coinfecção) pelo HBV ou superinfecção de um indivíduo cronicamente infectado pelo HBV. No padrão de coinfecção, anticorpos dirigidos contra o HDAg são produzidos tardiamente na fase aguda da infecção e podem estar em títulos baixos. Os ensaios para o HDAg ou RNA do HDV no soro, ou para o anti-HDV específico da IgM são preferíveis. Todos os marcadores da replicação do HDV desaparecem durante a convalescença; mesmo os anticorpos anti-HDV podem desaparecer em meses a anos. Entretanto, a superinfecção pelo HDV geralmente resulta em infecção

persistente por esse vírus (mais de 70% dos casos). Os níveis elevados de IgM e IgG anti-HDV persistem assim como os de RNA do HDV e HDAg. As superinfecções pelo HDV podem estar associadas à hepatite fulminante.

Interações vírus-hospedeiro

Atualmente, há provas da existência de pelo menos cinco vírus da hepatite — tipos A, B, C, D e E. Acredita-se que a existência de infecção isolada por qualquer um deles possa conferir proteção homóloga, mas não heteróloga, contra a reinfeção. Uma possível exceção pode ser o HCV, em que a reinfeção pode ocorrer.

A maioria dos casos de hepatite tipo A presumivelmente ocorre sem icterícia na infância e, em uma fase avançada da vida adulta, verifica-se o aparecimento de resistência disseminada à reinfeção. Entretanto, os estudos sorológicos realizados nos EUA e diversos países asiáticos indicam que a incidência de infecção pode estar diminuindo em decorrência da melhora das condições sanitárias, com a elevação do padrão de vida, aliada à expansão do uso de vacina em alguns países. Foi estimado que até 60 a 90% dos adultos jovens de renda média a alta nos EUA podem ser suscetíveis a desenvolver hepatite A.

A infecção pelo HBV de um subtipo específico — como, por exemplo, HBsAg/adw — parece conferir imunidade aos outros subtipos de HBsAg, provavelmente devido à sua especificidade de grupo *a* comum. Os mecanismos imunopatogênicos que resultam em persistência do vírus e lesão hepatocelular na hepatite B ainda não foram elucidados. Como o vírus não é citopático, acredita-se que a lesão hepatocelular que surge durante a doença aguda possa representar

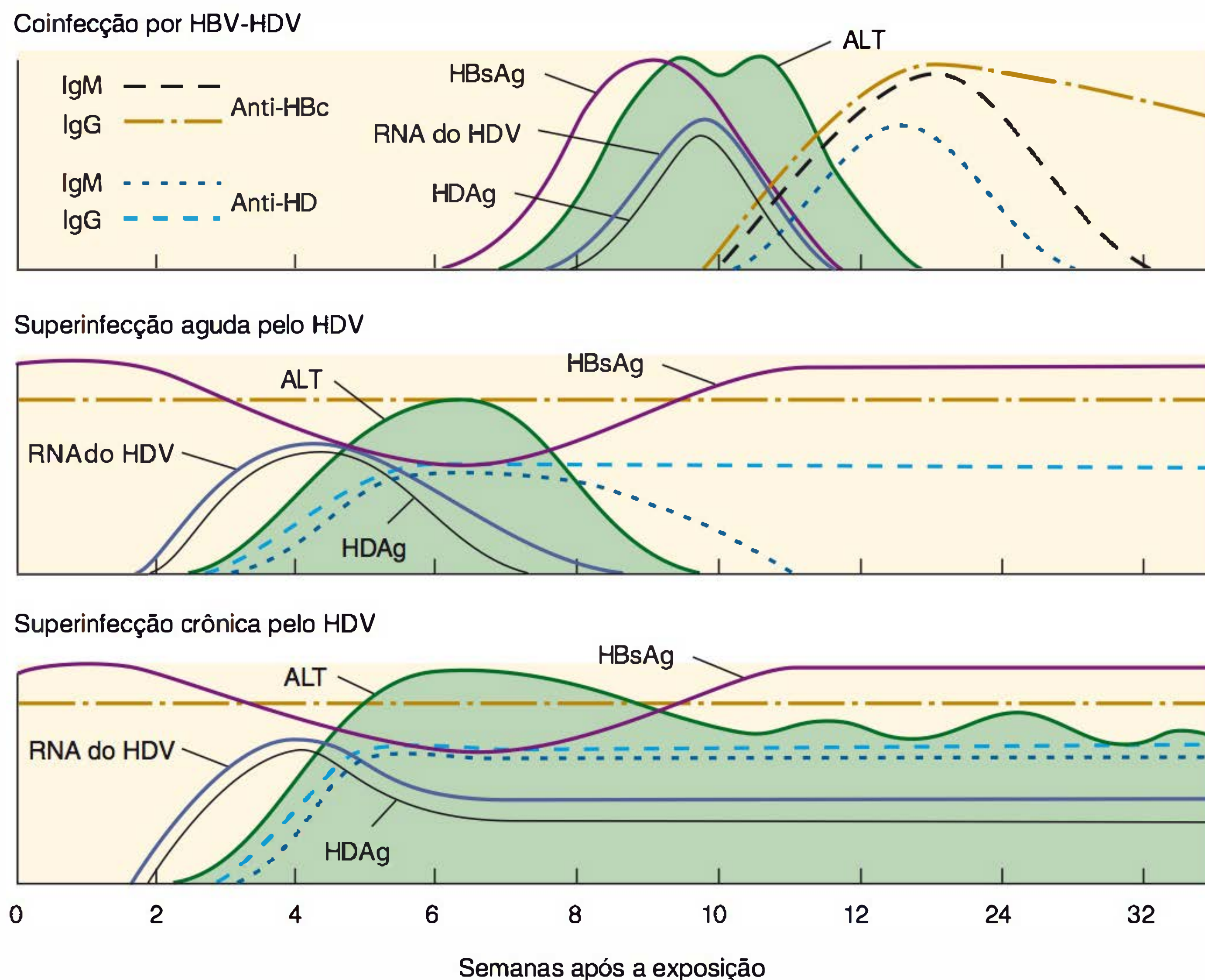


FIGURA 35.10 Padrões sorológicos da hepatite D após coinfeção, ou superinfecção do indivíduo com infecção pelo HBV. **Em cima:** Hepatites B e D agudas coexistentes. **No meio:** Hepatite B aguda superposta a uma infecção crônica do vírus da hepatite B. (ALT, alanina aminotransferase; anti-HBc, anticorpo para o cerne do vírus da hepatite B; anti-HD, anticorpo para o antígeno delta, HBsAg, antígeno de superfície do vírus da hepatite B, HDAg, antígeno delta; HDV, vírus da hepatite D; IgG, imunoglobulina G, IgM, imunoglobulina M). **Embaixo:** Hepatite D aguda que evolui para a hepatite crônica, superposta à infecção crônica pelo vírus da hepatite B. (Reproduzida, com autorização, de Purcell RH et al.: *Hepatitis*. In Schmidt NJ, Emmons RW [editors]. *Diagnostic Procedures for Viral, Rickettsial and Chlamydial Infections*, 6th ed. American Public Health Association, 1989.)

um ataque imunológico do hospedeiro contra os hepatócitos infectados pelo HBV.

As respostas do hospedeiro, tanto imunológicas quanto genéticas, são consideradas responsáveis pela frequência de cronicidade do HBV em indivíduos infectados quando lactentes. Cerca de 95% dos recém-nascidos infectados ao nascimento tornam-se portadores crônicos do vírus, frequentemente durante toda a vida (Quadro 35.6). Esse risco diminui uniformemente com o decorrer do tempo, de modo que o risco de um adulto infectado se tornar portador cai para 10%. É mais provável que ocorra carcinoma hepatocelular em adultos que sofreram infecção pelo HBV quando muito jovens, tornando-se portadores. Por conseguinte, para que a vacinação tenha eficácia máxima contra o estado de portador, cirrose e hepatoma, deve ser administrada durante a primeira semana de vida.

Os genótipos 1 a 4 do HCV são os tipos predominantes em circulação nos países do Ocidente e apresentam algumas características diferenciais. O genótipo 1 é predominante na América do Norte, no Japão e na Europa Ocidental; apresenta a resposta mais fraca à terapia por interferon (IFN) e pode apresentar um efeito mais deletério na progressão da doença pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV) tipo 1 do que os outros genótipos do HCV. Diferentemente, o genótipo 2 responde melhor

às terapias baseadas no interferon. O genótipo 3 apresenta a maior taxa de depuração espontânea, enquanto o genótipo 4 parece ter a mais alta frequência de evoluir de uma infecção aguda para crônica.

Pouco se conhece sobre a resposta imunológica do hospedeiro ao HCV. A maior parte das infecções agudas é assintomática ou suave, e as infecções crônicas normalmente progridem lentamente e de forma insidiosa. Parece que a resposta imunológica é lenta para se desenvolver e relativamente fraca, refletindo o fato de que o HCV particularmente possui sistemas de evasão ao sistema imunológico eficazes.

Epidemiologia

A distribuição global das infecções pelas hepatites A, B e C é mostrada na Figura 35.11. Existem acentuadas diferenças nas características epidemiológicas dessas infecções (Quadro 35.4).

Nos EUA, o risco de transmissão desses vírus por transfusão sofreu uma redução acentuada em decorrência de testes de rastreamento aprimorados e do estabelecimento de populações de doadores voluntários. Em 1996, calculou-se que o risco de transmissão do HBV por transfusão sanguínea era de 1:63.000 e do HCV, de 1:103.000.

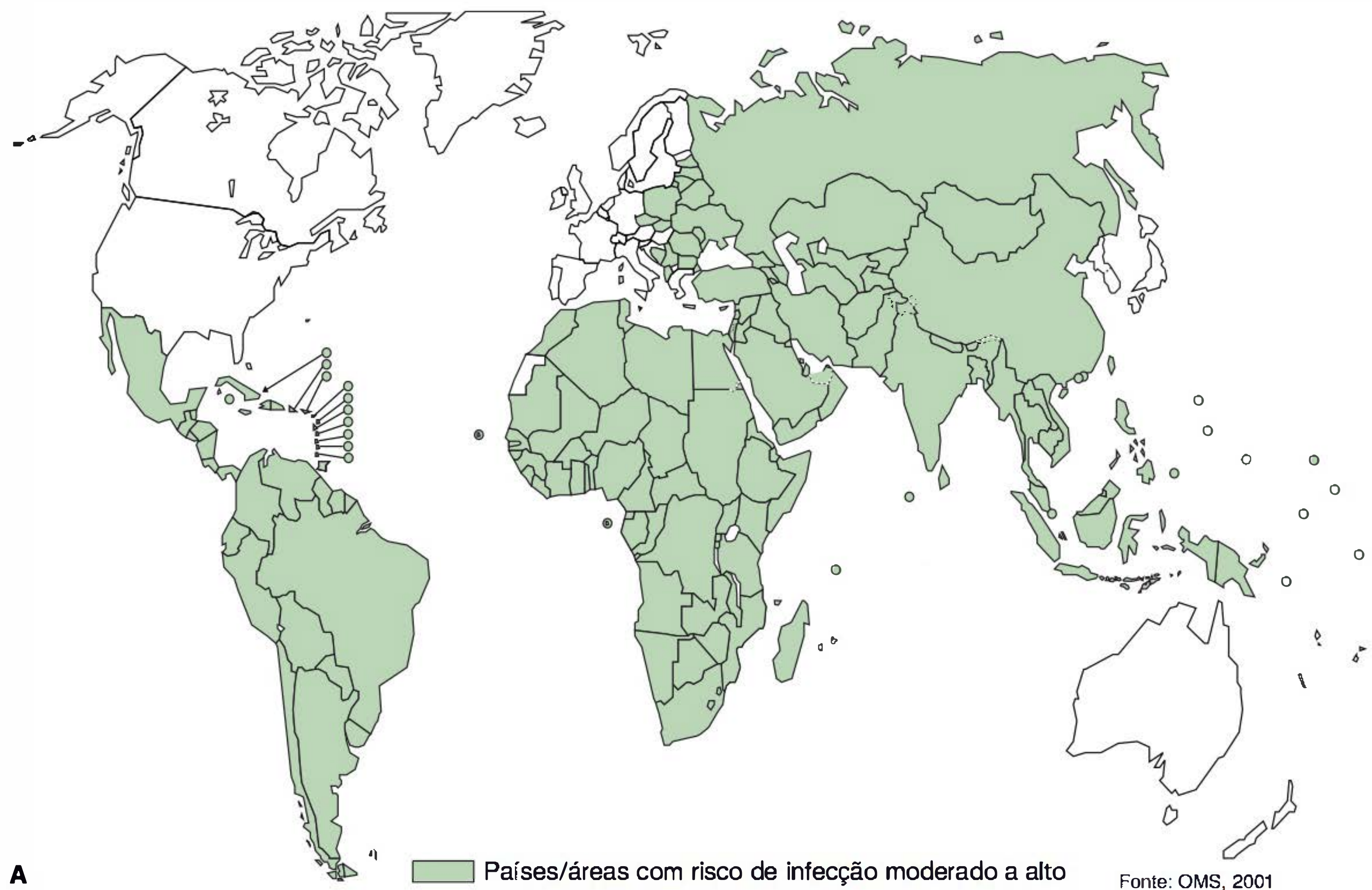


FIGURA 35.11 Distribuição global dos vírus das hepatites que causaram doença em seres humanos em 2001. (A) Vírus da hepatite A. (B) Vírus da hepatite B. (C) Vírus da hepatite C. (Fonte: OMS, 2001.)

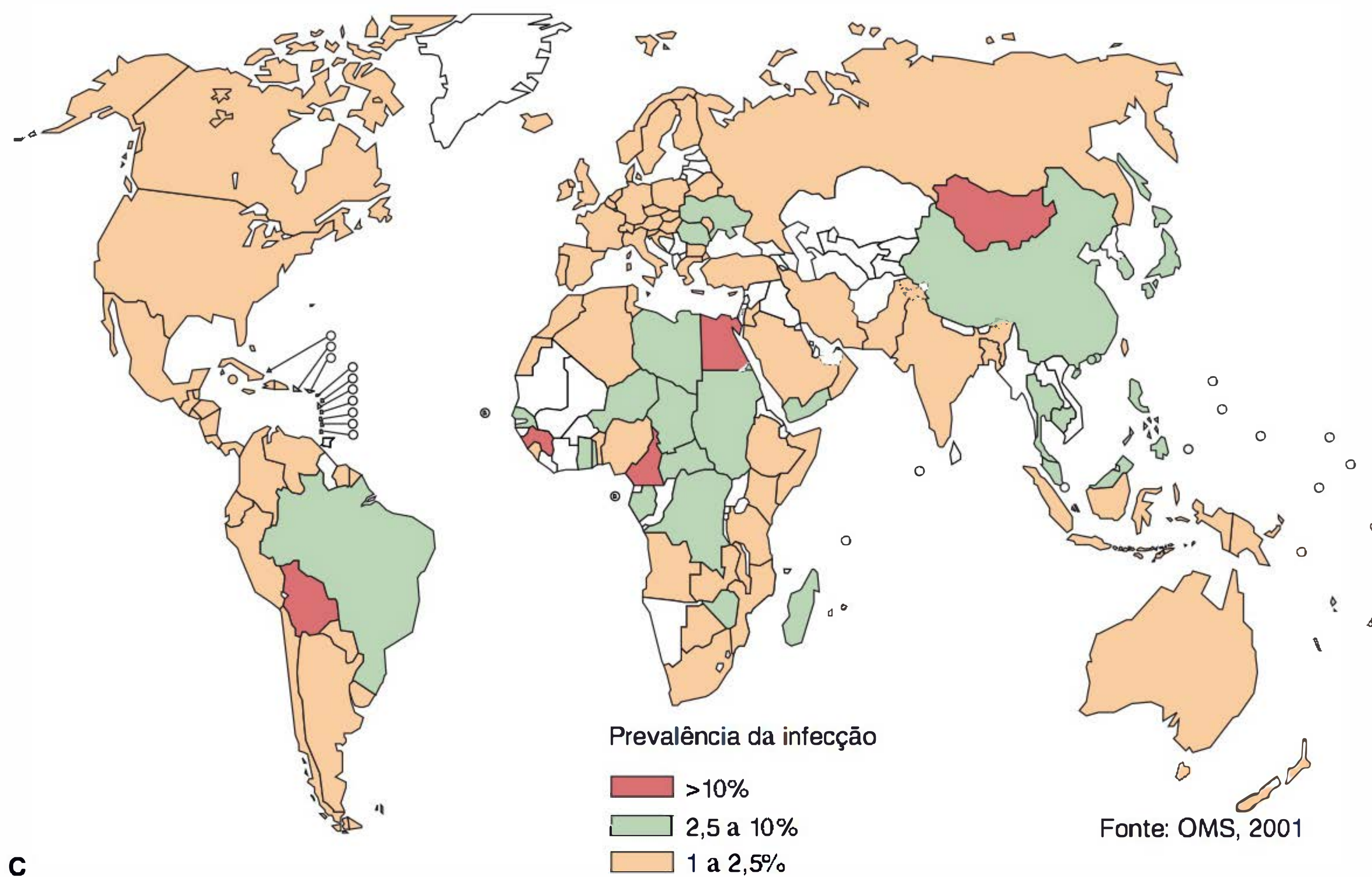


FIGURA 35.11 (Continuação)

A. Hepatite A

O HAV tem distribuição disseminada no mundo inteiro. Os surtos de hepatite A são comuns em famílias e instituições, acampamentos de férias, creches, unidades neonatais de tratamento intensivo e tropas militares. Nessas condições, a forma mais provável de transmissão é a via orofecal por contato pessoal íntimo. As amostras de fezes podem ser infecciosas por até 2 semanas antes e 2 semanas depois do surgimento de icterícia.

Em condições de aglomerações e sanitárias precárias, as infecções pelo HAV ocorrem em uma idade precoce; a maioria das crianças, nessas circunstâncias, torna-se imune aos 10 anos de idade. A doença clínica é incomum nos lactentes e nas crianças em geral. A doença manifesta-se mais frequentemente em crianças e adolescentes, sendo as taxas mais elevadas observadas em indivíduos entre 5 e 14 anos de idade. A relação entre os casos anictéricos e os ictéricos em adultos é de cerca de 1:3; em crianças, pode atingir 12:1. Entretanto, a excreção fecal do antígeno e do RNA do HAV persiste por mais tempo em crianças do que em adultos.

As epidemias recorrentes constituem uma característica proeminente. Em geral, as epidemias súbitas e explosivas de hepatite A resultam da contaminação fecal de uma única fonte (p. ex., água potável, alimentos ou leite). O consumo de ostras cruas ou mexilhões inadequadamente cozidos provenientes de água poluída com esgoto também levou a vários surtos de hepatite. O maior surto desse tipo foi observado em Xangai em 1988, quando mais de 300.000 casos de hepatite A foram atribuídos a mexilhões não cozidos provenientes de água poluída. Nos EUA, em 1997, um surto decorrente da transmissão por

meio de alimentos ocorreu em vários estados, tendo sido atribuído a morangos congelados.

Outras fontes identificadas de infecção potencial são representadas por primatas não humanos. Houve mais de 35 surtos em que primatas, geralmente chimpanzés, infectaram seres humanos que mantinham contato pessoal próximo com os animais.

O HAV é raramente transmitido pelo uso de agulhas e seringas contaminadas, ou pela administração de sangue. A hepatite A associada a transfusão é rara, uma vez que o estágio virêmico da infecção ocorre durante a fase prodrômica e é de curta duração, os títulos de anticorpos no sangue são baixos e não existe estado de portador. Entretanto, um relatório publicado em 1996 documentou a transmissão do HAV para hemofílicos por concentrados dos fatores de coagulação. Existem poucas evidências de transmissão do HAV por exposição a urina ou secreções nasofaríngeas de pacientes infectados. A hemodiálise não desempenha papel algum na propagação da hepatite A tanto para pacientes quanto para a equipe médica.

Nos EUA, na era pré-vacina estimava-se 271.000 infecções por ano. Desde o advento das vacinas contra a hepatite A, as taxas de infecção caíram expressivamente para um número estimado de 3.500 casos em 2006.

Entre os grupos que apresentam maior risco de contrair hepatite A estão os viajantes para países em desenvolvimento, homens que têm relações sexuais com outros homens, usuários de drogas injetáveis e não injetáveis, pessoas com distúrbios nos fatores de coagulação e pessoas que trabalham com primatas não humanos. Indivíduos com doença hepática crônica correm maior risco de contrair hepatite fulminante se ocorrer uma infecção por hepatite A. Esses grupos devem ser vacinados.

B. Hepatite B

O HBV tem distribuição mundial. O modo de transmissão e a resposta à infecção variam conforme a idade do indivíduo por ocasião da infecção (Quadro 35.6). A maioria dos indivíduos infectados quando lactentes desenvolve infecção crônica. Quando adultos, são propensos a desenvolver hepatopatia e correm alto risco de apresentar carcinoma hepatocelular. Existem mais de 250 milhões de portadores, dos quais cerca de 1 milhão reside nos EUA; 25% dos portadores desenvolvem hepatite ativa crônica. No mundo, 1 milhão de mortes por ano é atribuído a hepatopatia e carcinoma hepatocelular relacionados com o HBV. Há um elevado percentual de infecções pelo HBV entre indivíduos infectados por HIV, com uma prevalência de 38% em 2008 nos EUA.

Os principais modos de transmissão de HBV durante a infância são de uma mãe infectada para o recém-nascido durante o parto e por contato domiciliar da mãe infectada para o bebê.

A infecção pelo HBV não exhibe tendência sazonal nem predileção notável por qualquer faixa etária, embora existam grupos definidos de alto risco, como usuários de drogas por via parenteral, pessoas internadas, profissionais da área de saúde, pacientes submetidos a várias transfusões e a transplante de órgãos, pacientes de hemodiálise e equipe médica, pessoas altamente promíscuas e recém-nascidos de mães com hepatite B. Desde a instituição do rastreamento obrigatório dos doadores de sangue para HBsAg, o número de casos de hepatite associada a transfusões foi notavelmente reduzido. As pessoas têm sido infectadas por seringas, agulhas ou bisturis inadequadamente esterilizados, e até mesmo por tatuagem ou perfuração de orelhas. A relação estimada entre as infecções anictéricas e as ictericas atinge 4:1.

Existem outros modos de transmissão da hepatite B. O HBsAg pode ser detectado na saliva, em lavados nasofaríngeos, no sêmen, no líquido menstrual e nas secreções vaginais bem como no sangue. A transmissão dos portadores para contatos íntimos ocorre por via oral ou sexual ou por outra exposição íntima. Existem fortes evidências de transmissão a partir de pessoas com doença subclínica e de portadores de HBsAg para parceiros homossexuais e heterossexuais de longa data. A transmissão por via orofecal não foi documentada. Lembrando o fato de que pode haver mais de 1 bilhão de virions por mililitro de sangue de um portador HBeAg-positivo, e que o vírus mostra-se resistente à desidratação, é preciso admitir que todos os líquidos corporais dos pacientes infectados pelo HBV podem ser infecciosos. As infecções subclínicas são comuns, e essas infecções não reconhecidas constituem o principal risco para a equipe hospitalar.

Os profissionais da área de saúde (médicos-cirurgiões, cirurgiões-dentistas, patologistas e outros médicos, enfermeiros, técnicos de laboratório e equipes dos bancos de sangue) apresentam maior incidência de hepatite e prevalência de HBsAg ou anti-HBs detectáveis do que as pessoas que não têm exposição ocupacional a pacientes ou a hemoderivados. O risco que esses portadores de HBsAg aparentemente saudáveis (sobretudo cirurgiões-clínicos e cirurgiões-dentistas) representam para os pacientes sob seus cuidados ainda não foi determinado, embora provavelmente seja pequeno.

As infecções pelo vírus da hepatite B são comuns entre os pacientes e equipes de unidades de hemodiálise. Até 50% dos

pacientes submetidos à diálise renal que contraem hepatite B podem tornar-se portadores crônicos de HBsAg em comparação com os 2% da equipe médica, o que ressalta as diferenças na resposta imunológica do hospedeiro. Os contatos familiares também correm risco elevado.

O período de incubação da hepatite B é de 50 a 180 dias, com duração média de 60 a 90 dias. O período de incubação parece variar de acordo com a dose de HBV e a via de administração, sendo prolongado em pacientes que recebem uma dose baixa do vírus ou que são infectados por via não percutânea.

C. Hepatite C

As infecções pelo HCV são observadas em todo o mundo. Em 1997, a OMS estimou que cerca de 3% da população mundial estava infectada, com taxas de prevalência altas de até 10% em subgrupos de populações na África. Outras áreas de prevalência elevada são encontradas na América do Sul e na Ásia. Estima-se que existam mais de 170 milhões de portadores crônicos no mundo inteiro, com risco de desenvolver cirrose hepática, câncer hepático ou ambos, e que mais de 3 milhões destes residam nos EUA.

O HCV é transmitido principalmente através de exposição percutânea direta ao sangue, embora não se possa identificar a origem do HCV em 10 a 50% dos casos. Por ordem aproximadamente decrescente de prevalência, encontram-se os usuários de drogas injetáveis (cerca de 80%), hemofílicos tratados com produtos que contenham fatores de coagulação antes de 1987, receptores de transfusão a partir de doadores HCV positivos, pacientes submetidos a hemodiálise crônica (10%), pessoas que têm práticas sexuais de alto risco e profissionais da área de saúde (1%). O vírus pode ser transmitido da mãe para o lactente, embora não tão frequentemente quanto o HBV. Estima-se que a transmissão vertical de mãe para filho varie de 3 a 10%. As mães com altas cargas virais ou coinfeção pelo HIV transmitem com mais frequência o HCV. Não há risco de transmissão associado ao aleitamento materno.

O HCV foi encontrado na saliva de mais de 33% dos pacientes com HCV coinfectados pelo HIV. O HCV tem sido transmitido por meio de preparações comerciais de imunoglobulina intravenosa, inclusive um surto nos EUA em 1994. A população do Egito apresenta elevada prevalência do HCV (cerca de 20%). A transmissão do HCV foi associada a uma tentativa (da década de 1950 até a de 1980) de tratar a doença parasitária esquistossomose por meio de uma terapia que envolvia várias injeções, muitas vezes com agulhas inadequadamente esterilizadas ou reutilizadas. A infecção pelo HCV tem sido associada à aplicação de tatuagens e a práticas de medicina popular. Em 2009, houve um caso em que o HCV foi transmitido por transplante de órgão proveniente de um doador HCV positivo.

O período de incubação do HCV é, em média, de 6 a 7 semanas. O tempo médio entre a exposição e a soroconversão é de 8 a 9 semanas, e cerca de 90% dos pacientes são anti-HCV-positivos em 5 meses.

D. Hepatite D (agente delta)

O HDV é encontrado em todo o mundo, mas sua distribuição não é uniforme. A maior prevalência foi registrada na Itália, no Oriente Médio, na Ásia Central, na África Ocidental e na

América do Sul. Infecta indivíduos de todas as faixas etárias. Os indivíduos que correm alto risco são os que receberam várias transfusões, usuários de drogas injetáveis e seus contatos íntimos.

Acredita-se que as vias primárias de transmissão sejam semelhantes as do HBV, embora o HDV não pareça uma doença transmitida sexualmente. A infecção depende da replicação do HBV, visto que o HBV fornece um envelope de HBsAg para o HDV. O período de incubação varia de 2 a 12 semanas, sendo mais curto em portadores de HBV superinfectados pelo agente do que em indivíduos suscetíveis simultaneamente infectados pelo HBV e pelo HDV. O HDV é transmitido no período perinatal, mas felizmente não se mostra prevalente nas regiões do mundo (como a Ásia) nas quais é frequente a transmissão perinatal do HBV.

Dois padrões epidemiológicos de infecção pelo agente δ foram identificados. Nos países do Mediterrâneo, a infecção pelo agente δ é endêmica entre as pessoas com hepatite B, e acredita-se que a maioria das infecções seja transmitida por contato íntimo. Em áreas não endêmicas, como os EUA e a Europa setentrional, a infecção pelo agente δ limita-se a indivíduos expostos frequentemente a sangue e hemoderivados, principalmente dependentes de drogas e hemofílicos.

A hepatite δ pode ocorrer em surtos explosivos, afetando populações inteiras localizadas de portadores da hepatite B. Surtos de hepatite δ grave, frequentemente fulminante e crônica, ocorreram durante décadas, em populações isoladas nas bacias do Orinoco e da Amazônia. Nos EUA, foi constatada a participação do HDV em 20 a 30% dos casos de hepatite B crônica, em exacerbações agudas de hepatite B crônica e na hepatite B fulminante, e 3 a 12% dos doadores de sangue com HBsAg sérico apresentam anticorpos dirigidos contra o HDV. A hepatite δ não é uma doença nova, visto que lotes de globulina preparados a partir de plasma coletado nos EUA há mais de 40 anos contêm anticorpos anti-HDV.

Tratamento

O tratamento dos pacientes com hepatite é de suporte e objetiva permitir a resolução bem como o reparo da lesão hepatocelular. Apenas as infecções pelo HBV e HCV têm tratamentos específicos, parcialmente eficazes.

No momento atual, o IFN- α recombinante e o IFN- α peguilado são o tratamento de benefício comprovado para os pacientes com infecção crônica pelo HBV ou HCV. Muitos dos que responderam clínica e bioquimicamente sofreram recidiva após a interrupção do tratamento. Somente 35% dos pacientes com infecção crônica pelo HBV tiveram remissões de longa duração, e cerca de 25% dos pacientes com infecção crônica pelo HCV tiveram uma resposta sustentada. A terapia baseada no IFN está associada a muitos efeitos colaterais.

Vários antivirais estão disponíveis para uso contra as infecções crônicas por hepatites. Com o emprego de análogos de nucleosídeos e nucleotídeos, como a lamivudina (Quadro 30.6), os níveis de DNA do HBV estão reduzidos, mas o vírus raramente é eliminado e a replicação viral recomeça na maioria dos pacientes quando se interrompe o tratamento. A emergência de vírus mutantes resistentes em terapias de longo prazo são o problema principal. A terapia de combinação

com IFN- α e ribavirina contra a hepatite C crônica proporciona uma taxa de resposta duradoura de até 50%, embora essa forma de terapia seja menos bem-sucedida em pacientes com genótipo 1. Dois novos fármacos contra o HCV, boceprevir e o telaprevir (ambos inibidores de protease), foram aprovados nos EUA em 2011.

O transplante ortotópico de fígado é um tratamento para as hepatites B e C crônicas em estágio final de dano hepático. Entretanto, o risco de reinfeção do órgão transplantado é de pelo menos 80% com o HBV e de 50% com o HCV, presumivelmente dos reservatórios extra-hepáticos no corpo.

Prevenção e controle

Existem vacinas virais e preparações de imunoglobulina protetora disponíveis contra o HAV e o HBV. Entretanto, atualmente não se dispõe de qualquer tipo de reagente para prevenção das infecções pelo HCV.

A. Precauções universais

Procedimentos ambientais simples podem limitar o risco de infecção em profissionais da área de saúde, equipes de laboratório e outras pessoas. Com essa abordagem, o sangue, os líquidos orgânicos e os materiais contaminados devem ser tratados como se fossem infecciosos para HIV, HBV, HCV e outros patógenos transmitidos pelo sangue. As exposições que podem colocar trabalhadores em risco de infecção incluem acidentes com perfurações cutâneas (p. ex., agulha de injeção) ou contato da mucosa ou da pele lesionada (ressecamento, cortes, dermatites) com sangue, tecido ou outros fluidos corporais potencialmente infecciosos. Foram desenvolvidos métodos para evitar o contato com esses tipos de amostra. São exemplos de precauções específicas o uso de luvas ao manipular qualquer material potencialmente infeccioso; a utilização de roupas protetoras, que devem ser retiradas antes de se deixar a área de trabalho; o uso de máscara e de proteção para os olhos, se houver a possibilidade de respingos ou gotículas de material infeccioso; o uso exclusivo de agulhas descartáveis; as agulhas devem ser descartadas diretamente em recipientes especiais; as superfícies de trabalho devem ser descontaminadas com solução de alvejante; e o pessoal do laboratório deve evitar pipetar com a boca, consumir alimentos, ingerir líquidos e fumar na área de trabalho. Os objetos e instrumentos metálicos podem ser desinfetados por autoclavagem ou por exposição ao gás óxido de etileno.

B. Hepatite A

As vacinas com HAV inativado por formol, preparadas a partir de vírus adaptados em cultura de células, foram aprovadas nos EUA em 1995, sendo seguras, eficazes e recomendadas para uso a partir de 1 ano de idade.

A vacinação rotineira de todas as crianças agora é recomendada, assim como a vacinação de pessoas com risco aumentado, inclusive viajantes internacionais, homens que praticam relações sexuais com outros homens, e usuários de drogas.

Até que todos os grupos de risco suscetíveis sejam imunizados, a prevenção e o controle da hepatite A ainda devem dar ênfase à interrupção da cadeia de transmissão e ao uso de imunização passiva.

O aparecimento de hepatite em acampamentos ou instituições é frequentemente uma indicação de condições sanitárias e de higiene pessoal precárias. As medidas de controle visam à prevenção da contaminação fecal da água, dos alimentos e de outras fontes pelo indivíduo. Uma higiene razoável, como lavar as mãos, usar pratos e talheres descartáveis, bem como utilizar hipoclorito de sódio a 0,5% (p. ex., diluição de 1:10 de água sanitária como desinfetante) é essencial para se prevenir a disseminação do HAV durante a fase aguda da doença.

A imunoglobulina (γ -globulina) (IG) é preparada a partir de grandes misturas de plasma normal de adultos e confere proteção passiva em cerca de 90% dos indivíduos expostos ao vírus, quando administrada 1 a 2 semanas após a exposição à hepatite A. Contudo, seu valor profilático diminui com o tempo, e sua administração não é indicada 2 semanas após a exposição ao vírus ou após o aparecimento dos sintomas clínicos. Nas doses geralmente prescritas, a IG não impede a infecção, mas torna-a discreta ou subclínica, permitindo o desenvolvimento de imunidade ativa. A vacina contra o HAV confere imunidade mais duradoura e deverá substituir o uso da IG.

C. Hepatite B

Uma vacina para a hepatite B está disponível desde 1982. A vacina inicial era preparada por purificação do HBsAg associado a partículas de 22 nm de portadores saudáveis HBsAg-positivos e tratamento das partículas com agentes inativadores de vírus (formol, ureia, calor). As preparações que contêm partículas intactas de 22 nm são altamente eficazes na redução da infecção pelo HBV. Embora as vacinas derivadas do plasma ainda sejam utilizadas em certos países, nos EUA foram substituídas por vacinas derivadas do DNA recombinante. Essas vacinas consistem em HBsAg produzido por DNA recombinante em leveduras ou em linhagens celulares contínuas de mamíferos. O HBsAg expresso nas leveduras forma partículas de 15 a 30 nm de diâmetro, com as características morfológicas do antígeno de superfície livre no plasma, embora o antígeno polipeptídico produzido por levedura recombinante não seja glicosilado. A vacina formulada com a utilização desse material purificado apresenta potência semelhante à da vacina preparada a partir de antígeno derivado do plasma.

Atualmente, a OMS, os Centers for Disease Control and Prevention e o Advisory Committee on Immunization Practices recomendam a profilaxia pré-exposição com a vacina contra a hepatite B comercialmente disponível para todos os grupos de alto risco suscetíveis. Nos EUA, a vacina contra o HBV é recomendada para todas as crianças como parte do esquema regular de imunização.

A vacinação contra a hepatite B é a medida mais eficaz para se prevenir o HBV e suas consequências. Existe uma estratégia de saúde pública abrangente para eliminar a transmissão do HBV nos EUA, a qual envolve a vacinação universal das crianças, rastreamento de rotina de todas as mulheres grávidas para o HBsAg, imunoprofilaxia para as crianças recém-nascidas de mães HBsAg-positivas, vacinação de crianças e adolescentes que não tenham sido vacinados previamente e vacinação dos adultos não vacinados sob maior risco de infecção.

O programa de vacinação infantil contra hepatite B na Tailândia, por exemplo, começou em 1984 e reduziu a prevalência de HBsAg de 14,3% em 1995 para 1,1% em 2009.

Os grupos imunossuprimidos, como os pacientes submetidos a hemodiálise, que recebem quimioterapia para câncer ou estão infectados pelo HIV, respondem menos satisfatoriamente à vacinação do que os indivíduos saudáveis.

Estudos sobre a imunização passiva com imunoglobulina específica da hepatite B (HBIG) demonstraram um efeito protetor quando administrada logo após a exposição. A HBIG não é recomendada para profilaxia pré-exposição devido à disponibilidade e à eficácia da vacina contra o HBV. Os indivíduos expostos ao HBV por via percutânea ou por contaminação de mucosas devem receber imediatamente HBIG e vacina com HBsAg, administradas simultaneamente em locais diferentes para proporcionar proteção imediata com anticorpos adquiridos passivamente, seguida de imunidade ativa obtida com a vacina.

A imunoglobulina isolada do plasma pelo método de fracionamento com etanol a frio não transmite o HBV, o HAV, HCV ou o HIV, nos EUA. As imunoglobulinas preparadas fora dos EUA por outros métodos foram implicadas em surtos de hepatites B e C.

As mulheres portadoras de HBV ou que adquirem hepatite B durante a gravidez podem transmitir a doença aos filhos. A eficácia da vacina contra a hepatite e da HBIG na prevenção da hepatite B em lactentes nascidos de mães HBV-positivas foi comprovada. A redução no custo da vacina para os programas de saúde pública tornou a vacinação de recém-nascidos exequível em áreas de elevada endemicidade. O alto custo da HBIG impede o seu uso na maioria dos pacientes.

Em geral, os pacientes com hepatite B aguda não necessitam de isolamento, contanto que seja observada estrita cautela com sangue e instrumentos, tanto nas áreas de assistência geral dos pacientes quanto nos laboratórios. Como os cônjuges e contatos íntimos de pessoas com hepatite B aguda correm alto risco de contrair hepatite B clínica, devem ser orientados quanto às práticas que podem aumentar o risco de infecção ou transmissão. Não existem evidências de que as pessoas assintomáticas HBsAg-positivas que manipulam alimentos possam constituir um risco de saúde para a população geral.

D. Hepatite C

Não existe vacina para a hepatite C, embora diversas vacinas candidatas estejam em teste. As medidas de controle focalizam as atividades de prevenção que reduzem o risco de contrair o HCV, como o rastreamento e os testes de doadores de sangue, plasma, órgãos, tecidos e sêmen; inativação do vírus de produtos derivados do plasma; aconselhamento a usuários de drogas ou pessoas que adotam práticas sexuais de alto risco; implementação de práticas de controle da infecção na assistência à saúde e outros locais; e educação profissional e da população geral.

E. Hepatite D

É possível prevenir a hepatite delta pela vacinação dos indivíduos suscetíveis ao HBV com vacina contra a hepatite B. Entretanto, a vacinação não protege os portadores da hepatite B de superinfecção pelo HDV.

RESUMO DO CAPÍTULO

- Cinco diferentes vírus são considerados agentes causadores de hepatite: vírus da hepatite A (HAV), vírus da hepatite B (HBV), vírus da hepatite C (HCV), vírus da hepatite D (HDV) e vírus da hepatite E (HEV).
- Os cinco vírus associados a quadros de hepatite são classificados em diferentes famílias e gêneros, variando no virion, características genômicas e padrão de replicação.
- HAV e HEV são transmitidos por contaminação orofecal. HBV, HCV e HDV são transmitidos por vias parenterais.
- HAV causa surtos com frequência em escolas, creches, instituições de idosos e acampamentos militares, entre outros.
- Enquanto HBV, HCV e HDV causam infecções crônicas, HAV e HEV estão apenas associados a infecções assintomáticas ou agudas.
- Os marcadores sorológicos ajudam a determinar o agente causal de um determinado caso de hepatite viral.
- A maioria dos indivíduos infectados com HBV na infância desenvolve infecções crônicas, sendo um grupo de risco para o desenvolvimento de doenças hepáticas na fase adulta.
- A maioria das infecções causadas pelo HCV resulta em infecções crônicas, mesmo em adultos, sendo um grande risco para o desenvolvimento tardio de doenças hepáticas.
- As doenças hepáticas associadas ao HCV são frequentemente causadas por transplantes hepáticos, ou por transfusões sanguíneas.
- Superinfecções pelo HDV em portadores de HBV podem resultar em hepatite fulminante fatal.
- HBV e HCV causam câncer hepático, que em geral se manifesta anos após a infecção.
- Vacinas estão disponíveis para o HAV e para o HBV.

QUESTÕES DE REVISÃO

1. Em Nova York, uma mulher de 24 anos de idade é admitida em um hospital por causa de icterícia. Verificou-se que estava com uma infecção pelo vírus da hepatite C. O principal fator de risco para as infecções pelo HCV nos EUA é:
 - (A) Tatuagem
 - (B) Uso de drogas injetáveis
 - (C) Transfusão de sangue
 - (D) Atividade sexual
 - (E) Trabalhar em atividades da área de saúde
2. Qual das exposições a seguir provoca risco de se contrair hepatite?
 - (A) Uma enfermeira segura uma seringa com agulha enquanto aspira insulina, para administrar a paciente diabético infectado pelo HBV
 - (B) Uma auxiliar de limpeza, com a pele íntegra, tem contato com fezes enquanto limpa um banheiro
 - (C) Um técnico de enfermagem, com as mãos ressecadas e arranhadas, avisa que há sangue em suas luvas após prestar assistência em operação de paciente com infecção pelo HCV
 - (D) Uma criança bebe água no mesmo copo da mãe, que tem infecção pelo HAV
 - (E) Um consumidor come um sanduíche preparado por um trabalhador com infecção assintomática pelo HBV
3. Uma icterícia epidêmica, causada por HEV, ocorreu em Nova Délhi. O HEV é:
 - (A) Encontrado em roedores e porcos
 - (B) Uma causa importante da hepatite transmitida pelo sangue
 - (C) Uma causa de doença semelhante à hepatite C
 - (D) Capaz de estabelecer infecções crônicas
 - (E) Associado a maior risco de câncer hepático
4. O HDV (agente delta) é encontrado somente em pacientes que tenham sofrido infecção crônica ou aguda pelo HBV. A seguinte afirmação é correta:
 - (A) O HDV é um mutante defectivo do HBV
 - (B) O HDV depende do antígeno de superfície do HBV para a formação do virion
 - (C) O HDV induz uma resposta imunológica indistinguível daquela causada pelo HBV
 - (D) O HDV está relacionado com o HCV
 - (E) O HDV contém um DNA de genoma circular
5. Uma jovem de 23 anos de idade está planejando uma viagem de 1 ano pela Europa, Egito e subcontinente indiano, e recebe uma vacina contra a hepatite A. A vacina de uso corrente contra a hepatite A é uma (um):
 - (A) Vacina de vírus atenuado
 - (B) Vacina de DNA recombinante
 - (C) Vacina por vírus inativado por formalina
 - (D) Vacina de subunidade de glicoproteína de envelope
 - (E) Poliovírus quimérico que expressa epítomos neutralizantes de HAV
6. As afirmativas a seguir, sobre infecção pelo HCV e associadas à doença hepática crônica nos EUA estão corretas, *exceto*:
 - (A) O HCV é responsável por 40% das doenças hepáticas crônicas
 - (B) A infecção crônica desenvolve-se na maior parte (70 a 90%) das pessoas infectadas pelo HCV
 - (C) A doença hepática associada ao HCV é a principal causa de transplante hepático
 - (D) A viremia do HCV ocorre de forma transitória durante os estágios iniciais da infecção
 - (E) Os pacientes infectados pelo HCV são de alto risco (5 a 20%) para hepatocarcinoma
7. Um homem de meia-idade queixa-se de febre aguda recente, náuseas e dor no quadrante abdominal superior direito. Apresenta-se icterício, e sua urina está escura há vários dias. Um teste laboratorial deu resultado positivo para os anticorpos IgM contra o HAV. O médico pode relatar ao paciente que ele:
 - (A) Provavelmente adquiriu a infecção por transfusão de sangue recente
 - (B) Provavelmente desenvolverá hepatite crônica
 - (C) Terá alto risco de desenvolver carcinoma hepatocelular
 - (D) Será resistente à infecção pela hepatite E
 - (E) Poderá transmitir a infecção a familiares, por contato entre as pessoas, por até 2 semanas
8. Alguns vírus diferentes podem causar a hepatite. Uma das seguintes afirmativas aplica-se aos vírus HAV, HCV, HDV e HEV:
 - (A) Contêm genoma de RNA de fita simples
 - (B) São transmitidos principalmente pela via parenteral
 - (C) São transmitidos principalmente por via orofecal
 - (D) Estão associados a hepatite fulminante
 - (E) Sofrem variação de sequência durante infecção crônica

9. Uma estudante de 30 anos de idade dirige-se a um setor de emergência hospitalar por apresentar febre e anorexia nos últimos 3 dias. Ela aparenta estar ictérica. O fígado mostra-se aumentado e sensível. Exame laboratorial mostra aminotransferases elevadas. A estudante relata ter sido vacinada contra hepatite B há 2 anos, mas não tomou a vacina contra hepatite A. Os resultados dos testes laboratoriais sorológicos são os seguintes: HAV IgM-negativo, HAV IgG-positivo, HBsAg-negativo, HBsAb-positivo, HBcAb-negativo, HCVAb-positivo. A conclusão mais correta é a de que a paciente provavelmente:
- Apresenta hepatite A no momento, não foi infectada pelo HBV e teve hepatite C no passado
 - Tem hepatite A no momento e não foi infectada pelo HBV e HCV no passado
 - Foi infectada pelo HAV e HCV no passado, e está com hepatite B no momento
 - Foi infectada pelo HAV no passado, não foi infectada pelo HBV e tem hepatite C no momento
 - Foi infectada pelo HAV e pelo HCV no passado, não foi infectada pelo HBV e está com hepatite E no momento
10. Uma enfermeira de 36 anos de idade mostra-se HBsAg e HBeAg-positiva. Mais provavelmente, ela:
- Teve hepatite aguda e está infectada
 - Sofreu infecções pelo HBV e HEV
 - Teve infecção crônica pelo HBV
 - Eliminou uma infecção pelo HBV no passado
 - Foi imunizada com uma vacina anti-HBV preparada a partir de portadores saudáveis HBsAg-positivos
11. As seguintes pessoas apresentam maior risco de infecção pelo HAV e devem ser vacinadas rotineiramente, exceto:
- Pessoas que viajam para, ou trabalham em países com alta incidência de infecções pelo HAV
 - Homens que têm relações sexuais com outros homens
 - Consumidores de drogas ilegais (injetáveis e não injetáveis)
 - Pessoas que apresentam risco ocupacional de infecção
 - Pessoas com distúrbios nos fatores de coagulação
 - Pessoas suscetíveis que têm doença hepática crônica
 - Professores do ensino fundamental
12. Existe uma variação global na prevalência das infecções pelo HBV. Qual das seguintes áreas geográficas possui baixa endemicidade (prevalência de HBsAg < 2%)?
- Sudeste da Ásia
 - Ilhas do Pacífico
 - Leste europeu
 - Austrália
 - África Subsaariana
13. A qual dos seguintes grupos de pessoas não se recomenda vacinação contra hepatite B devido ao fato de apresentarem alto risco de contrair infecção pelo HBV?
- Pessoas sexualmente ativas que não tenham tido uma relação monogâmica de longa duração
 - Usuários de drogas injetáveis
 - Mulheres grávidas
 - Pessoas que vivem em ambientes com uma pessoa que é HBsAg-positiva
 - Pessoas que procuram tratamento para doença sexualmente transmissível
14. Qual das seguintes afirmativas sobre HBIG não é verdadeira?
- A HBIG fornece proteção temporária quando administrada em doses-padrões
 - A HBIG geralmente é usada em vez da vacina contra hepatite B para imunoprofilaxia pós-exposição para prevenção de infecção pelo HBV
 - Não existem evidências de que HBV, HCV ou HIV tenham eventualmente sido transmitidos por HBIG nos EUA
 - HBIG não é usada como proteção contra infecção pelo HCV
15. As seguintes afirmações sobre o HAV estão corretas, exceto:
- A vacina contra a hepatite A contém HAV inativado como imunógeno
 - HAV comumente causa infecções assintomáticas em crianças
 - O diagnóstico da hepatite A é normalmente realizado pelo isolamento do HAV em cultura de células
 - A γ -imunoglobulina é usada na prevenção de indivíduos expostos ao vírus HAV
16. Qual das afirmações é a explicação mais razoável para a habilidade do HBV em causar infecções crônicas?
- A infecção não induz a produção de anticorpos
 - O fígado é um local imunologicamente protegido
 - O DNA viral pode persistir na célula hospedeira
 - Muitos indivíduos são imunologicamente tolerantes ao HBsAg
17. Um usuário de drogas injetáveis de 35 anos de idade, portador de HBsAg há 10 anos, desenvolveu um quadro de hepatite fulminante aguda, resultando em óbito em 10 dias. Qual dos seguintes testes laboratoriais poderia contribuir para o diagnóstico?
- Anticorpos anti-HBs
 - HBeAg
 - Anticorpos anti-HBc
 - Anticorpos anti-vírus δ
18. Todas as afirmações sobre o HCV e o HDV estão corretas, exceto:
- O HCV é um vírus de RNA associado a infecções pós-transfusionais
 - O HDV é transmitido primariamente por via orofecal
 - O HDV é um vírus defectivo que é somente replicado caso a célula hospedeira já esteja previamente infectada pelo HBV
 - Indivíduos infectados com o HCV comumente se tornam portadores crônicos e predispostos a carcinoma hepatocelular
19. Qual das afirmações sobre o HVB é falsa?
- Sua replicação envolve uma transcriptase reversa
 - O indivíduo infectado pode apresentar um grande número de partículas virais não infecciosas circulantes na corrente sanguínea
 - A infecção pode resultar em cirrose
 - Infecções assintomáticas podem se prolongar por vários anos
 - Nos EUA, a incidência de infecções tem aumentado nos últimos anos

RESPOSTAS

- | | | | |
|------|-------|-------|-------|
| 1. B | 6. D | 11. G | 16. C |
| 2. C | 7. E | 12. D | 17. D |
| 3. A | 8. A | 13. C | 18. B |
| 4. B | 9. D | 14. B | 19. E |
| 5. C | 10. A | 15. C | |

REFERÊNCIAS

- Advisory Committee on Immunization Practices: A comprehensive immunization strategy to eliminate transmission of hepatitis B virus infection in the United States. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2005;54(RR-16).
- Advisory Committee on Immunization Practices: Prevention of hepatitis A through active or passive immunization. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2006;55(RR-7).
- Ahmad I, Holla RP, Jameel S: Molecular virology of hepatitis E virus. *Virus Res* 2011;161:47.
- Chun HM, Fieberg AM, Hullsiek KH et al.: Epidemiology of hepatitis B virus infection in a US cohort of HIV-infected individuals during the past 20 years. *Clin Infect Dis* 2010;50:426.
- Deuffic-Burban S, Delarocque-Astagneau E, Abiteboul D et al.: Blood-borne viruses in health care workers: Prevention and management. *J Clin Virol* 2011;52:4.
- Emerson SU, Purcell RH: Hepatitis E virus. In Knipe DM, Howley PM (editors-in-chief). *Fields Virology*, 5th ed. Lippincott, Williams & Wilkins, 2007.
- Hepatitis B vaccines. WHO position paper. *World Health Org Wkly Epidemiol Rec* 2009;84:405.
- Hepatitis C. *Nature* 2011;474(7350):S1. [Entire issue.]
- Hollinger FB, Emerson SU: Hepatitis A virus. In Knipe DM, Howley PM (editors-in-chief). *Fields Virology*, 5th ed. Lippincott Williams & Wilkins, 2007.
- Lemon SM, Walker C, Alter MJ, Yi M: Hepatitis C virus. In Knipe DM, Howley PM (editors-in-chief). *Fields Virology*, 5th ed. Lippincott, Williams & Wilkins, 2007.
- Purdy MA, Khudyakov YE: The molecular epidemiology of hepatitis E virus infection. *Virus Res* 2011;161:31.
- Recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP): A comprehensive immunization strategy to eliminate transmission of hepatitis B virus infection in the United States. Part II: Immunization of adults. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2006;55(RR-16).
- Seeger C, Zoulim F, Mason WS: Hepadnaviruses. In Knipe DM, Howley PM (editors-in-chief). *Fields Virology*, 5th ed. Lippincott, Williams & Wilkins, 2007.
- Taylor JM, Farci P, Purcell RH: Hepatitis D (delta) virus. In Knipe DM, Howley PM (editors-in-chief). *Fields Virology*, 5th ed. Lippincott, Williams & Wilkins, 2007.
- Updated U.S. Public Health Service guidelines for the management of occupational exposures to HBV, HCV, and HIV and recommendations for postexposure prophylaxis. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2001;50(RR-11).
- Weinbaum C, Lyster R, Margolis HS: Prevention and control of infections with hepatitis viruses in correctional settings. *MMWR Recomm Rep* 2003;52(RR-1):1

Picornavírus (grupos dos enterovírus e rinovírus)

Os picornavírus representam uma família muito grande de vírus com relação ao número de membros, porém uma das menores em termos de tamanho dos virions e sua complexidade genética, abrangendo dois grandes grupos de patógenos humanos: os **enterovírus** e os **rinovírus**. Os enterovírus, habitantes transitórios do trato alimentar humano, podem ser isolados da garganta e da porção inferior do intestino. Os rinovírus são isolados principalmente da orelha e da garganta.

Muitos picornavírus provocam doenças em seres humanos, que vão desde paralisia grave até meningite asséptica, pleurodinia, miocardite, lesões cutâneas vesiculares e exantematosas, lesões mucocutâneas, doenças respiratórias, doença febril indifferenciada, conjuntivite e doença generalizada grave de lactentes. Todavia, a infecção subclínica mostra-se muito mais comum que a doença clinicamente manifesta. É difícil estabelecer a etiologia, visto que diferentes vírus podem causar a mesma síndrome, o mesmo picornavírus pode causar mais de uma síndrome, e alguns sintomas clínicos observados podem não ser distinguidos daqueles causados por outros tipos de vírus. A poliomielite constitui a doença mais grave causada por enterovírus.

Na atualidade, está sendo feito um esforço mundial cuja meta é a total erradicação da poliomielite.

PROPRIEDADES DOS PICORNAVÍRUS

No Quadro 36.1, é mostrada uma lista das propriedades importantes dos picornavírus.

Estrutura e composição

O virion dos enterovírus e dos rinovírus consiste em um capsídeo de 60 subunidades, constituída, cada qual, de quatro proteínas (VP1 a VP4) dispostas em simetria icosaédrica em torno de um genoma formado de uma única fita de RNA de sentido positivo (Fig. 36.1). Os parechovírus são semelhantes, exceto quanto ao fato de que os capsídeos só contêm três proteínas, uma vez que a VP0 não é clivada em VP2 e VP4.

Com base em estudos de difração com raios X, foram estabelecidas as estruturas moleculares dos poliovírus e dos rinovírus. As três proteínas virais maiores, VP1, VP2 e VP3, apresentam uma estrutura central muito semelhante, em que o arcabouço peptídico da proteína se enrola em torno de si mesmo, formando um cilindro de oito filamentos mantidos entre si por pontes de hidrogênio (cilindro β). A cadeia de aminoácidos entre o cilindro β e as porções amino — e carboxiterminais

da proteína contém uma série de alças que apresentam os principais locais antigênicos encontrados na superfície do virion e estão envolvidas na neutralização da infecção viral.

Existe uma fenda ou “desfiladeiro” proeminente em torno de cada vértice pentamérico na superfície da partícula viral. Acredita-se que o local de ligação do receptor utilizado para a fixação do virion a uma célula hospedeira seja próximo ao soa-lho da fenda, localização que presumivelmente deve proteger o importante local de fixação celular de variações estruturais influenciadas pela seleção de anticorpos nos hospedeiros, por ser a fenda muito estreita para permitir a penetração profunda de moléculas de anticorpo (Fig. 36.1).

O tamanho do RNA do genoma varia de 7,2 kb (rinovírus humano) a 7,4 kb (poliovírus, vírus da hepatite A) e 8,4 kb (aftovírus). A organização do genoma é semelhante em todos os vírus (Fig. 36.2). O genoma é poliadenilado na extremidade de 3' e apresenta uma pequena proteína codificada pelo vírus (VPg), ligada de modo covalente à extremidade 5'. O RNA genômico de sentido positivo é infeccioso.

Os enterovírus são estáveis a pH ácido (3 a 5) durante 1 a 3 h, enquanto os rinovírus são acidolábeis. Os enterovírus e alguns rinovírus são estabilizados por cloreto de magnésio contra a inativação térmica. Os enterovírus apresentam uma densidade de flutuação em cloreto de céσιο de cerca de 1,34 g/mL, e os rinovírus humanos, de cerca de 1,4 g/mL.

QUADRO 36.1 Propriedades importantes dos picornavírus

Virion: icosaédrico, de 28 a 30 nm de diâmetro; contém 60 subunidades

Composição: RNA (30%), proteína (70%)

Genoma: RNA de fita simples, linear, de sentido positivo, com 7,2 a 8,4 kb de tamanho, PM de 2,5 milhões, infeccioso; contém uma proteína ligada ao genoma (VPg)

Proteínas: quatro polipeptídeos principais clivados de uma grande poliproteína precursora. As proteínas de superfície do capsídeo VP1 e VP3 constituem os principais locais de ligação dos anticorpos. A VP4 é uma proteína interna

Envelope: ausente

Replicação: citoplasma

Características marcantes: a família é constituída por inúmeros tipos de enterovírus e rinovírus que infectam seres humanos e animais inferiores, causando várias doenças que incluem desde poliomielite até meningite asséptica e resfriado comum

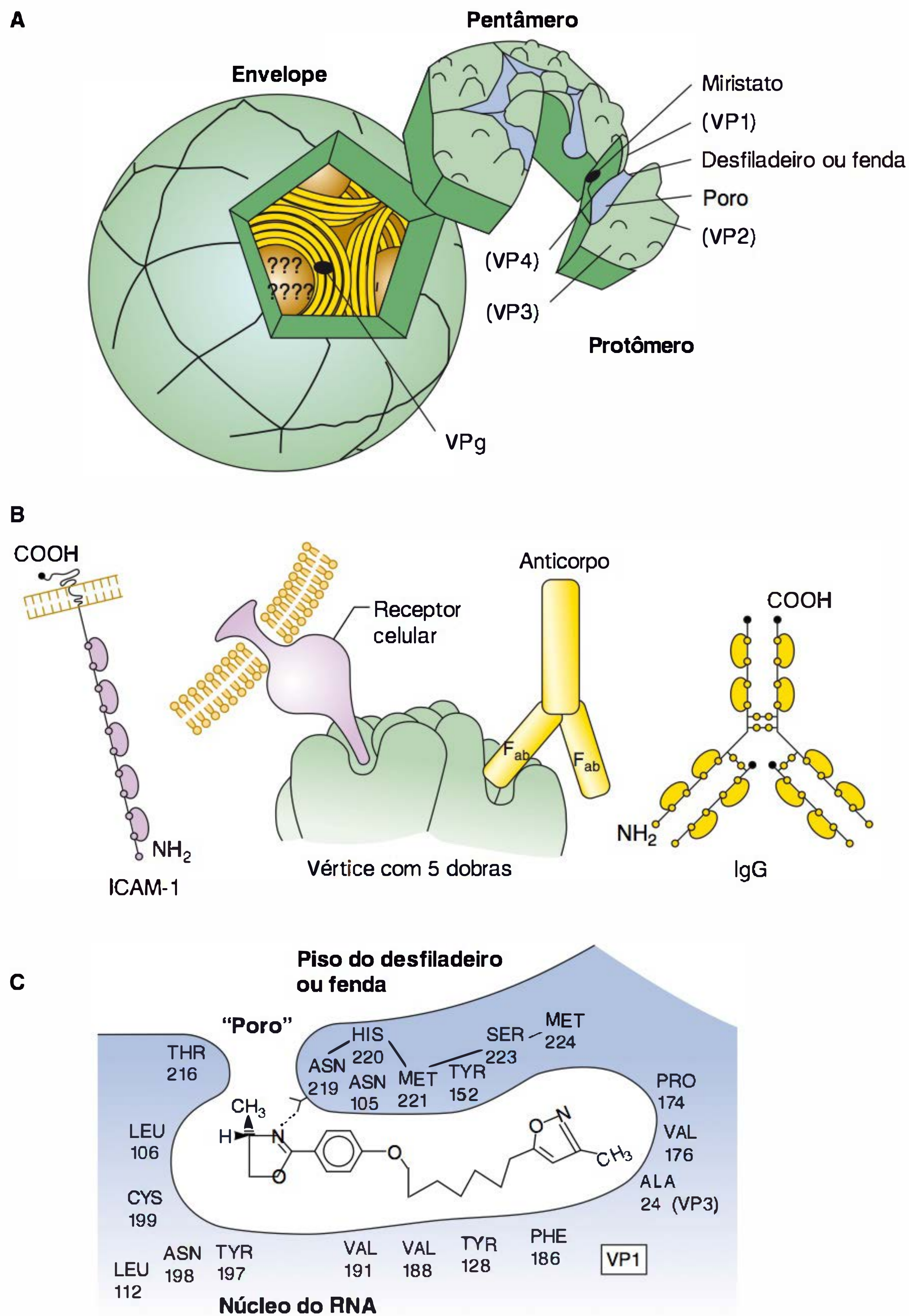


FIGURA 36.1 Estrutura de um picornavírus típico. **(A)** Diagrama segmentado, mostrando a localização interna do genoma de RNA circundado pelo capsídeo composto de pentâmeros das proteínas VP1, VP2, VP3 e VP4. Observar a depressão em "desfiladeiro" ou fenda que circunda o vértice do pentâmero. **(B)** Ligação do receptor celular ao soalho do "desfiladeiro" ou fenda. O principal receptor do rinovírus (molécula de ICAM-1) apresenta um diâmetro que corresponde aproximadamente a 50% do diâmetro de uma molécula de anticorpo IgG. **(C)** Localização de um local de ligação de fármaco na VP1 de um rinovírus. O antiviral ilustrado, WIN 52084, impede a fixação do vírus ao deformar parte do soalho do "desfiladeiro". (Reproduzida, com autorização, de Rueckert RR: Picornaviridae: The viruses and their replication. In Fields BN, Knipe DM, Howley PM [editors-in-chief]. *Fields Virology*, 3rd ed. Lippincott-Raven, 1996.)

Classificação

A família *Picornaviridae* é constituída de nove gêneros, que incluem *Enterovirus* (enterovírus e rinovírus), *Hepatovirus* (vírus da hepatite A), *Kobuvirus* (Aichi vírus), *Parechovirus* (parechovírus), *Aphthovirus* (vírus da febre aftosa) e *Cardiovirus* (cardiovírus). Os quatro primeiros grupos contêm importantes patógenos humanos. Os rinovírus historicamente eram

alocados em um gênero separado (*Rhinovirus*). Porém, hoje, são considerados pertencentes ao gênero *Enterovirus*.

Os enterovírus de origem humana estão subdivididos em seis espécies com base principalmente na análise das sequências. A antiga taxonomia para esses vírus incluía os seguintes: (1) poliovírus tipos 1 a 3; (2) vírus Coxsackie do grupo A tipos 1 a 24 (não existem os tipos 15, 18 e 23); (3) vírus Coxsackie do grupo B tipos 1 a 6; (4) vírus Echo tipos 1 a 33 (não existem os

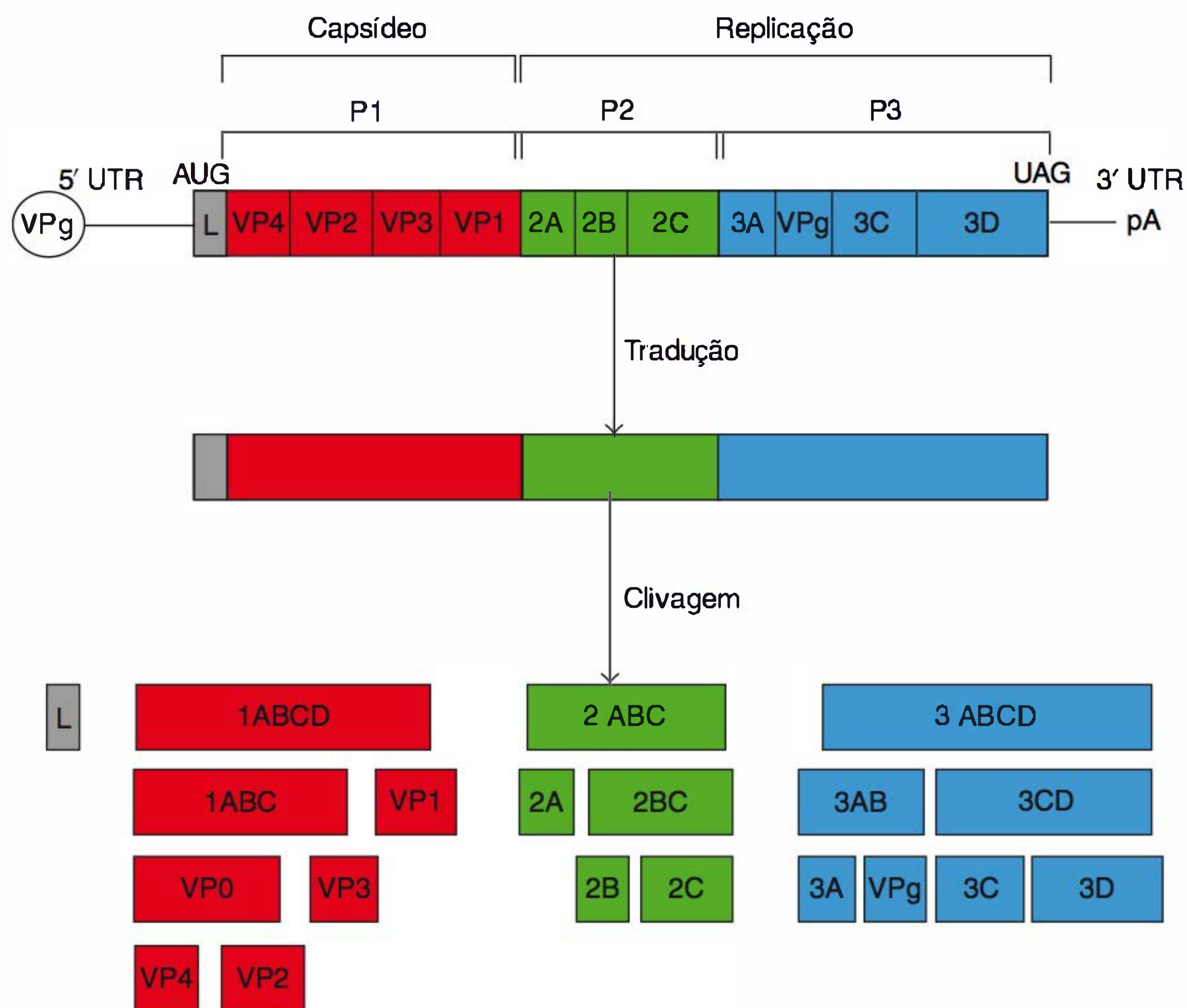


FIGURA 36.2 Organização e expressão do genoma do picornavírus. O RNA genômico viral tem uma proteína VPg ligada no terminal 5' e é poliadenilado no terminal 3'. O L especifica uma proteína líder encontrada nos cardiovírus e nos aftovírus, porém não nos enterovírus, rinovírus humanos e no vírus da hepatite A. O RNA de fita simples e de sentido positivo é traduzido em uma única poliproteína. O domínio P1 (vermelho) codifica para proteínas do capsídeo e os domínios P2 (verde) e P3 (azul) codificam para proteínas não estruturais, utilizadas no processamento proteico e na replicação. A clivagem da poliproteína é realizada pelas proteases 2A e 3C virais. A proteína 2A realiza as clivagens iniciais da poliproteína e todas as outras clivagens são realizadas pela protease 3C. (Reproduzida, com autorização, de Kerkvliet J, Edukulla R, Rodriguez M: Novel roles of the picornaviral 3D polymerase in viral pathogenesis. *Adv Virol* 2010;368068.)

tipos 8, 10, 22, 23, 28 ou 34); e (5) enterovírus tipos 68 a 78 (não existe o tipo 72) (Quadro 36.2). Desde 1969, novos tipos de enterovírus foram designados mais por tipos de enterovírus do que subclassificados como vírus Coxsackie ou vírus Echo. Os termos vernaculares dos enterovírus previamente identificados foram mantidos. Os vírus Coxsackie tipo A são classificados principalmente em espécies de enterovírus humanos (HEV)-A e HEV-C, e os vírus Coxsackie tipo B e vírus Echo em HEV-B.

Os enterovírus também são encontrados em muitos animais, bovinos, suínos, macacos e camundongos.

Os rinovírus humanos (HRV) abrangem mais de 100 tipos antigênicos em três espécies: A, B e C. Os rinovírus de outras espécies incluem os dos equinos e bovinos.

O vírus da hepatite A foi originalmente classificado como enterovírus tipo 72; todavia, é atualmente designado por um gênero distinto. O vírus da hepatite está descrito no Capítulo 35.

Constatou-se que os parechovírus, previamente classificados como vírus Echo 22 e 23, diferem significativamente dos enterovírus tanto nas suas propriedades biológicas quanto nas suas características moleculares, de modo que foram incluídos em um novo gênero (*Parechovirus*).

Os outros picornavírus são o vírus que causa a febre aftosa em bovinos (*Aphthovirus*) e o vírus da encefalomiocardite de roedores (*Cardiovirus*).

A variedade de hospedeiros dos picornavírus muda acentuadamente de um tipo para outro e mesmo entre cepas do

mesmo tipo. Muitos enterovírus (poliovírus, vírus Echo, alguns vírus Coxsackie) podem crescer a 37°C em culturas de células humanas e de macaco; a maioria das cepas de rinovírus pode ser isolada apenas em células humanas a 33°C. Os vírus Coxsackie são patogênicos para camundongos recém-nascidos.

Replicação dos picornavírus

O ciclo de replicação dos picornavírus ocorre no citoplasma das células (Fig. 36.3). A princípio, o virion fixa-se a um receptor específico na membrana plasmática. Os receptores de poliovírus e rinovírus humanos são membros da superfamília dos genes das imunoglobulinas, que inclui anticorpos e algumas moléculas de adesão da superfície celular. Já os vírus Echo reconhecem um membro da superfamília da molécula de adesão integrina. Nem todos os rinovírus ou vírus Echo utilizam o mesmo receptor celular. O vírus que causa a doença da mão, pé e boca* (*Enterovirus 71* e *coxsackievirus A16*) usa os receptores SCARB2 (*Scavenger re-*

* N. de R.T. Os sintomas em geral aparecem após um período de incubação, que varia de 4 a 6 dias, seguidos de febre que pode ter intensidade variável (em alguns casos, a criança pode não apresentar febre). Após esta fase inicial, ocorre uma estomatite que causa dor, quando a criança ingere saliva ou se alimenta. A seguir, surgem pequenas bolhas branco-acinzentadas, com a base avermelhada nas mãos e nos pés (principalmente na região das palmas das mãos e plantas dos pés). Estas pequenas bolhas não coçam, não doem e podem aparecer também nas nádegas.

QUADRO 36.2 Características dos picornavírus humanos

Propriedade	Enterovírus A-D					Rinovírus humanos A-C ^d	Parechovírus humanos ^e
	Pólio	Coxsackie A ^a	Coxsackie B	Echo ^a	Entero ^b		
Sorotipos	1 a 3	1 a 24	1 a 6	1 a 33	68 a 78	> 100	1 a 3
pH ácido (3)	Estável	Estável	Estável	Estável	Estável	Lábil	Estável
Densidade (g/mL)	1,34	1,34	1,34	1,34	1,34	1,4	
Temperatura ideal de crescimento	37°C	37°C	37°C	37°C	37°C	33°C	37°C
Locais de isolamento comuns em seres humanos							
Nariz	0	0	0	0	0	+	0
Garganta	+	+	+	+	+	+	
Porção inferior do intestino	+	+	+	+	+	0	+
Infecção em camundongos recém-nascidos ^e	0	+	+	0		0	

^aDevido a reclassificações, não existem o vírus Coxsackie A23, o vírus Echo tipos 10, 22, 23, 28 ou 34, e o enterovírus tipo 72.

^bDesde 1969, novos enterovírus receberam um número, em vez de serem subclassificados como vírus Coxsackie ou vírus Echo. Enterovírus 103, 108, 112 e 115 esperam parecer do International Committee on Taxonomy of Viruses Classification.

^cOs parechovírus 1 e 2 eram previamente classificados como vírus Echo tipos 22 e 23.

^dO rinovírus 87 é considerado um enterovírus 68.

^eExiste alguma variabilidade nessa propriedade.

ceptor B2) e o PSGL-1 (*P-selectin glycoprotein ligand-1*). A ligação ao receptor deflagra uma alteração estrutural no virion que resulta em liberação de RNA viral no citosol da célula. A VPg é removida do RNA viral e associa-se aos ribossomos. A tradução ocorre por um mecanismo independente de *cap*, por meio do local interno de entrada no ribossomo (IRES) após a extremidade 5' do genoma viral. Esse desvio precisa do complexo de fator de iniciação celular (eIF4F) intacto, necessário a muitos RNAm *capped*. O eIF4 em geral é clivado por uma protease viral, levando a interrupção da síntese proteica e tradução preferencial do RNA viral.

O RNA do vírus infectante é traduzido em uma poliproteína que contém as proteínas do revestimento e as proteínas essenciais à replicação. Essa poliproteína é rapidamente clivada em fragmentos por proteinases codificadas na poliproteína (Fig. 36.4). A síntese de um novo RNA viral só pode começar após a produção das proteínas de replicação codificadas pelo vírus, inclusive uma RNA-polimerase dependente de RNA. A fita de RNA do vírus infectante é copiada, e essa fita complementar serve de modelo para a síntese de novas fitas de sentido positivo. Várias fitas de sentido positivo são produzidas a

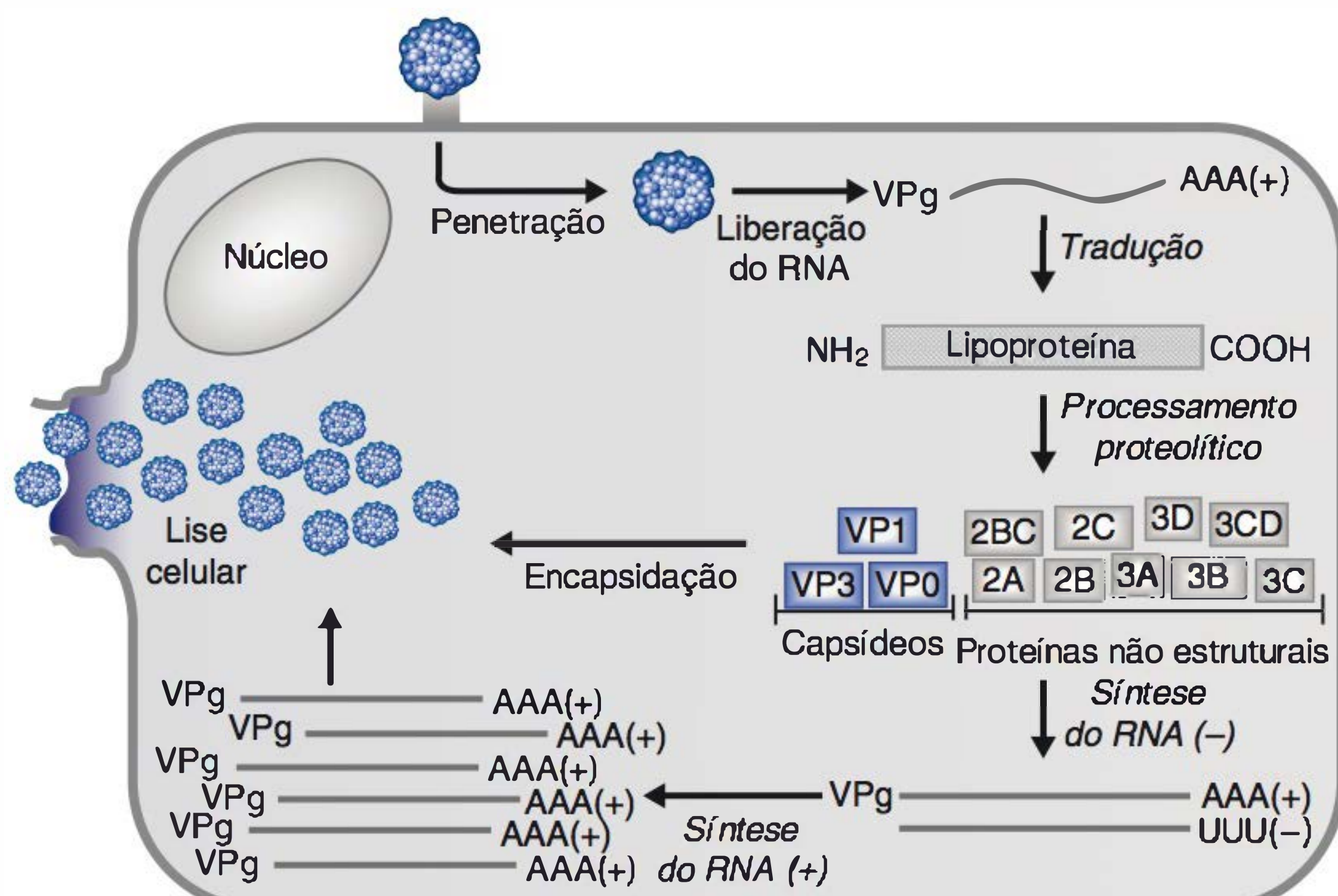


FIGURA 36.3 Visão geral do ciclo de infecção dos picornavírus. (Reproduzida, com autorização, de Zoll J, Heus HA, van Kupperveld FJ, Melchers WJ. The structure-function relationship of the enterovirus 3'-UTR. *Virus Res* 2009;139:209-216. Copyright Elsevier.)

partir de cada molde de sentido negativo. Algumas novas fitas de sentido positivo são recicladas como modelos para amplificar o reservatório de RNA da progênie; muitas fitas de sentido positivo são acondicionadas em virions.

O processo de maturação envolve diversos eventos de clivagem. A proteína precursora do envelope P1 (Fig. 36.4) é clivada para formar agregados de VP0, VP3 e VP1. Ao atingirem uma concentração adequada, esses “protômeros” organizam-se em pentâmeros que acondicionam o VPg-RNA de filamento positivo, formando “pró-virions”, os quais não são infecciosos até a ocorrência de uma clivagem final que transforma VP0 em VP4 e VP2. As partículas virais maduras são liberadas quando a célula hospedeira sofre desintegração. O ciclo de multiplicação da maioria dos picornavírus leva 5 a 10 horas.

GRUPO DOS ENTEROVÍRUS

POLIOVÍRUS

A poliomielite é uma doença infecciosa aguda que, em sua forma grave, afeta o sistema nervoso central (SNC). A destruição dos neurônios motores na medula espinal resulta em paralisia flácida. Entretanto, a maioria das infecções causadas por poliovírus é subclínica.

O poliovírus serviu como modelo de enterovírus em muitos estudos laboratoriais de biologia molecular da replicação dos picornavírus.

Propriedades do vírus

A. Propriedades gerais

As partículas de poliovírus são enterovírus típicos (ver anteriormente), sendo inativadas quando aquecidas a 55°C durante 30 min; todavia, a adição de Mg^{2+} , 1 mol/L, impede essa inativação. Embora o poliovírus purificado seja inativado por uma concentração de cloro de 0,1 ppm, são necessárias concentrações muito mais elevadas de cloro para desinfetar esgotos que contenham vírus em suspensões fecais e na presença de outras matérias orgânicas. Os poliovírus não são afetados pelo éter nem pelo desoxicolato de sódio.

B. Suscetibilidade dos animais e crescimento do vírus

Os poliovírus apresentam uma variedade muito restrita de hospedeiros. A maioria das cepas infecta macacos quando os vírus são inoculados diretamente no cérebro ou no cordão espinal. Chimpanzés e macacos cinomolgos também podem ser infectados por via oral; em chimpanzés, a infecção costuma ser assintomática, e os animais tornam-se portadores intestinais do vírus.

A maioria das cepas pode crescer em culturas de linhagens celulares primárias ou contínuas, derivadas de uma variedade de tecidos humanos ou de rim, testículo ou músculo de macacos, mas não de tecidos de animais inferiores.

Os poliovírus exigem um receptor de membrana específico de primata para provocar infecção, e a ausência desse receptor na superfície de células não primatas torna-as resistentes ao vírus. Restrição que pode ser superada pela transfecção de RNA

de poliovírus infecciosos em células resistentes. A introdução do gene do receptor viral transforma células resistentes em células suscetíveis. Foram desenvolvidos camundongos transgênicos que possuem o gene do receptor de primatas, os quais se mostram suscetíveis aos poliovírus humanos.

C. Propriedades antigênicas

Existem três tipos antigênicos de poliovírus.

Patogênese e patologia

A boca constitui a porta de entrada do vírus, e ocorre multiplicação primária na orofaringe ou no intestino. O vírus é regularmente encontrado na garganta e nas fezes antes do início da doença. Uma semana após o início da infecção, encontram-se poucos vírus na garganta, porém sua excreção nas fezes prossegue por várias semanas apesar da presença de níveis elevados de anticorpos no sangue.

O vírus pode ser encontrado no sangue de pacientes com poliomielite não paralítica. Os anticorpos dirigidos contra o vírus aparecem no estágio inicial da doença, geralmente antes de ocorrer paralisia.

Acredita-se que o vírus se multiplique inicialmente nas tonsilas, nos linfonodos do pescoço, nas placas de Peyer e no intestino delgado. Em seguida, o SNC pode ser invadido através do sangue circulante.

O poliovírus pode propagar-se ao longo dos axônios dos nervos periféricos até o SNC, onde continua a progredir ao longo das fibras dos neurônios motores inferiores, afetando cada vez mais a medula espinal ou o cérebro. Invade certos tipos de célula nervosa e, no processo de sua multiplicação intracelular, o vírus pode lesar ou destruir essas células por completo.

O poliovírus não se multiplica no músculo *in vivo*. As alterações que ocorrem nos nervos periféricos e nos músculos voluntários são secundárias à destruição das células nervosas. Algumas células que perdem sua função podem recuperar-se por completo. Ocorre inflamação secundária ao ataque das células nervosas.

Além das alterações patológicas observadas no sistema nervoso, podem ocorrer miocardite, hiperplasia linfática e ulceração das placas de Peyer.

Manifestações clínicas

Quando um indivíduo suscetível à infecção é exposto ao vírus, a resposta observada varia desde uma infecção inaparente sem qualquer sintoma até uma doença febril leve, bem como paralisia grave e permanente. As infecções são, em sua maioria, subclínicas, e apenas cerca de 1% resulta em doença clínica.

O período de incubação geralmente é de 7 a 14 dias, mas pode variar de 3 a 35 dias.

A. Doença branda

Trata-se da forma mais comum da doença. O paciente só apresenta doença discreta, caracterizada por febre, mal-estar, sonolência, cefaleia, náuseas, vômitos, prisão de ventre e faringite em várias combinações. A recuperação ocorre em poucos dias.

B. Poliomielite não paralítica (meningite asséptica)

Além dos sinais e sintomas descritos no parágrafo anterior, o paciente com a forma não paralítica apresenta dor e rigidez na nuca e nas costas. A doença dura 2 a 10 dias, e a recuperação é rápida e completa. O poliovírus é somente um dos inúmeros vírus que causam meningite asséptica. Em uma pequena porcentagem de casos, a doença evolui para paralisia.

C. Poliomielite paralítica

A queixa predominante consiste em paralisia flácida decorrente de lesão dos neurônios motores inferiores. Todavia, pode-se verificar também a ocorrência de descoordenação secundária à invasão do tronco cerebral, bem como espasmos dolorosos dos músculos não paralisados. O grau de lesão varia acentuadamente. Em geral, a recuperação máxima é observada em 6 meses, enquanto a paralisia residual persiste por mais tempo.

D. Atrofia muscular progressiva pós-poliomielite

Tem sido observada a ocorrência de recrudescência da paralisia e degradação muscular, em indivíduos, várias décadas após a poliomielite paralítica. Apesar de a atrofia muscular progressiva pós-poliomielite ser rara, trata-se de uma síndrome específica. Não parece representar a consequência de infecção persistente, mas sim o resultado de alterações fisiológicas e da idade em pacientes paralíticos já acometidos pela perda de funções neuromusculares.

Diagnóstico laboratorial

O vírus pode ser isolado a partir de *swabs* de garganta, obtidos pouco depois do início da doença, bem como de *swabs* retais ou amostras de fezes coletadas durante longos períodos. Portadores permanentes não são identificados entre os indivíduos imunocompetentes, mas a excreção de poliovírus por um longo período é observada em algumas pessoas imunodeficientes. O poliovírus raramente é isolado do líquido cefalorraquidiano (LCS), ao contrário de alguns vírus Coxsackie e vírus Echo.

As amostras devem ser mantidas congeladas durante o transporte até o laboratório. As culturas de células humanas ou de macacos devem ser inoculadas, incubadas e observadas. Surgem efeitos citopatogênicos em 3 a 6 dias. O vírus isolado é identificado e tipado por neutralização com antissoro específico. O vírus também pode ser identificado por reação em cadeia da polimerase (PCR).

São necessárias amostras pareadas de soro para se demonstrar uma elevação dos títulos de anticorpos durante a evolução da doença. Apenas a primeira infecção por poliovírus produz respostas estritamente específicas do tipo. As infecções subsequentes por poliovírus heterotípicos induzem a produção de anticorpos dirigidos contra um grupo de antígenos compartilhados pelos três tipos.

Imunidade

A imunidade é permanente para o tipo de vírus responsável pela infecção, sendo predominantemente mediada por anticorpos. Pode haver um baixo grau de resistência heterotípica

induzida pela infecção, particularmente entre os poliovírus tipos 1 e 2.

A imunidade passiva é transferida da mãe para o filho. Os anticorpos maternos desaparecem gradualmente durante os primeiros 6 meses de vida. O anticorpo administrado passivamente dura apenas 3 a 5 semanas.

Ocorre a produção do anticorpo neutralizante logo após a exposição ao vírus frequentemente antes do início da doença. Esse vírus persiste aparentemente por toda a vida do indivíduo. Sua formação no estágio inicial da doença reflete a ocorrência de multiplicação viral no organismo antes da invasão do sistema nervoso. Como o vírus encontrado no cérebro e na medula espinal não é influenciado por títulos elevados de anticorpos no sangue, a imunização só tem valor se for efetuada antes do aparecimento dos sintomas relacionados com o sistema nervoso.

A proteína de superfície VP1 do poliovírus contém vários epítopos neutralizantes do vírus, podendo, cada um, conter menos de dez aminoácidos. Cada epítipo é capaz de induzir a produção de anticorpos neutralizantes do vírus.

Erradicação global

A OMS lançou em 1988 uma grande campanha para erradicar o poliovírus do mundo, a exemplo do vírus da varíola. Foram estimados 350.000 casos de pólio no mundo inteiro naquele ano. As Américas foram consideradas livres do poliovírus selvagem em 1994, a região do Pacífico Ocidental em 2000, e a Europa em 2002. Estão sendo observados progressos em todo o mundo; menos de 2.000 casos de poliomielite ocorrem a cada ano, principalmente na África e no subcontinente indiano. Nenhum caso de poliovírus tipo 2 foi registrado desde 1999.

Em 2011, somente quatro países (Afeganistão, Índia, Nigéria e Paquistão) permaneciam endêmicos para a poliomielite; contudo, surtos do poliovírus selvagem ocorrem primariamente por importação do vírus, por viajantes ou imigrantes. A vigilância dos casos de paralisia flácida aguda, à procura do poliovírus em esgotos e campanhas de vacinação infantil, são estratégias importantes para interrupção da transmissão do poliovírus.

Epidemiologia

A poliomielite teve três fases epidemiológicas: endêmica, epidêmica e fase da era da vacina. As duas primeiras refletem os padrões existentes antes da introdução da vacina. A explicação geralmente aceita é de que a melhora dos sistemas de higiene e condições sanitárias em climas mais frios promoveu a transição da doença paralítica endêmica para a forma epidêmica nessas sociedades.

Antes de os esforços de erradicação global se iniciarem, a poliomielite ocorria no mundo inteiro, sendo observada durante todo o ano, nos trópicos, e durante o verão e o outono, nas regiões temperadas. É rara a ocorrência de surtos no inverno.

A doença ocorre em todos os grupos etários, mas as crianças geralmente são mais suscetíveis que os adultos em virtude da imunidade adquirida na população adulta. Nos países em desenvolvimento, em que as condições de vida favorecem a ampla disseminação do vírus, a poliomielite é uma doença do início da infância (“paralisia infantil”). Nos países desenvolvidos,

antes do advento da vacinação houve uma mudança na distribuição etária, de modo que a maioria dos pacientes tinha mais de 5 anos, enquanto 25% tinha mais de 15 anos. A taxa de mortalidade mostra-se variável. É maior nos pacientes de mais idade e pode atingir 5 a 10%. Antes do início das campanhas de vacinação nos EUA, havia cerca de 21.000 casos de poliomielites por ano.

Os seres humanos constituem o único reservatório conhecido da infecção. Em condições de aglomeração, bem como higiênicas e sanitárias precárias em climas quentes, em que quase todas as crianças tornam-se imunes nos primeiros anos de vida, os poliovírus mantêm-se mediante a infecção contínua de uma pequena parcela da população. Nas regiões temperadas com altos níveis de higiene, as epidemias ocorrem após períodos de pequena disseminação dos vírus, até que um número suficiente de crianças suscetíveis tenha crescido, proporcionando um reservatório para transmissão no local. O vírus pode ser isolado da faringe e do intestino de pacientes e portadores sadios. A prevalência da infecção é maior entre os contatos domésticos.

Nos climas temperados, a infecção por enterovírus, inclusive o poliovírus, é observada principalmente durante o verão. O vírus é encontrado em esgotos, durante períodos de alta prevalência, podendo servir de fonte de contaminação da água usada para beber, tomar banho ou fazer irrigação. Existe uma correlação direta entre condições higiênicas e sanitárias precárias e a vida em aglomerações e a aquisição da infecção assim como a produção de anticorpos nos primeiros anos de vida.

Prevenção e controle

Existem vacinas disponíveis com vírus vivos e mortos. A vacina formolizada (Salk) é preparada a partir de vírus que crescem em culturas de rins de macacos. A vacina com vírus mortos induz a produção de anticorpos humorais, mas não resulta em imunidade intestinal local, de modo que o vírus ainda é capaz de multiplicar-se no intestino. As vacinas orais contêm vírus vivos atenuados que crescem em culturas primárias de células diploides humanas ou de macacos. A vacina pode ser estabilizada por cloreto de magnésio, de modo que pode ser conservada, sem perder a potência, durante 1 ano a 4°C e por várias semanas à temperatura ambiente (cerca de 25°C). A vacina não estabilizada deve ser mantida congelada até ser utilizada.

O poliovírus vivo da vacina infecta o indivíduo, multiplica-se e, portanto, induz a imunização. No processo, a progênie infecciosa do vírus da vacina é disseminada na comunidade. A vacina produz não apenas anticorpos IgM e IgG no sangue como também anticorpos IgA secretores no intestino, que, assim, torna-se resistente à reinfeção (ver Fig. 30.10).

Tanto a vacina com vírus vivo quanto aquela com vírus mortos induzem anticorpos e protegem o SNC de uma invasão subsequente por vírus selvagens. Entretanto, o intestino desenvolve um grau muito maior de resistência após a administração da vacina com vírus vivos.

A interferência constitui um fator limitante potencial para a vacina oral. Se o trato alimentar da criança estiver infectado por outros enterovírus na época de administração da vacina, o estabelecimento de infecção por poliovírus e a imunização poderão ser bloqueados, problema que pode tornar-se importante em áreas (particularmente regiões tropicais) nas quais as infecções por enterovírus são comuns.

Os vírus vacinais — particularmente os dos tipos 2 e 3 — podem sofrer mutação durante sua multiplicação em crianças vacinadas. Entretanto, somente casos extremamente raros de poliomielite parálitica têm ocorrido em pacientes vacinados com a vacina oral ou seus contatos próximos (não mais do que um caso em cada 2 milhões de pessoas vacinadas).

Nos EUA, utilizou-se geralmente a vacina oral trivalente contra a poliomielite. Entretanto, em 2000 a Advisory Committee on Immunization Practices recomendou uma mudança para uso exclusivo de vacina com vírus inativado (quatro doses) para crianças nos EUA. Tal mudança foi feita por causa do reduzido risco de doença associada ao vírus selvagem em decorrência da contínua progressão da erradicação global do poliovírus. Esse esquema irá reduzir a incidência de doença associada à vacina e ao mesmo tempo manterá a imunidade dos indivíduos e da população contra os poliovírus.

A vacina oral contra a pólio está sendo usada no programa de erradicação global. Após o alcance deste objetivo, ocorrerá a sua interrupção, uma vez que a continuidade do seu uso pode levar à reemergência da pólio, por causa de mutações e transmissibilidade aumentada, bem como neurovirulência do vírus vacinal.

A gravidez não é indicação nem contraindicação à imunização. Não se deve administrar vacina de vírus vivo a indivíduos imunodeficientes ou imunossuprimidos, nem a seus contatos domésticos. Em tais casos, utiliza-se apenas a vacina com vírus mortos (Salk).

Não existe antiviral para o tratamento da infecção por poliovírus. A colocação do paciente ou de seus contatos íntimos em quarentena é ineficaz no controle da propagação da doença, o que é compreensível, tendo em vista o grande número de infecções inaparentes. As imunoglobulinas podem fornecer proteção por poucas semanas contra a doença parálitica, mas não previne infecção subclínica; são eficazes somente se forem administradas pouco antes de a infecção ocorrer, não sendo válidas depois que os sintomas clínicos se desenvolverem.

VÍRUS COXSACKIE

Os vírus Coxsackie, que formam um grande subgrupo de enterovírus, foram inicialmente divididos em dois grupos, A e B. Esses grupos são, hoje, classificados nos HEV-A, B e C, com diferentes potenciais patogênicos para os camundongos, sendo também causadores de uma variedade de doenças em seres humanos, inclusive a meningite asséptica, bem como doenças respiratórias e febris não diferenciadas. A herpangina (faringite vesicular), a doença da mão, pé e boca, assim como a conjuntivite hemorrágica aguda são provocadas por certos sorotipos de vírus Coxsackie do grupo A. A pleurodinia (mialgia epidêmica), miocardite, pericardite e doença generalizada grave de lactentes são causadas por alguns vírus Coxsackie B. Além desses vírus, vários sorotipos dos grupos A e B podem causar meningoencefalite e paralisia. Em geral, a paralisia causada por enterovírus diferentes dos poliovírus é incompleta e reversível. Os vírus Coxsackie do grupo B constituem os agentes causais mais comumente identificados na cardiopatia viral em seres humanos (Quadro 36.3). Os vírus Coxsackie tendem a ser mais patogênicos que os vírus Echo. Alguns dos isolados mais recentes de enterovírus exibem propriedades similares às dos vírus Coxsackie.

QUADRO 36.3 Enterovírus humanos e síndromes clínicas comumente associadas^a

Síndrome	Enterovírus humano A-D					
	Poliovírus Tipos 1 a 3	Coxsackievírus A Tipos 1 a 24	Coxsackievírus B Tipos 1 a 6	Vírus Echo Tipos 1 a 33	Enterovírus Tipos 68 a 116	Parechovírus Tipos 1 a 4
Neurológica						
Meningite asséptica	1 a 3	Muitos	1 a 6	Muitos	71	1
Paralisia	1 a 3	7, 9	2 a 5	2, 4, 6, 9, 11, 30	70, 71	3
Encefalite		2, 5 a 7, 9	1 a 5	2, 6, 9, 19	70, 71	
Pele e mucosa						
Herpangina		2 a 6, 8, 10			71	
Doença da mão, pé e boca		5, 10, 16			71	
Exantemas		Muitos	5	2, 4, 6, 9, 11, 16, 18		
Cardíaca e muscular						
Pleurodinia (mialgia epidêmica)			1 a 5	1, 6, 9		
Miocardite, pericardite			1 a 5	1, 6, 9, 19		1
Ocular						
Conjuntivite hemorrágica aguda		24			70	
Respiratória						
Resfriados		21, 24	1, 3, 4, 5	4, 9, 11, 20, 25		1
Pneumonia			4, 5		68	1
Pneumonite de lactentes		9, 16				
Edema pulmonar					71	
Gaстрintestinal						
Diarreia		18, 20 a 22, 24 ^b		Muitos ^b		1
Hepatite		4, 9	5	4, 9		
Outras						
Doença febril indiferenciada	1 a 3		1 a 6			
Doença generalizada de lactentes			1 a 5	11		
Diabetes melito			3, 4			

^aOs exemplos não estão todos incluídos. Outros tipos de enterovírus podem estar associados à síndrome citada.

^bA casualidade não foi estabelecida.

Propriedades dos vírus

Os vírus Coxsackie são altamente infecciosos para camundongos recém-nascidos, diferentemente da maior parte dos demais enterovírus humanos. Certas cepas (B1 a 6, A7, 9, 16 e 24) também crescem em cultura de células renais de macacos. Algumas cepas do grupo A crescem em células amnióticas humanas e em fibroblastos pulmonares de embriões humanos. O tipo A14 provoca

lesões semelhantes às da poliomielite em camundongos adultos e macacos, mas somente miosite em camundongos lactentes. As cepas tipo A7 provocam paralisia e lesões graves do SNC em macacos. Os vírus do grupo A causam miosite disseminada na musculatura esquelética de camundongos recém-nascidos, resultando em paralisia flácida, sem qualquer outra lesão evidente. A constituição genética das cepas consanguíneas de camundongos determina sua suscetibilidade aos vírus Coxsackie B.

Patogênese e patologia

O vírus foi isolado do sangue nos estágios iniciais da infecção natural em seres humanos; também é encontrado na garganta, durante alguns dias no estágio inicial da infecção, bem como nas fezes por um período de até 5 a 6 semanas. A distribuição do vírus assemelha-se à dos outros enterovírus.

Manifestações clínicas

O período de incubação da infecção por vírus Coxsackie varia de 2 a 9 dias. As manifestações clínicas da infecção por vários vírus Coxsackie são diversas, podendo ocorrer em forma de entidades mórbidas distintas (Quadro 36.3); variam de doença febril branda do SNC a doenças de pele, cardíacas e respiratórias. Os exemplos fornecidos não são completos, e diferentes sorotipos podem estar associados a determinado surto.

A **meningite asséptica** é causada por todos os tipos de vírus Coxsackie do grupo B e por muitos vírus Coxsackie do grupo A, mais comumente A7 e A9. Os sinais iniciais comuns consistem em febre, mal-estar, cefaleia, náuseas e dor abdominal. Às vezes, a doença evolui para fraqueza muscular leve, sugerindo poliomielite parálitica. Os pacientes quase sempre se recuperam por completo da parestesia não causada por poliovírus.

A **herpangina** é uma faringite febril grave, causada por certos vírus do grupo A. Apesar do nome, não tem relação com o herpes-vírus. Verifica-se o início abrupto de febre e faringite, com vesículas discretas isoladas na metade posterior do palato, na faringe, nas tonsilas ou na língua. A doença é autolimitada e mais frequente em crianças de pouca idade.

A **doença da mão, pé e boca** caracteriza-se por ulcerações orais e faríngeas, assim como por erupção vesiculosa das palmas das mãos e plantas dos pés que pode propagar-se para os braços e as pernas. As vesículas cicatrizam sem formar crostas, o que as diferencia clinicamente das vesículas induzidas por herpes-vírus e poxvírus. Esta doença é associada particularmente ao vírus Coxsackie A16, embora a cepa B1 e o enterovírus 71 possam, também, ser associados a essa patologia. O vírus pode ser isolado não apenas das fezes e secreções faríngeas como também do líquido vesiculoso. Tal doença não deve ser confundida com a febre aftosa de bovinos, causada por um picornavírus não relacionado que normalmente não infecta seres humanos.

A **pleurodinia** (também conhecida como mialgia epidêmica) é causada por vírus do grupo B. Em geral, a febre e a dor torácica em pontada têm início abrupto, embora sejam às vezes precedidas de mal-estar, cefaleia e anorexia. A dor torácica pode durar 2 dias a 2 semanas. Ocorre dor abdominal em cerca de 50% dos casos, podendo constituir a principal queixa em crianças. A doença mostra-se autolimitada, e a recuperação é completa, embora seja comum a ocorrência de recidivas.

A **miocardite** é uma doença grave. Trata-se de uma doença aguda do coração e de suas membranas (pericardite). As infecções por vírus Coxsackie B constituem uma causa de doença primária do miocárdio tanto em adultos quanto em crianças. Cerca de 5% das infecções sintomáticas por vírus Coxsackie resultam em cardiopatia. As infecções podem ser fatais em recém-nascidos ou causar lesão cardíaca permanente em qualquer idade. Podem ocorrer infecções virais persistentes do músculo cardíaco, com conseqüente inflamação crônica.

Estima-se que os enterovírus causem 15 a 20% das infecções do trato respiratório, especialmente entre o verão e o outono. Vários enterovírus foram associados a **resfriados comuns e doenças febris não identificadas**.

A **doença generalizada de lactentes** é extremamente grave, sendo o lactente acometido maciçamente por infecções virais simultâneas de vários órgãos, como o coração, o fígado e o cérebro. A evolução clínica pode ser rapidamente fatal, ou o paciente pode recuperar-se por completo. A doença é causada por vírus Coxsackie do grupo B. Nos casos graves, podem ocorrer miocardite ou pericardite nos primeiros 8 dias de vida, podendo ser precedidas de um breve episódio de diarreia e anorexia. Algumas vezes, a doença pode ser adquirida por via transplacentária.

Embora o trato gastrointestinal seja seu local primário de replicação, os enterovírus não causam doença marcante neste local. Certos grupos de vírus Coxsackie (grupo A) têm sido associados à **diarreia** em crianças, mas a casualística é baixa.

Diagnóstico laboratorial

A. Isolamento do vírus

O vírus pode ser isolado de lavados de garganta durante os primeiros dias da doença, bem como das fezes no decorrer das primeiras semanas. Nas infecções causadas por vírus Coxsackie A21, a maior quantidade de vírus é encontrada nas secreções nasais. Nos casos de meningite asséptica, foram isoladas cepas do LCS, bem como do trato alimentar. Nos casos de conjuntivite hemorrágica, foi isolado o vírus A24 de *swabs* da conjuntiva, da garganta e de amostras de fezes.

As amostras são inoculadas em culturas de tecido bem como em camundongos recém-nascidos. Na cultura de tecido, aparece um efeito citopático em 5 a 14 dias. Em camundongos recém-nascidos, os sinais de doença geralmente surgem em 1 a duas semanas. Devido às dificuldades desta técnica, raramente é empregada para isolamento do vírus.

B. Detecção dos ácidos nucleicos

Os métodos para detecção direta de enterovírus fornecem testes rápidos e sensíveis para amostras clínicas. Os testes de PCR baseados em transcrição reversa podem ser largamente reativos (detectam muitos sorotipos) ou mais específicos. Tais ensaios apresentam vantagens sobre os métodos de cultura de células, como o fato de que muitos enterovírus isolados de amostras clínicas apresentam um fraco crescimento nesses meios. Os testes de PCR em tempo real são comparáveis em sensibilidade aos testes de PCR convencionais, sendo, porém, mais fáceis de realizar.

C. Sorologia

Os anticorpos neutralizantes, que aparecem precocemente durante a evolução da infecção, tendem a ser específicos contra o vírus infectante e persistem por vários anos. Os anticorpos séricos também podem ser detectados por outras técnicas, tais como a imunofluorescência. É difícil avaliar os testes sorológicos (devido à multiplicidade dos tipos virais), a não ser que o antígeno empregado no teste tenha sido isolado de um paciente ou durante um surto epidêmico.

Os adultos apresentam anticorpos dirigidos contra maior número de tipos de vírus Coxsackie do que as crianças, o que indica que a exposição múltipla a esses vírus é comum e aumenta com a idade.

Epidemiologia

Os vírus do grupo Coxsackie já foram encontrados em todo o mundo, tendo sido isolados principalmente de fezes humanas, *swabs* de faringe, esgotos e moscas. São detectados anticorpos dirigidos contra vários vírus Coxsackie no soro coletado de indivíduos no mundo inteiro bem como em imunoglobulina misturada.

Os tipos mais frequentes de vírus Coxsackie isolados em todo o mundo no decorrer de um período de 8 anos (1967 a 1974) foram A9 e B2 a B5. Nos EUA, no período de 1970 a 2005, os vírus Coxsackie mais comumente detectados foram os tipos A9, B2 e B4 em padrões endêmicos e o tipo B5 em um padrão epidêmico. Durante 2006 a 2008, o tipo B1 se tornou o mais predominante enterovírus detectado nos EUA. Todavia, em determinado ano ou região, pode-se verificar o predomínio de outro tipo. Um padrão epidêmico é caracterizado por flutuações nos níveis de circulação, enquanto o padrão endêmico mostra um padrão de circulação estável, em níveis baixos com poucos picos.

Os vírus Coxsackie são isolados com maior frequência no verão e início do outono. As crianças desenvolvem anticorpos durante o verão, indicando infecção por vírus Coxsackie nesse período. Tais crianças exibem uma taxa de incidência muito mais elevada de doenças febris benignas agudas durante o verão do que aquelas que não produzem anticorpos contra os vírus Coxsackie.

A exposição familiar é importante na aquisição de infecções causadas por vírus Coxsackie. Introduzido o vírus em um domicílio, as pessoas suscetíveis em geral tornam-se infectadas, embora nem todas desenvolvam doença clinicamente aparente.

Os vírus Coxsackie compartilham muitas propriedades com outros enterovírus. Em virtude de suas semelhanças epidemiológicas, vários enterovírus podem ocorrer juntos na natureza, inclusive no mesmo hospedeiro humano ou nas mesmas amostras de esgoto.

Controle

Não existem vacinas nem antivirais para prevenção ou tratamento das doenças causadas por vírus Coxsackie.

OUTROS ENTEROVÍRUS

Os vírus Echo (vírus entéricos citopatogênicos humanos órfãos), baseados na terminologia histórica, foram reunidos em um grupo pelo fato de infectarem o trato entérico humano e serem isolados de seres humanos apenas através de inoculação em culturas de determinados tecidos. São conhecidos mais de 30 sorotipos, mas nem todos foram associados à doença humana. Os isolados mais recentes são designados como enterovírus numerados. Meningite asséptica, encefalite, doenças febris com ou sem exantema, resfriados comuns e doenças oculares estão entre as doenças causadas por vírus Echo e outros enterovírus.

Manifestações clínicas

Para se estabelecer a associação etiológica de um enterovírus com doença, são utilizados os seguintes critérios: (1) deve haver uma taxa muito mais alta de isolamento do vírus de pacientes com a doença do que de indivíduos sadios de iguais idade e condição socioeconômica que vivem na mesma região ao mesmo tempo; (2) ocorre a produção de anticorpos contra o vírus durante a evolução da doença; nos casos em que a síndrome clínica pode ser causada por outros agentes conhecidos, a evidência virológica ou sorológica deve ser negativa para infecção concomitante por esses agentes; (3) o vírus é isolado de líquidos orgânicos ou tecidos com lesões manifestas, como, por exemplo, do LCS, na presença de meningite asséptica.

Muitos vírus Echo foram associados a meningite asséptica. O exantema é a ocorrência mais comum em crianças de pouca idade. A diarreia em crianças pode estar associada a alguns tipos de vírus Echo, mas a causalidade não foi estabelecida. Para muitos vírus Echo, nenhuma síndrome foi definida.

O enterovírus 70 é a principal causa da conjuntivite hemorrágica aguda, tendo sido isolado da conjuntiva de pacientes com esta impressionante doença ocular que ocorreu de forma pandêmica entre 1969 e 1971 na África e no Sudeste Asiático. A conjuntivite hemorrágica aguda tem início repentino de um quadro de hemorragia subconjuntival. A doença é mais comum em adultos, com um período de incubação de 1 dia e duração de 8 a 10 dias. A recuperação completa é a regra geral. O vírus é altamente contagioso e dissemina-se rapidamente em condições de falta de higiene e superpopulação.

O enterovírus 71 foi isolado de pacientes com meningite, encefalite e paralisia semelhante à poliomielite, sendo uma das principais causas de doença do SNC, às vezes fatal, no mundo inteiro. Um surto da doença das mãos, pé e boca causada por enterovírus 71 ocorreu na China em 2008 e envolveu cerca de 4.500 casos e 22 mortes em crianças e recém-nascidos.

Com a virtual eliminação da poliomielite em países desenvolvidos, as síndromes do SNC, associadas aos vírus Coxsackie, ao vírus Echo e a outros enterovírus, assumiram grande importância. Os vírus Coxsackie em crianças com menos de 1 ano de idade podem resultar em sequelas neurológicas e comprometimento mental. Os enterovírus isolados das amostras de fezes de pacientes com paralisia flácida aguda na Austrália, entre 1996 e 2004, incluíam os vírus Coxsackie A24 e B5; vírus Echo 9, 11 e 18; assim como enterovírus 71 e 75. O enterovírus 71 foi o mais comum.

Diagnóstico laboratorial

Em um caso isolado, é impossível estabelecer o diagnóstico de infecção por vírus Echo em bases clínicas. Entretanto, deve-se considerar a presença de vírus Echo nas seguintes situações epidêmicas: (1) surtos de meningite asséptica no verão; (2) epidemias de doença com exantema durante o verão, particularmente em crianças de pouca idade.

O diagnóstico depende dos exames laboratoriais. Os ensaios de detecção dos ácidos nucleicos, como a PCR, são mais rápidos do que o isolamento do vírus para diagnóstico. Embora vírus específicos não possam ser identificados pela PCR, frequentemente não é necessário determinar o sorotipo específico de um enterovírus associado a uma doença.

O isolamento do vírus pode ser acompanhado de *swabs* de garganta, amostras de fezes, *swabs* retais e, na meningite asséptica, LCS. Os testes sorológicos não são práticos em virtude dos inúmeros tipos de vírus, exceto quando se isola um vírus de um paciente ou durante um surto de doença clínica típica. Os anticorpos neutralizantes e os anticorpos inibidores da hemaglutinação são específicos do tipo e podem persistir durante vários anos.

Se determinado agente for isolado em cultura de tecido, poderá ser testado contra diferentes misturas de antissoros dirigidos contra os enterovírus. A determinação do tipo de vírus presente depende de testes de imunofluorescência ou de neutralização. Pode ocorrer infecção simultânea por dois ou mais enterovírus.

Epidemiologia

A epidemiologia dos vírus Echo assemelha-se a dos outros enterovírus. Ocorrem em todas as partes do mundo e tendem a ser encontrados mais em indivíduos jovens do que em idosos. Nas regiões temperadas, as infecções são observadas principalmente no verão e no outono, sendo cerca de 5 vezes mais frequentes em crianças de famílias de baixa renda do que naquelas que vivem em situações mais favoráveis.

Os vírus Echo mais comumente isolados em todo o mundo no período de 1967 a 1974 foram os tipos 4, 6, 9, 11 e 30. De 1970 a 2005 nos EUA, os vírus Echo detectados com maior frequência foram os tipos 6, 9, 11, 13 e 30, juntamente com os vírus Coxsackie A9, B2, B4 e B5; e o enterovírus 71; e as doenças observadas com maior frequência nesses pacientes foram meningite asséptica e encefalite. Entretanto, como no caso de todos os enterovírus, pode ocorrer a disseminação de diferentes sorotipos, que podem espalhar-se amplamente.

Parece haver um núcleo consistente de circulação de enterovírus que determinam o volume da doença. Quinze sorotipos respondem por 83% dos casos relatados nos EUA de 1970 a 2005. Crianças com até 1 ano respondem por 44% dos relatos da doença.

Os estudos de famílias nas quais foram introduzidos enterovírus mostraram a facilidade com que esses vírus se propagam, bem como a alta frequência de infecção em indivíduos que não produziram anticorpos devido a exposições anteriores, o que se aplica a todos os enterovírus.

Controle

É aconselhável evitar o contato de crianças de pouca idade com pacientes que exibem doença febril aguda. Não existem antivirais nem vacinas (além daquelas contra os poliovírus) para tratamento ou prevenção de qualquer doença causada por enterovírus.

ENTEROVÍRUS NO AMBIENTE

Os seres humanos constituem os únicos reservatórios conhecidos de membros do grupo dos enterovírus humanos. Em geral, esses vírus são eliminados por períodos mais prolongados nas fezes do que nas secreções do trato gastrointestinal superior. Por conseguinte, a contaminação fecal (mãos, utensílios, alimentos, água) constitui a via habitual de disseminação do vírus. Os enterovírus são encontrados em quantidades variáveis em esgotos, podendo constituir uma fonte de contaminação do suprimento de água para beber, tomar banho, efetuar irrigações ou para fins recreativos (Fig. 36.4); sobrevivem à exposição ao tratamento e cloração dos esgotos, e os dejetos humanos em

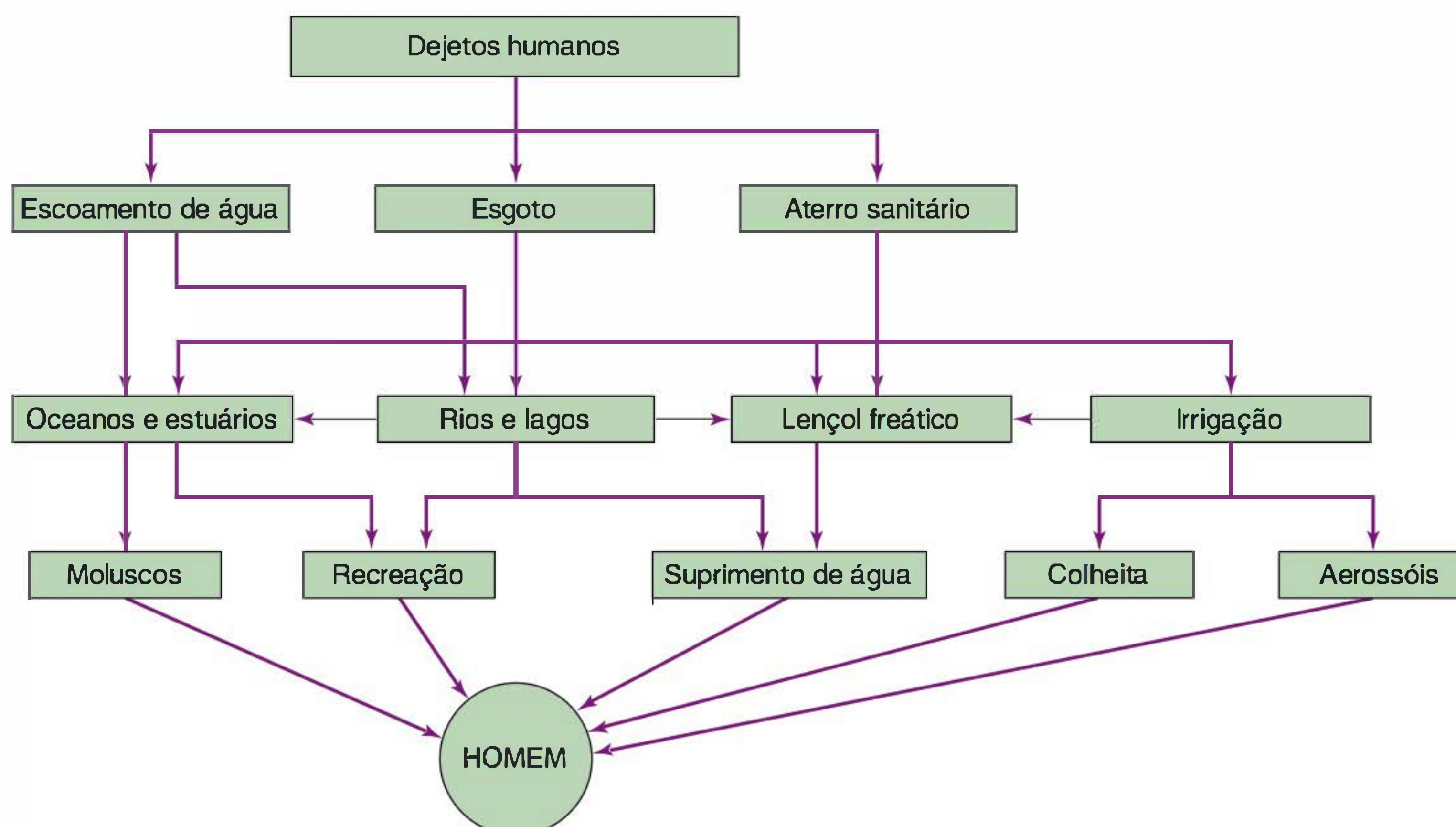


FIGURA 36.4 Vias de possível transmissão de enterovírus no ambiente (Reproduzida, com autorização, Melnick JL, Gerba CP, Wallis C: Viruses in water. *Bull World Health Org* 1978;56:499.)

grande parte do mundo são descarregados em águas naturais, com pouco ou nenhum tratamento. É difícil reconhecer os surtos por enterovírus transmitidos pela água, tendo-se constatado que esses vírus podem atingir longas distâncias da fonte de contaminação, permanecendo infecciosos. A adsorção a materiais orgânicos e sedimentos protege os vírus da inativação e favorece seu transporte. Constatou-se que os moluscos filtradores (ostras, mexilhões, mariscos) concentram os vírus da água e, quando inadequadamente cozidos, podem transmitir a doença. Os padrões bacteriológicos que utilizam os índices de coliformes fecais como meio de monitoramento da qualidade da água provavelmente não refletem de maneira adequada o potencial de transmissão da doença viral.

GRUPO DOS RINOVÍRUS

Os rinovírus são os vírus causadores do resfriado comum. Trata-se dos agentes mais comumente isolados de pessoas com doença leve das vias respiratórias superiores. Em geral, são isolados das secreções nasais, mas também podem ser encontrados na garganta e em secreções orais. Esses vírus — assim como os coronavírus, adenovírus, enterovírus, vírus *parainfluenza* e vírus *influenza* — provocam infecções das vias respiratórias superiores, como a síndrome do resfriado comum. Os rinovírus também são responsáveis por cerca de metade das exacerbações da asma.

Classificação

Os rinovírus humanos isolados são numerados sequencialmente. Mais de 150 espécies são conhecidas. Os isolados da mesma espécie partilham mais de 70% de identidade das sequências dentro de certas regiões codificantes de proteínas.

Os rinovírus humanos podem ser divididos em grupos receptores principais e menores. Os vírus dos grupos principais usam moléculas de adesão intercelular do tipo 1 (ICAM-1) como receptores, e os do grupo menor ligam-se à família de receptores da lipoproteína de baixa densidade (LDLR).

Propriedades do vírus

A. Propriedades gerais

Os rinovírus compartilham muitas características com outros enterovírus, mas diferem destes por terem uma densidade de flutuação em cloreto de cério de 1,40 g/mL e por serem acidolábeis. Os virions são instáveis abaixo de pH de 5,0 a 6,0, ocorrendo inativação completa a pH de 3,0. Os rinovírus são mais termoestáveis que os enterovírus e podem sobreviver por horas em superfícies inertes.

A identidade da sequência dos nucleotídeos sobre o genoma completo é maior que 50% entre todos os rinovírus, bem como entre os enterovírus e os rinovírus. Existe maior ou menor identidade para determinadas regiões do genoma.

Em 2009, os genomas de todas as cepas conhecidas de rinovírus foram sequenciados, tendo-se definido as regiões conservadas e divergentes. Essas informações irão facilitar o conhecimento do potencial patogênico e o desenho de fármacos antivirais e vacinas.

B. Suscetibilidade dos animais e crescimento do vírus

Estes vírus são infecciosos apenas para seres humanos, gibões e chimpanzés; podem ser cultivados em diversas linhagens celulares humanas, como WI-38 e MRC-5. Podem ser necessárias culturas de órgãos do epitélio traqueal do furão e de seres humanos para algumas cepas exigentes. A maioria apresenta melhor crescimento a 33°C — isto é, a uma temperatura semelhante à encontrada na nasofaringe dos seres humanos — do que a 37°C.

C. Propriedades antigênicas

São conhecidos mais de 150 sorotipos. Os novos sorotipos baseiam-se na ausência de reatividade cruzada em testes de neutralização que utilizam antissoros policlonais. O rinovírus 87 é considerado atualmente o mesmo sorotipo que o enterovírus humano 68.

Patogênese e patologia

O vírus penetra no organismo através das vias respiratórias superiores. A presença de títulos elevados do vírus nas secreções nasais — que já pode ser detectado 2 a 4 dias após a exposição — está associada à ocorrência de doença de gravidade máxima. Posteriormente, observa-se um declínio dos títulos, embora a doença persista. Em alguns casos, o vírus continua sendo detectável durante 3 semanas. Existe uma correlação direta entre a quantidade de vírus nas secreções e a gravidade da doença.

A replicação do vírus limita-se ao epitélio superficial da mucosa nasal. As biópsias que revelam alterações histopatológicas limitam-se à submucosa e ao epitélio superficial, incluindo edema e infiltração celular discreta. A secreção nasal aumenta em quantidade e na sua concentração proteica.

Os rinovírus raramente causam infecções das vias respiratórias inferiores em indivíduos saudáveis, embora possam estar associados à maioria das exacerbações agudas de asma. Experimentos efetuados em condições controladas mostraram que o resfriamento, inclusive o uso de roupas úmidas, não provoca resfriado nem aumenta a suscetibilidade ao vírus. O calafrio constitui um sintoma inicial do resfriado comum.

Manifestações clínicas

O período de incubação é curto, de 2 a 4 dias, e em geral a doença aguda dura 7 dias, embora possa persistir uma tosse improdutiva durante 2 a 3 semanas. O adulto médio apresenta um ou dois episódios por ano. Os sintomas habituais em adultos consistem em espirros, obstrução e corrimento nasais e faringite. Outros sintomas podem consistir em cefaleia, tosse discreta, mal-estar e sensação de calafrio. Ocorre pouca ou nenhuma febre. As mucosas nasal e nasofaríngea tornam-se avermelhadas e edematosas. Não existe achado clínico distinto que permita o estabelecimento de um diagnóstico etiológico de resfriado comum causado por rinovírus *versus* resfriado provocado por outros vírus. A infecção bacteriana secundária pode induzir otite média aguda, sinusite, bronquite ou pneumonite, particularmente em crianças.

Imunidade

Verifica-se a produção de anticorpos neutralizantes contra o vírus infectante no soro e nas secreções da maioria das pessoas. Conforme o teste efetuado, as estimativas da frequência de resposta variam de 37% a mais de 90%.

São produzidos anticorpos 7 a 21 dias após a infecção; o tempo para o aparecimento de anticorpos neutralizantes nas secreções nasais é idêntico ao dos anticorpos séricos. Em virtude de a recuperação da doença normalmente ocorrer antes da presença de anticorpos, parece que a recuperação não depende de anticorpos. Entretanto, eles podem ser responsáveis pela eliminação final da infecção. Os anticorpos séricos persistem por anos, mas seu título diminui.

Epidemiologia

A doença ocorre em todo o mundo. Nas regiões temperadas, as taxas de incidência são mais elevadas no início do outono e no final da primavera. As taxas de prevalência são mais baixas durante o verão. Os membros de comunidades isoladas formam grupos altamente suscetíveis.

Acredita-se que o vírus seja transmitido por contato íntimo, por meio de secreções respiratórias contaminadas por vírus. Os dedos de um indivíduo com resfriado geralmente estão contaminados, e ocorre transmissão para pessoas suscetíveis por contato entre as mãos, entre as mãos e os olhos ou entre as mãos e algum objeto (p. ex., maçaneta da porta). Os rinovírus podem sobreviver durante horas em superfícies inertes contaminadas. A autoinoculação após a contaminação das mãos pode constituir uma forma de propagação mais importante que as partículas transportadas pelo ar.

As taxas de infecção são mais elevadas entre lactentes e crianças em geral, diminuindo com a idade. A família constitui um importante local de disseminação dos rinovírus. Em geral, a introdução do vírus é atribuível a crianças de idades pré-escolar e escolar. As taxas de ataques secundários em famílias variam de 30 a 70%. As infecções em crianças são assintomáticas, enquanto as infecções em adultos são, com frequência, sintomáticas.

Em uma única comunidade, vários sorotipos de rinovírus causam surtos de doença em uma única estação, predominando diferentes sorotipos durante estações diversas com doenças respiratórias diferentes. Existe geralmente um número limitado de sorotipos que causam doença em determinado momento.

Tratamento e controle

Não existe método de prevenção ou tratamento específicos. É pouco provável que seja desenvolvida uma vacina potente contra o rinovírus em virtude da dificuldade de crescimento do vírus em altos títulos em cultura, da imunidade transitória e da multiplicidade de sorotipos que causam o resfriado.

Acredita-se que os antivirais constituam, mais provavelmente, uma medida de controle dos rinovírus em virtude dos problemas associados ao desenvolvimento de uma vacina. Muitos compostos eficazes *in vitro* não mostraram eficácia clínica.

Foi constatada a eficácia de um esquema de 5 dias de interferon α intranasal em altas doses, na prevenção da transmissão de rinovírus de um caso em uma família, mas essa abordagem não foi eficaz como tratamento de infecções estabelecidas.

GRUPO DOS PARECHOVÍRUS

Este gênero foi definido na década de 1990 e contém 14 tipos, dos quais os tipos 1 e 2 foram originalmente classificados como vírus Echo 22 e 23. Os parechovírus são altamente divergentes dos enterovírus; nenhuma proteína possui mais de 30% de identidade com as proteínas correspondentes dos outros picornavírus. O capsídeo contém três proteínas, que, como a proteína precursora VPO, não sofrem clivagem.

As infecções por parechovírus são adquiridas com frequência na primeira infância. Os vírus se replicam nos tratos respiratório e gastrointestinal. Têm sido citados como causadores de doenças similares a doenças causadas por outros enterovírus, tais como doenças gastrointestinais e respiratórias, meningoencefalite, otite média e doenças neonatais. O parechovírus tipo 1 foi um dos 15 enterovírus mais comuns detectados de 2006 a 2008. Contudo, esse grupo não pode ser devidamente detectado por métodos moleculares específicos para detecção dos enterovírus. Assim, sua prevalência geralmente é subestimada.

FEBRE AFTOSA (AFTOVÍRUS DE BOVINOS)

Essa doença altamente infecciosa em animais de casco, como bovinos, ovinos, suínos e caprinos, é rara nos EUA, porém endêmica em outros países. Pode ser transmitida aos seres humanos por contato ou ingestão. Nos seres humanos, a doença caracteriza-se por febre, salivação e vesiculação das mucosas da orofaringe bem como da pele das palmas das mãos, plantas dos pés e dedos das mãos e dos pés.

O vírus é um picornavírus típico, acidolábil (as partículas são instáveis a pH inferior a 6,8), com densidade de flutuação em cloreto de cério de 1,43 g/mL. Existem pelo menos 7 tipos, com mais de 50 subtipos.

Nos animais, a doença é altamente contagiosa nos estágios iniciais da infecção, quando ocorre viremia, e as vesículas na boca e nos pés sofrem ruptura bem como liberam grandes quantidades de vírus. O material excretado permanece infeccioso por longos períodos. Nos animais, a taxa de mortalidade geralmente é baixa, mas pode atingir 70%. Os animais infectados tornam-se produtores deficientes de leite e carne. Muitos bovinos atuam como focos de infecção por um período de até 8 meses. A imunidade após a infecção é de curta duração.

Uma variedade de animais mostra-se suscetível à infecção e o vírus foi isolado de pelo menos 70 espécies de mamíferos. A doença típica pode ser reproduzida por inoculação dos vírus nos coxins plantares. Foram preparadas vacinas tratadas com formol de vírus em culturas de tecido. Todavia, essas vacinas não induzem imunidade duradoura. Estão sendo desenvolvidas novas vacinas com base na tecnologia do DNA recombinante.

Os métodos de controle da doença são determinados pelo seu elevado grau de contagiosidade e a resistência do vírus à inativação. Nos EUA, quando ocorrem focos de infecção todos os animais expostos são sacrificados e suas carcaças destruídas. Estabelece-se uma quarentena rigorosa, e a área só é considerada segura depois que todos os animais suscetíveis não desenvolvem sintomas durante um período de 30 dias. Outro

método é a quarentena do rebanho e a vacinação de todos os animais não acometidos. Outros países vêm empregando com sucesso esquemas de vacinação sistemática. Alguns países (p. ex., EUA e Austrália) proíbem a importação de materiais potencialmente infectantes, como carne fresca, de modo que a doença foi eliminada nessas regiões.

RESUMO DO CAPÍTULO

- A família *Picornaviridae* é um grupo grande e formado por muitos membros.
- Os picornavírus são vírus pequenos, de RNA de fita simples, que são replicados no citoplasma. O isolado genômico de RNA é infeccioso.
- Uma protease viral bloqueia a síntese proteica do hospedeiro, resultando na síntese preferencial das proteínas virais.
- Cerca de 100 sorotipos de enterovírus e um adicional de 150 sorotipos de rinovírus são até o momento identificados.
- Alguns dos principais patógenos humanos estão nesta família de vírus incluindo os poliovírus, rinovírus e outros enterovírus.
- As doenças causadas por esses vírus incluem paralisia, meningite asséptica, pleurodinia, miocardites, hepatites, lesões cutâneas, doenças respiratórias, diarreia, febres, conjuntivites, resfriado comum e doenças infantis graves.
- Os rinovírus são os causadores do resfriado comum.
- A contaminação fecal é o mecanismo mais comum de disseminação, incluindo como fontes água, alimentos, mãos e objetos contaminados.
- Os rinovírus são transmitidos por secreções respiratórias contaminadas, sendo a contaminação pelas mãos um importante meio de transmissão.
- A infecção subclínica é a condição mais comum causada pelos enterovírus.
- Nenhum reservatório animal é conhecido para os enterovírus humanos.
- Tanto vacinas atenuadas quanto inativadas contra pólio estão disponíveis.
- Um programa mundial para erradicação da poliomielite está ocorrendo.
- A febre aftosa é uma zoonose grave e altamente contagiosa, causada por um picornavírus alocado no gênero *Aphthovirus* e que pode se manifestar nos seres humanos.

QUESTÕES DE REVISÃO

1. Qual das seguintes afirmativas sobre os rinovírus é correta?
 - (A) Existem três tipos antigênicos
 - (B) A amantadina protege contra infecção
 - (C) Esses vírus não sobrevivem em superfícies do ambiente
 - (D) São os mais frequentes agentes causadores do resfriado comum
 - (E) Partilham similaridades físico-químicas com o coronavírus
2. Um homem de 26 anos de idade desenvolveu miopericardite com deficiência cardíaca congestiva leve que piorou nas últimas semanas. Foi diagnosticada uma infecção por vírus Coxsackie B5. Qual das seguintes síndromes clínicas não está associada a infecções por vírus Coxsackie?

- (A) Herpangina
 - (B) Miocardite/pericardite
 - (C) Meningite asséptica
 - (D) Conjuntivite hemorrágica aguda
 - (E) Atrofia muscular progressiva pós-pólio
3. Um recém-nascido de 3 meses desenvolveu febre, agitação e choro incomum. Estes sintomas foram seguidos de aparente letargia. Ao exame físico, mostrou aparência normal, porém com respostas mínimas à estimulação. Foi feita uma punção lombar de líquido cefalorraquidiano, com 200 leucócitos/mL e predomínio de linfócitos. Foi diagnosticada meningite aguda asséptica, provavelmente causada por um enterovírus. Os enterovírus são caracterizados por:
 - (A) Latência nos gânglios sensoriais e reativação primária nos pacientes imunocomprometidos
 - (B) Transmissão primária pela via orofecal
 - (C) Presença de uma enzima DNA — polimerase
 - (D) Entrada de células seguida de ligação ao receptor ICAM-1
 - (E) Variação e mudança antigênica
 4. As vacinas contra o picornavírus têm sido empregadas há algumas décadas na prevenção de doenças humanas. Qual das seguintes afirmativas é correta?
 - (A) As vacinas de poliovírus atenuadas produzem resistência no trato gastrointestinal
 - (B) Existe uma vacina de vírus inativado (morto) eficaz contra os três tipos principais de rinovírus
 - (C) A vacina atenuada contra o poliovírus induz imunidade protetora contra os vírus estreitamente relacionados com os vírus Coxsackie tipo B
 - (D) Nenhuma das vacinas disponíveis contra enterovírus deve ser administrada a pacientes imunodeprimidos
 - (E) Nos EUA, somente a vacina atenuada contra o poliovírus é atualmente recomendada para uso
 5. Um mês após o início do período escolar de verão ter terminado, uma adolescente de 16 anos de idade desenvolveu febre, mialgia e cefaleia. Sabe-se que um surto de uma doença com sintomas semelhantes aos causados por um vírus Echo ocorreu na comunidade. O(s) local(is) anatômico(s) primário(s) para multiplicação do vírus Echo no hospedeiro humano é (são) o(s):
 - (A) Sistema muscular
 - (B) Sistema nervoso central
 - (C) Trato alimentar
 - (D) Sistemas sanguíneo e linfático
 - (E) Sistema respiratório
 6. Qual das seguintes propriedades dos enterovírus não é compartilhada pelos rinovírus?
 - (A) Genoma do RNA de fita simples
 - (B) Produção de proteínas virais a partir da clivagem de uma poliproteína precursora
 - (C) Resistência aos solventes lipídicos
 - (D) Estabilidade a pH ácido (pH de 3)
 - (E) Simetria icosaédrica
 7. Uma pessoa com asma sofreu uma exacerbação aguda com aumento de doença respiratória baixa. Um vírus foi isolado. Qual dos seguintes tipos virais é o mais provável de ter sido isolado?
 - (A) *Parainfluenza*
 - (B) Parechovírus
 - (C) Rinovírus
 - (D) Vírus sincicial respiratório
 - (E) Vírus Echo

8. O uso da vacina atenuada contra pólio foi substituído pela vacina inativada em muitos países. Qual das seguintes alternativas corresponde ao principal motivo para esse fato?
- A vacina atenuada é mais cara que a vacina inativada
 - Existe um risco maior de doença induzida pela vacina do que a doença induzida pelo vírus selvagem em áreas das quais a poliomielite tenha sido erradicada
 - A vacina inativada requer dose única, enquanto a vacina oral exige várias doses
 - As cepas de poliovírus circulantes têm mudado e a vacina atenuada não é mais eficaz em muitos países
9. Surtos da doença de mãos, pés e boca, caracterizados por ulcerações orais e eritemas vesiculares, ocorrem e podem resultar em mortes de crianças. A doença é causada por:
- Vírus da doença de mãos, pés e boca
 - Vírus da varíola de frangos
 - Enterovírus (não poliovírus)
 - Rinovírus
 - Vírus da rubéola
10. Estudos epidemiológicos indicam que um grupo central de enterovírus está circulando constantemente nos EUA. Qual das seguintes afirmativas é a mais correta?
- Todos os membros do grupo central apresentam um padrão epidêmico de surtos da doença
 - O grupo inclui cerca de metade dos enterovírus conhecidos
 - A doença ocorre predominantemente em adolescentes e adultos
 - Os membros do grupo são todos classificados como vírus Coxsackie A e B
 - Este grupo central determina a maioria das doenças causadas por enterovírus
11. As afirmações abaixo sobre os rinovírus estão corretas, *exceto*:
- Os rinovírus são os principais agentes virais associados ao resfriado comum.
 - Os rinovírus se desenvolvem melhor entre 33°C e 37°C, assim causando infecções mais no trato respiratório superior, do que no trato respiratório inferior.
 - Os rinovírus são membros da família *Picornaviridae* e se assemelham aos poliovírus em sua estrutura e replicação.
 - A imunidade atribuída pela vacina contra os rinovírus é excelente, uma vez que esse grupo apresenta um único sorotipo.
12. Duas vacinas contra a pólio estão disponíveis: a atenuada (OPV) e a inativada (IPV). Em qual das seguintes situações a vacina OPV é mais indicada?
- Vacinação infantil de rotina
 - Programa de vacinação em massa em áreas endêmicas
 - Imunização de adultos
 - Pacientes submetidos a terapias imunossupressoras
 - Famílias que apresentam indivíduos imunocomprometidos
13. Qual das seguintes afirmações sobre a meningite causada por enterovírus está correta?
- Vacinas estão geralmente disponíveis para prevenção dessa doença
 - O principal sintoma é a paralisia muscular
 - A transmissão geralmente é orofecal
 - Os agentes causadores não sobrevivem bem no ambiente
 - A recuperação é raramente completa
14. A principal dificuldade em controlar os rinovírus no trato respiratório superior por imunização é:
- A baixa resposta imune sistêmica e local para esses vírus
 - O grande número de sorotipos diferentes
 - Os efeitos colaterais da vacinação
 - A inabilidade de crescer o vírus em cultura de células
15. Qual das seguintes síndromes clínicas não está associada à infecção por picornavírus?
- Miocardites ou pericardites
 - Hepatite
 - Mononucleose
 - Menigites

Respostas

- | | | | |
|------|------|-------|-------|
| 1. D | 5. C | 9. C | 13. C |
| 2. E | 6. D | 10. E | 14. B |
| 3. B | 7. C | 11. D | 15. C |
| 4. A | 8. B | 12. B | |

REFERÊNCIAS

- Chumakov K, Ehrenfeld E: New generation of inactivated poliovirus vaccines for universal immunization after eradication of poliomyelitis. *Clin Infect Dis* 2008;47:1587.
- Enterovirus surveillance—United States, 1970–2005. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2006;55(SS-8).
- Harvala H, Simmonds P: Human parechoviruses: Biology, epidemiology and clinical significance. *J Clin Virol* 2009; 45:1.
- Mahony JB: Detection of respiratory viruses by molecular methods. *Clin Microbiol Rev* 2008;21:716.
- Pallansch M, Roos R: Enteroviruses: Polioviruses, coxsackieviruses, echoviruses, and newer enteroviruses. In Knipe DM, Howley PM (editors-in-chief). *Fields Virology*, 5th ed. Lippincott Williams & Wilkins, 2007.
- Polio vaccines and polio immunization in the pre-eradication era: WHO position paper. *World Health Org Wkly Epidemiol Rec* 2010; 85:213.
- Turner RB, Couch RB: Rhinoviruses. In Knipe DM, Howley PM (editors-in-chief). *Fields Virology*, 5th ed. Lippincott Williams & Wilkins, 2007.
- Whitton JL, Cornell CT, Feuer R: Host and virus determinants of picornavirus pathogenesis and tropism. *Nat Rev Microbiol* 2005;3:765.

Reovírus, rotavírus e calicivírus

Os reovírus são vírus de tamanho médio, com genoma RNA de fita dupla e segmentado. A família inclui os rotavírus humanos, que constituem a causa mais importante da gastroenterite infantil em todo o mundo (Fig. 37.1). A gastroenterite aguda é uma doença muito comum, de grande impacto na saúde pública. Nos países em desenvolvimento, estima-se que a gastroenterite aguda seja responsável, anualmente, por até 1,5 milhão de mortes de crianças em idade pré-escolar, das quais os rotavírus são responsáveis por cerca de 600.000 mortes. Nos EUA, a gastroenterite aguda é a segunda causa de doença em famílias depois das infecções respiratórias agudas.

Os calicivírus são vírus pequenos com um genoma RNA de fita simples. A família contém os norovírus, a principal causa de gastroenterite epidêmica não bacteriana no mundo. Os astrovírus também causam gastroenterites.

REOVÍRUS E ROTAVÍRUS

No Quadro 37.1, é fornecido um resumo das propriedades importantes dos reovírus.

Estrutura e composição

Os virions medem 60 a 80 nm e têm dois capsídeos concêntricos, ambos icosaédricos. (Os rotavírus exibem uma estrutura em três camadas.) Os rotavírus não possuem envelope. As

partículas virais com capsídeos únicos, que não têm o capsídeo externo, apresentam 50 a 60 nm de diâmetro. O núcleo das partículas mede 33 a 40 nm de diâmetro (Fig. 37.2). A partícula com duplo capsídeo é a forma infecciosa completa do vírus.

O genoma dos reovírus consiste em RNA de fita dupla com 10 a 12 segmentos distintos, apresentando um genoma total de 16 a 27 kbp, dependendo do gênero. Os rotavírus contêm 11 segmentos genômicos, enquanto os ortoreovírus e os orbivírus exibem, cada qual, 10 segmentos, e os coltívirus, 12. Os segmentos de RNA variam de tamanho, desde 680 bp (rotavírus) até 3.900 bp (ortoreovírus). O núcleo do virion contém várias enzimas necessárias à transcrição e *capping* dos RNA virais.

Os rotavírus são estáveis ao aquecimento a 50°C, a uma faixa de pH de 3 a 9, e a solventes lipídicos, tais como o clorofórmio, porém são inativados pelo etanol a 95%, fenol e cloro. O tratamento limitado com enzimas proteolíticas aumenta a infecciosidade.

Classificação

A família *Reoviridae* é dividida em 15 gêneros, quatro deles com capacidade de infectar seres humanos e animais: *Orthoreovirus*, *Rotavirus*, *Coltivirus* e *Orbivirus*. Estes gêneros podem ser inseridos em duas subfamílias: *Spinareovirinae*, contendo vírus com grandes espículas e 12 vértices por partícula (p. ex., *Orthoreovirus*), enquanto aos vírus alocados na subfamília

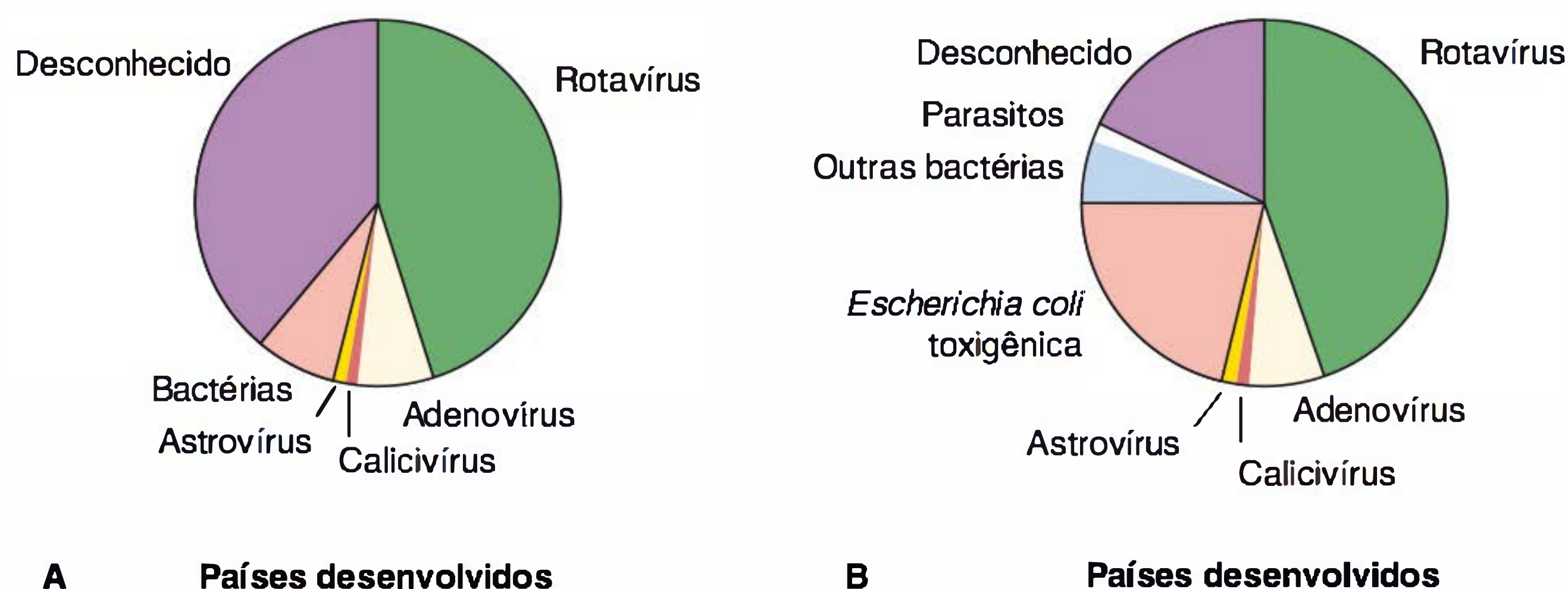


FIGURA 37.1 Estimativa do papel dos agentes etiológicos em doenças diarreicas graves que exigem hospitalização de lactentes e crianças de pouca idade. (A) Nos países em desenvolvimento. (B) Nos países em desenvolvimento. (Reproduzida, com autorização, de Kapikian AZ: Viral gastroenteritis. *JAMA* 1993;269:627.)

QUADRO 37.1 Propriedades importantes dos reovírus

Virion: icosaédrico, 60 a 80 nm de diâmetro, capsídeo duplo
Composição: RNA (15%), proteína (85%)
Genoma: RNA de fita dupla, linear e segmentado (10 a 12 segmentos); tamanho do genoma total 16 a 27 kbp
Proteínas: nove proteínas estruturais, núcleo contendo diversas enzimas
Envelope: ausente (verifica-se a presença de um pseudoenvelope transitório durante a morfogênese das partículas do rotavírus)
Replicação: citoplasma; os virions não sofrem desnudamento completo
Características marcantes: Ocorre recombinação genética facilmente Os rotavírus são a principal causa de diarreia infantil Os reovírus são bons modelos para estudos moleculares de patogênese viral

Sedoreovirinae aparentam ser mais lisos, com a ausência das projeções de superfície (p. ex., *Rotavirus*).

Existem pelo menos cinco espécies ou grupos de rotavírus (A a E), mais duas espécies ainda não completamente definidas (F e G). Até o momento, apenas três espécies comprovadamente (A, B, C) infectam seres humanos. As cepas de origens humana e animal podem exibir o mesmo sorotipo. Outros grupos de rotavírus e sorotipos são encontrados apenas em animais. São reconhecidos três sorotipos de reovírus, cerca de 100 sorotipos de orbivírus e dois de coltívirus.

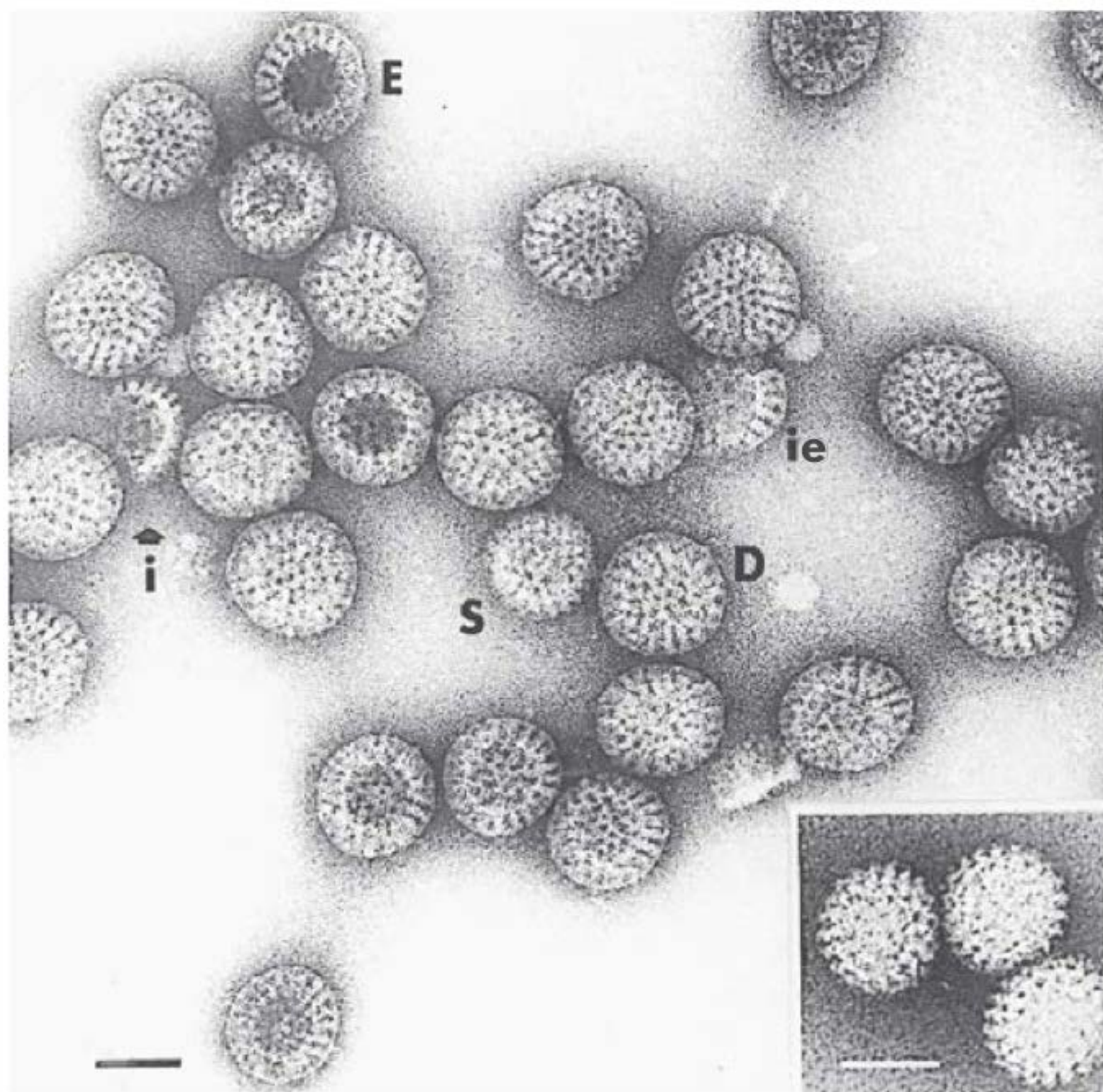


FIGURA 37.2 Micrografia eletrônica de uma preparação de coloração negativa de rotavírus humano. (D, partículas com capsídeo duplo; S, partículas com capsídeo simples; V, capsídeos vazios; i, fragmento do capsídeo interno; ie, fragmentos de uma combinação de capsídeos interno e externo.) **No detalhe:** Partículas com capsídeo simples obtidas mediante o tratamento da preparação do vírus com dodecil sulfato de sódio. Barras, 50 nm. (Cortesia de J Esparza e F Gil.)

Replicação dos reovírus

As partículas virais fixam-se a receptores específicos na superfície celular (Fig. 37.3). A proteína de fixação celular dos reovírus é a hemaglutinina viral (proteína $\sigma 1$), um componente menor do capsídeo externo.

Após fixação e penetração, ocorre o desnudamento das partículas virais em lisossomos no citoplasma da célula. Apenas o capsídeo externo do vírus é removido, e verifica-se a ativação de uma RNA-transcriptase associada ao núcleo que transcreve moléculas de RNAm da fita negativa de cada segmento de RNA de fita dupla do genoma contido no núcleo intacto. Existem sequências terminais curtas em ambas as extremidades dos segmentos de RNA conservadas entre todos os isolados de um determinado subgrupo. Essas sequências conservadas podem ser sinais de reconhecimento para a transcriptase viral. As moléculas funcionais de RNAm correspondem aos segmentos do genoma quanto a seu tamanho. A maior parte dos segmentos de RNA codifica uma única proteína, embora uns poucos (dependendo do vírus) codifiquem duas proteínas. Os núcleos de reovírus contêm as enzimas necessárias para transcrição, *cap-ping* e extrusão dos RNAm do núcleo, mantendo os segmentos de RNA de fita dupla no interior.

Uma vez excluídos do núcleo, os RNAm são traduzidos em produtos gênicos primários. Algumas das transcrições completas são depositadas em capsídeos para formar partículas virais imaturas. Uma replicase viral é responsável pela síntese das fitas de sentido negativo para formar os segmentos de fita dupla do genoma. Essa replicação para formar uma progênie de RNA de fita dupla ocorre em estruturas do núcleo parcialmente completas. Os mecanismos que asseguram a organização do complemento correto dos segmentos do genoma em um núcleo viral em desenvolvimento permanecem desconhecidos. Entretanto, o reagrupamento do genoma ocorre facilmente em células coinfetadas com vírus diferentes de um mesmo subgrupo, dando surgimento a partículas virais contendo segmentos de RNA de diferentes cepas parentais. Os polipeptídeos virais provavelmente se auto-organizam para formar os capsídeos interno e externo.

Os reovírus produzem corpos de inclusão no citoplasma, onde são encontradas partículas virais. Essas fábricas virais estão estreitamente associadas a estruturas tubulares (microtúbulos e filamentos intermediários). A morfogênese dos rotavírus envolve o brotamento de partículas de capsídeo único no retículo endoplasmático rugoso. Os “pseudoenvelopes” assim adquiridos são, então, removidos e os capsídeos externos acrescentados (Fig. 37.3). Essa via incomum é utilizada devido à glicosilação da proteína principal do capsídeo externo.

A lise celular resulta na liberação da progênie dos virions.

ROTAVÍRUS

Os rotavírus constituem uma importante causa de doença diarreica em lactentes humanos e animais novos, inclusive bezerros e leitões. Infecções em seres humanos e animais adultos também são comuns. Entre os rotavírus, destacam-se os agentes da diarreia infantil humana, da diarreia dos bezerros de Nebraska, da epizootica dos filhotes de camundongos e o vírus SA11 dos macacos.

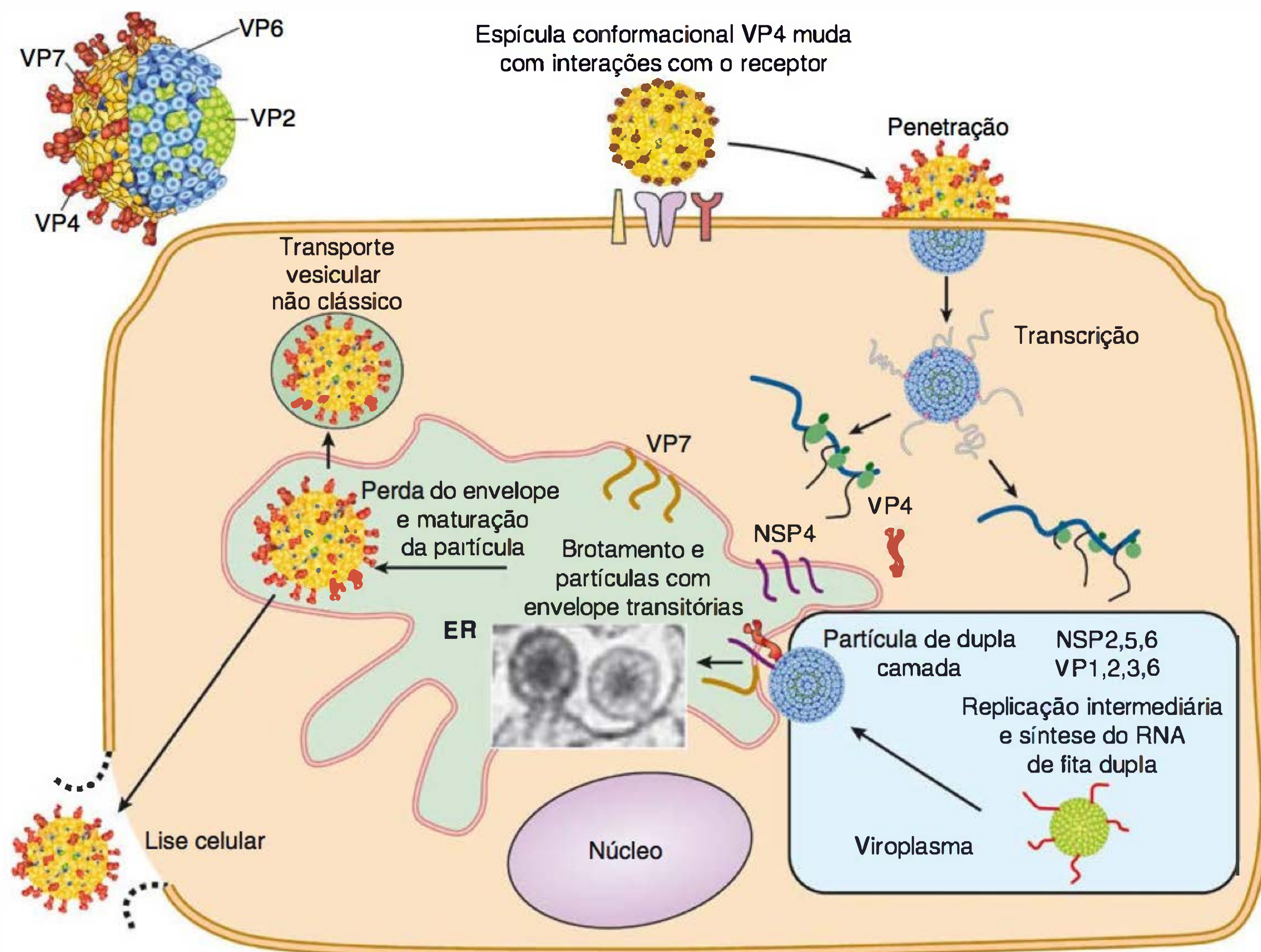


FIGURA 37.3 Visão geral do ciclo de replicação do rotavírus. (Cortesia de MK Estes.)

Os rotavírus assemelham-se aos reovírus em sua morfologia e na estratégia de replicação.

Classificação e propriedades antigênicas

Os rotavírus são classificados em cinco espécies (A a E), mais duas espécies tentativas (F e G), com base em epítopos antigênicos da estrutura interna da proteína VP6. Esses antígenos podem ser detectados por imunofluorescência, Elisa e imunomicroscopia eletrônica (IME). Os rotavírus do grupo A são os mais frequentes patógenos humanos. As proteínas do capsídeo externo, VP4 e VP7, transportam epítopos importantes na atividade de neutralização, sendo a glicoproteína VP7 o antígeno predominante. Esses antígenos específicos do tipo diferenciam os rotavírus entre si, podendo ser demonstrados mediante testes de neutralização. Cinco sorotipos são responsáveis pela maioria das doenças humanas. A distribuição de sorotipos difere geograficamente. Muitos sorotipos têm sido identificados entre os rotavírus humanos e animais. Alguns rotavírus animais e humanos compartilham uma especificidade de sorotipo. Assim, por exemplo, o vírus SA11 dos macacos é, do ponto de vista antigênico, muito semelhante ao sorotipo humano 3. Os produtos dos genes responsáveis pelas especificidades estruturais e antigênicas das proteínas dos rotavírus estão apresentados na Figura 37.4.

Os estudos epidemiológicos moleculares realizados analisaram vírus isolados com bases em diferenças na migração dos

11 segmentos de genoma após a eletroforese do RNA em gel de poli-acrilamida (Fig. 37.5). Essas diferenças em eletroferótipos podem ser utilizadas para se diferenciarem os vírus do grupo A daqueles outros grupos, mas não podem ser usadas para se preverem sorotipos.

Suscetibilidade dos animais

Os rotavírus exigem ampla variedade de hospedeiros. A maioria dos rotavírus foi isolada de animais recém-nascidos com diarreia. Podem ocorrer infecções entre espécies em inoculações experimentais; todavia, ainda não foi esclarecido se ocorrem na natureza. Os rotavírus de suínos infectam animais recém-nascidos e desmamados. Os recém-nascidos frequentemente exibem infecção subclínica devido talvez à presença de anticorpos maternos, enquanto a doença manifesta é mais comum em animais desmamados.

Propagação em cultura de células

Os rotavírus são agentes exigentes em termos de cultura. A maioria dos rotavírus humanos do grupo A pode ser cultivada se for efetuado um tratamento prévio com a enzima proteolítica tripsina e se forem incluídos baixos níveis dessa enzima no meio de cultura tecidual. A tripsina cliva uma proteína do capsídeo externo, facilitando o desnudamento. Foi cultivado um número muito pequeno de cepas de rotavírus não pertencentes ao grupo A.

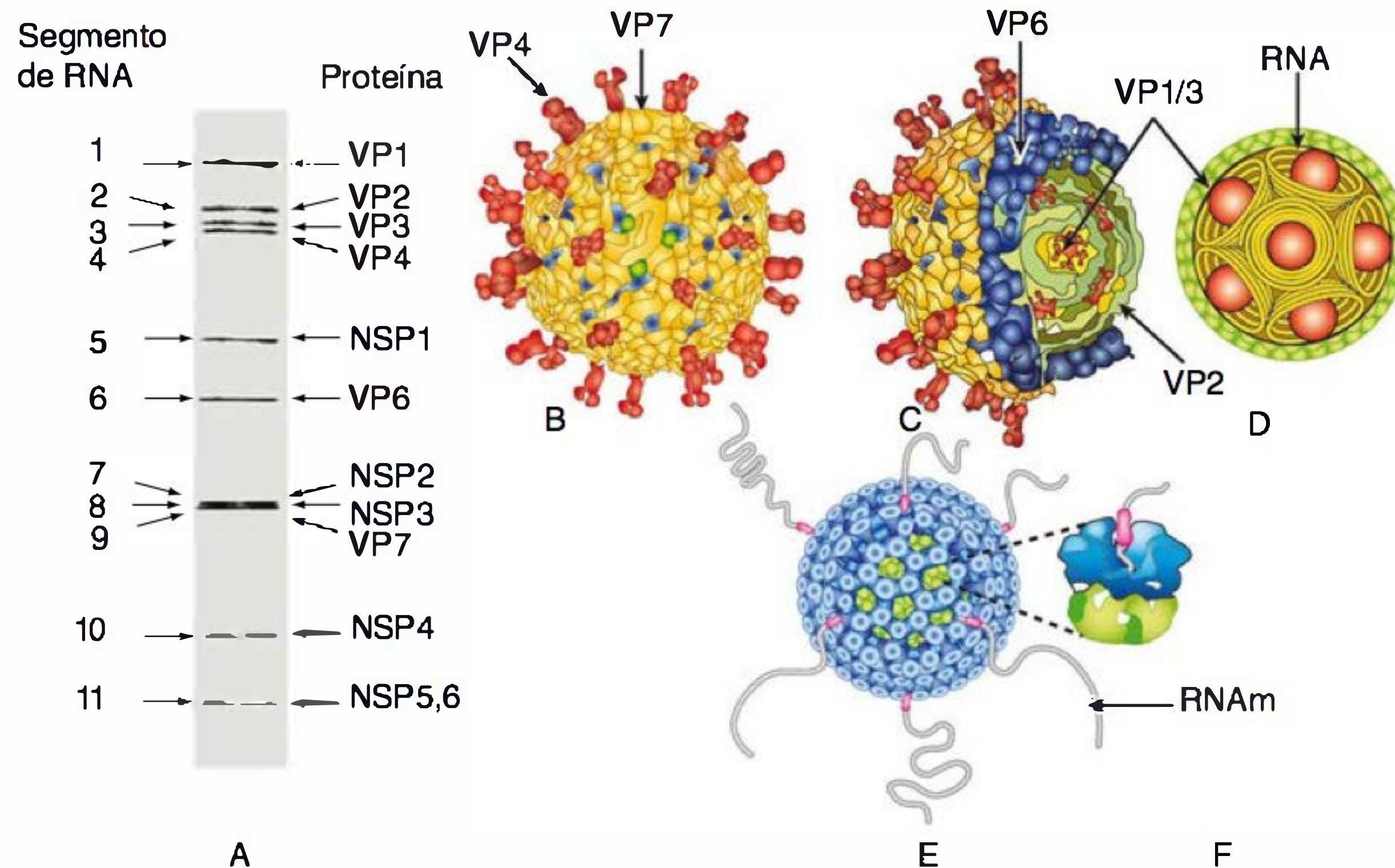


FIGURA 37.4 Estrutura do rotavírus. (A) Diagrama de um gel que mostra os 11 segmentos do genoma. As proteínas estruturais (VP) e as não estruturais (NSP) codificadas por esses segmentos estão indicadas. (B) Representação da superfície da estrutura dos rotavírus por análise de criomicroscopia eletrônica. As duas proteínas da camada externa são VP4, que formam espículas, e VP7, que forma a camada do capsídeo. (C) Vista em corte que mostra a organização da tripla camada do virion, com as camadas intermediárias VP6 e a VP2 mais externas indicadas. As enzimas necessárias para transcrição endógena (VP1) e *capping* (VP3) são ligadas como complexos heterodiméricos na superfície externa da camada de VP2. (D) Organização proposta do genoma do RNA de dupla fita no interior da camada VP2, com o complexo de enzimas de transcrição (VP1/3) indicadas como bolas. (E) Saída das proteínas traduzidas, a partir dos canais de vértices de 5 pontas das partículas de dupla camada ativamente transcritas. (F) Visualização de um dos canais de saída. (Cortesia de BVV Prasad.)

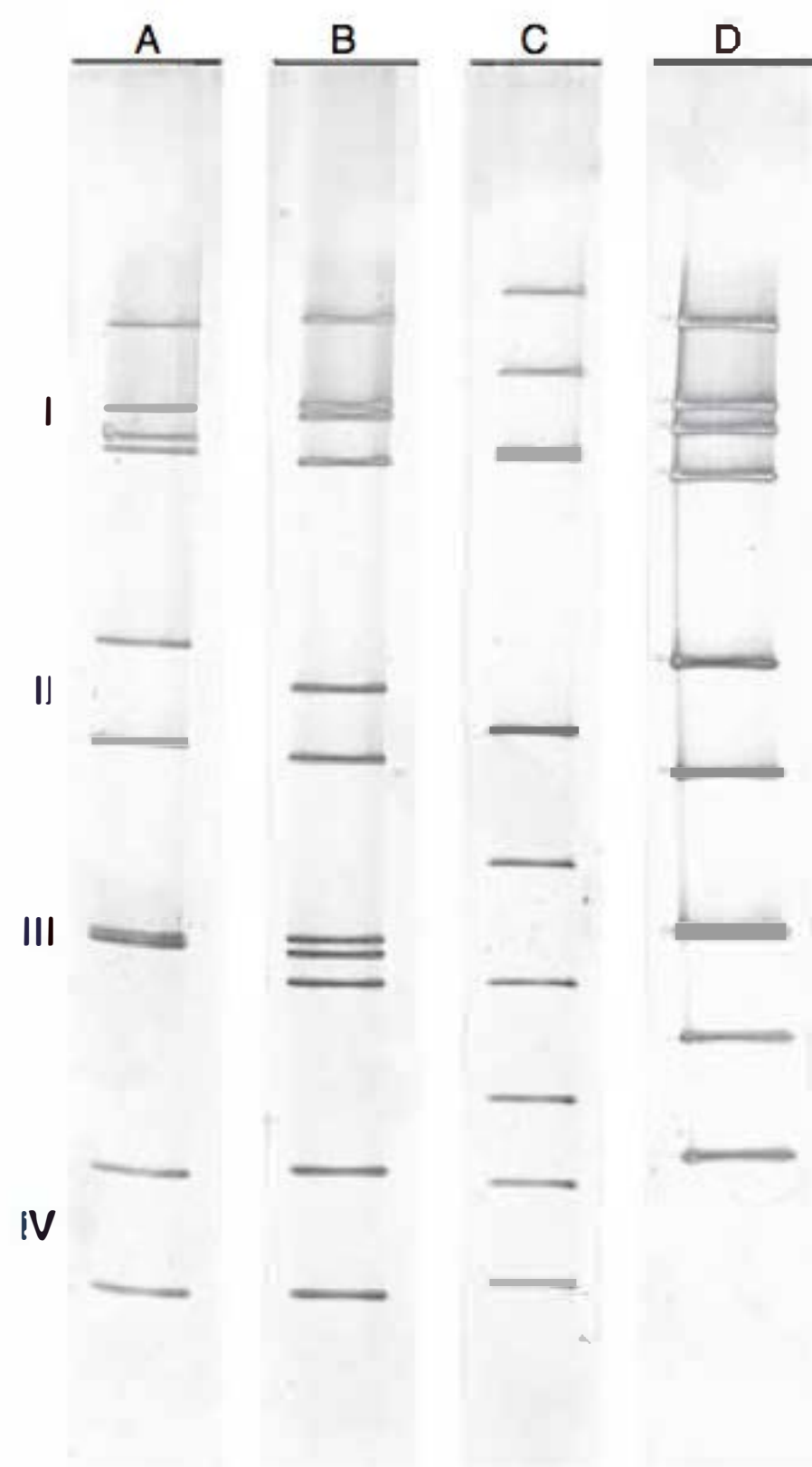


FIGURA 37.5 Perfis eletroforéticos de segmentos de RNA de rotavírus. Os RNAs virais foram submetidos à eletroforese em gel de poliacrilamida a 10% e visualizados mediante coloração por prata. São ilustrados diferentes grupos de rotavírus e padrões de RNA: um vírus de macaco do grupo A (SA11; *coluna A*), um rotavírus humano do grupo A (*coluna B*), um vírus do grupo B causador de diarreia humana em adultos (*coluna C*) e um vírus do grupo A de coelho que apresenta um padrão de RNA "curto" (*coluna D*). Os rotavírus contêm 11 segmentos de RNA do genoma, porém, algumas vezes, dois outros segmentos migram muito próximo uns dos outros, sendo difícil separá-los. (Fotografia cedida por T Tanaka e MK Estes.)

Patogênese

Os rotavírus infectam as células das microvilosidades do intestino delgado (as mucosas, gástrica e colônica são poupadas). Os vírus multiplicam-se no citoplasma dos enterócitos e lesam os mecanismos de transporte. Uma das proteínas codificadas pelo rotavírus, a NSP4, é uma enterotoxina viral que induz a secreção ao deflagrar uma via de transdução de sinais. As células lesadas podem descamar no lúmen intestinal, liberando grandes quantidades de vírus que aparecem nas fezes (até 10^{12} partículas por grama de fezes). Em geral, a excreção viral dura de 2 a 12 dias em pacientes saudáveis quanto aos demais aspectos, mas pode ser prolongada naqueles com desnutrição. A diarreia provocada por rotavírus pode ser devida ao comprometimento da absorção de sódio e glicose, visto que as células lesadas nas microvilosidades são substituídas por células imaturas das criptas que não têm capacidade absorptiva. Pode ser necessário um período de 3 a 8 semanas para restauração da função normal.

Manifestações clínicas e diagnóstico laboratorial

Os rotavírus são responsáveis pela grande proporção de casos de doença diarreica em lactentes e crianças em geral no mundo, mas não em adultos (Quadro 37.2). O período de incubação é de 1 a 3 dias. Os sintomas típicos consistem em diarreia aquosa, febre, dor abdominal e vômitos, resultando em desidratação.

Em lactentes e crianças em geral, a intensa perda de eletrólitos e líquidos pode ser fatal, a não ser que seja tratada. Os

QUADRO 37.2 Vírus associados à gastroenterite aguda em seres humanos^a

Vírus	Tamanho (nm)	Epidemiologia	Importância como causa de hospitalização
Rotavírus			
Grupo A	60 a 80	Causa isolada mais importante (viral ou bacteriana) de doença diarreica grave endêmica em crianças de pouca idade e lactentes no mundo inteiro (nos meses mais frios e nos climas temperados)	Sim
Grupo B	60 a 80	Surtos de doença diarreica em adultos e crianças na China	Não
Grupo C	60 a 80	Casos esporádicos e surtos ocasionais de doença diarreica em crianças	Não
Adenovírus entéricos			
	70 a 90	O segundo agente viral mais importante da doença diarreica em crianças de pouca idade e lactentes no mundo inteiro	Sim
Calicivírus			
Norovírus	27 a 40	Importante causa de surtos de vômitos e doença diarreica em crianças de mais idade e adultos em famílias, comunidades e instituições, frequentemente associados à ingestão de alimentos	Não
Sapovírus	27 a 40	Casos esporádicos e surtos ocasionais de doença diarreica em lactentes, crianças de pouca idade e idosos	Não
Astrovírus	28 a 30	Casos esporádicos e surtos ocasionais de doença diarreica em lactentes, crianças de pouca idade e idosos	Não

^a Fonte: Kapikian AZ: Viral gastroenteritis. JAMA 1993; 269:627.

pacientes com doença mais leve apresentam sintomas durante 3 a 8 dias e, em seguida, recuperam-se por completo. Entretanto, a excreção viral nas fezes pode persistir até 50 dias após o início da diarreia. Ocorrem infecções assintomáticas com soroconversão. Em crianças imunodeficientes, os rotavírus podem causar doença grave e prolongada.

Os contatos adultos podem ser infectados, conforme se demonstra por soroconversão; todavia, raramente apresentam sintomas, e o vírus raramente é detectado nas fezes. Uma fonte comum de infecção consiste em contato com casos ocorridos em crianças. Todavia, já ocorreram epidemias de doença grave em adultos, particularmente em populações fechadas, como em uma enfermaria geriátrica. Na China, rotavírus do grupo B foram implicados em grandes surtos de gastroenterite grave em adultos (Quadro 37.2).

O diagnóstico laboratorial baseia-se na demonstração do vírus em amostras de fezes coletadas no estágio inicial da doença bem como na elevação dos títulos de anticorpos. A presença do vírus em amostras de fezes é demonstrada por ensaio imunoenzimático e IEM (imunomicroscopia eletrônica). O ensaio imunoenzimático é mais sensível que a IEM. A genotipagem do ácido nucleico de rotavírus a partir de amostras de fezes por reação em cadeia da polimerase é o método de detecção mais sensível. Podem-se utilizar testes sorológicos para detectar uma elevação dos títulos de anticorpos, particularmente Elisa.

Epidemiologia e imunidade

Os rotavírus constituem a única causa mais importante no mundo de gastroenterite em crianças menores. As estimativas variam de 3 a 5 bilhões de episódios de diarreia anuais em crianças com menos de 5 anos de idade na África, Ásia e América Latina, resultando em até 1 milhão de mortes. Os países

desenvolvidos apresentam elevada taxa de morbidade, porém baixa taxa de mortalidade. Tipicamente, até 50% dos casos de gastroenterite aguda em crianças hospitalizadas em todo o mundo são provocados por rotavírus.

Em geral, as infecções por rotavírus predominam durante o inverno. As infecções sintomáticas são mais comuns em crianças de 6 meses a 2 anos de idade, e a transmissão parece ocorrer por via orofecal. Infecções hospitalares são frequentes.

Os rotavírus são ubiqüitários. Por volta dos 3 anos de idade, 90% das crianças apresentam anticorpos séricos contra um ou mais tipos. Esta elevada prevalência de anticorpos contra o rotavírus é mantida nos adultos, sugerindo reinfecções subclínicas pelo vírus. As reinfecções por rotavírus são comuns; foi demonstrado que crianças de até 2 anos de idade podem sofrer até cinco reinfecções. As infecções assintomáticas são mais comuns com as reinfecções sucessivas. Os fatores imunológicos locais, como a IgA secretora ou interferon, podem ser importantes na proteção contra infecção por rotavírus. As infecções assintomáticas são comuns em lactentes com menos de 6 meses de vida, período durante o qual deve haver proteção pelos anticorpos maternos adquiridos passivamente pelos recém-nascidos. Essa infecção neonatal não impede a ocorrência de reinfecção, mas pode proteger o indivíduo contra o desenvolvimento de doença grave em caso de reinfecção.

Tratamento e controle

O tratamento da gastroenterite é de suporte, objetivando corrigir a perda de água e eletrólitos que pode resultar em desidratação, acidose, choque e morte. O tratamento consiste em reposição de líquidos e restauração do equilíbrio eletrolítico por vias intravenosa ou oral, quando possível. A rara mortali-

dade por diarreia infantil nos países desenvolvidos deve-se ao uso rotineiro de tratamento de reposição eficaz.

Em virtude da via de transmissão orofecal, o tratamento dos dejetos e a melhora das condições sanitárias constituem medidas de controle importantes.

Em 1998, uma vacina oral de rotavírus vivos atenuados derivados de macaco *rhesus* foi aprovada nos EUA para vacinação de lactentes, tendo sido retirada após 1 ano, devido a relatos de intussuscepção (bloqueio intestinal) como efeito colateral incomum, porém grave, associado à vacina. Em 2006 e em 2008, duas vacinas atenuadas foram licenciadas nos EUA. A primeira, pentavalente dirigida contra o rotavírus e feita a partir de vírus bovinos e humanos recombinantes. A segunda, uma vacina oral monovalente derivada de rotavírus humano. Ambas se mostraram seguras e não parecem estar associadas à intussuscepção. Uma vacina segura e eficaz continua sendo a melhor maneira de se reduzir a carga mundial de doença causada por rotavírus.

REOVÍRUS

Os vírus desse gênero, extensamente estudados por biólogos moleculares, não causam doença humana conhecida.

Classificação e propriedades antigênicas

Os reovírus são ubiquitários e apresentam uma variedade muito ampla de hospedeiros em mamíferos, aves e répteis. Foram isolados três tipos distintos, porém relacionados, de reovírus de muitas espécies, que podem ser demonstrados por testes de neutralização e de inibição da hemaglutinação. Os reovírus contêm uma hemaglutinina contra os eritrócitos bovinos ou eritrócitos humanos do tipo O.

Epidemiologia

Os reovírus causam muitas infecções inaparentes, visto que a maioria das pessoas apresenta anticorpos séricos no início da vida adulta. Os anticorpos também são encontrados em outras espécies. Os três tipos de reovírus foram isolados de crianças saudáveis, crianças de pouca idade durante surtos de doença febril menor, crianças com enterite ou doença respiratória branda, e chimpanzés com rinite epidêmica.

Estudos realizados em voluntários humanos não conseguiram demonstrar qualquer relação de causa e efeito bem definida entre reovírus e doença humana. Em voluntários inoculados, o reovírus é isolado mais facilmente das fezes do que do nariz ou da garganta.

Patogênese

Os reovírus tornaram-se importantes sistemas de modelo para o estudo da patogênese da infecção viral em nível molecular. Para infectar camundongos, são utilizados recombinantes definidos de dois reovírus com fenótipos patogênicos distintos. Em seguida, utiliza-se uma análise de segregação para associar aspectos particulares da patogênese com genes virais e produtos gênicos específicos. As propriedades patogênicas dos reovírus são determinadas primariamente pelas espécies de proteínas encontradas no capsídeo externo do virion.

ORBIVÍRUS E COLTIVÍRUS

Os orbivírus constituem um gênero dentro da família dos reovírus. Infectam comumente insetos, e muitos são transmitidos a vertebrados por insetos. São conhecidos cerca de 100 sorotipos. Nenhum desses vírus provoca doença clínica grave em seres humanos, embora possam causar febre baixa. Os patógenos animais importantes incluem o vírus da língua azul dos ovinos e o da doença equina africana. São detectados anticorpos dirigidos contra os orbivírus em muitos vertebrados, inclusive os seres humanos.

O genoma consiste em dez segmentos de RNA de fita dupla, com tamanho total do genoma de 18 kbp. O ciclo de replicação assemelha-se ao dos reovírus. Os orbivírus são sensíveis a pH baixo, diferentemente da estabilidade geral dos outros reovírus.

Os coltívirus são outra espécie dentro da família *Reoviridae*. Seu genoma consiste em 12 segmentos de RNA de fita dupla, com cerca de 29 kbp. O vírus da febre do carrapato do Colorado, transmitido por carrapatos, é capaz de infectar seres humanos.

CALICIVÍRUS

Além dos rotavírus e adenovírus não cultiváveis, os membros da família *Caliciviridae* são agentes importantes de gastroenterite viral em seres humanos. Os membros mais significativos são os norovírus, em que o vírus mais significativo é o vírus Norwalk. As propriedades dos calicivírus estão resumidas no Quadro 37.3.

Classificação e propriedades antigênicas

Os calicivírus assemelham-se aos picornavírus, porém são ligeiramente maiores (27 a 40 nm) e contêm uma única proteína estrutural principal (Fig. 37.6). Exibem morfologia distinta à microscopia eletrônica (Fig. 37.7). A família *Caliciviridae* é dividida em cinco gêneros: *Norovirus*, que inclui o vírus Norwalk; *Sapovirus*, que inclui os vírus tipo Sapporo; *Nebovirus*, que inclui os vírus entéricos bovinos; *Lagovirus*, o vírus da doença hemorrágica do coelho; e *Vesivirus*, que inclui o vírus do exantema vesicular dos suínos, calicivírus felinos e os calicivírus marinhos, encontrados em pinípedes, peixes e baleias. Os dois

QUADRO 37.3 Propriedades importantes dos calicivírus

Virion: icosaédrico, 27 a 40 nm de diâmetro, depressões em forma de taça na superfície do capsídeo
Genoma: RNA fita simples, linear, polaridade positiva, não segmentado; tamanho de 7.4 a 8.3 kb; contém o genoma ligado à proteína (VPg)
Proteínas: polipeptídeos clivados a partir de uma poliproteína precursora; o capsídeo é composto de uma única proteína
Envelope: ausente
Replicação: citoplasma
Características marcantes: Os norovírus são a principal causa das gastroenterites não bacterianas epidêmicas Os vírus humanos não são cultiváveis

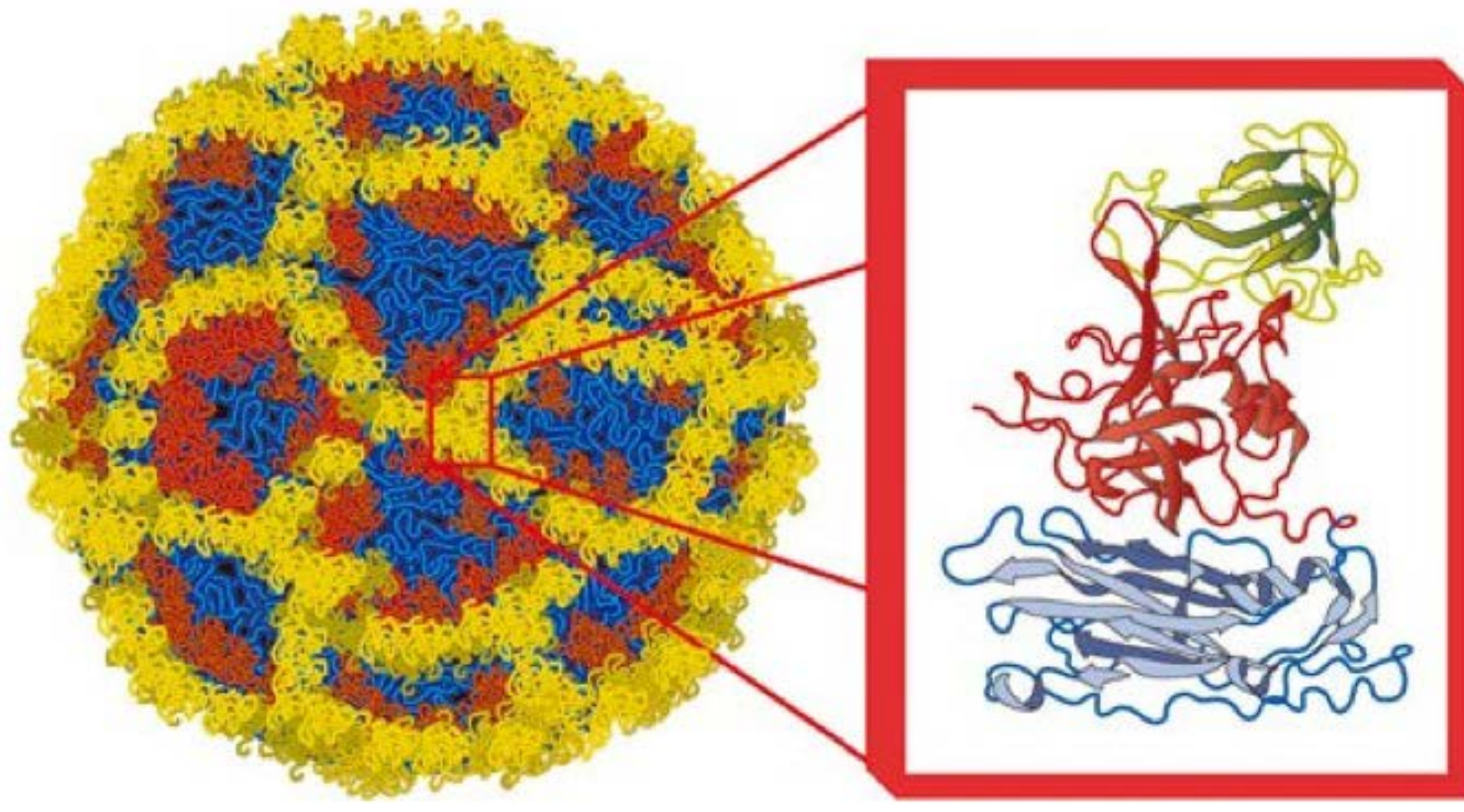


FIGURA 37.6 Estrutura em radiografia do capsídeo do vírus Norwalk (à esquerda). Ilustração da estrutura das subunidades do capsídeo (à direita). Os domínios S, P1 e P2 estão marcados em cinza-escuro, cinza-médio e cinza-claro, respectivamente. (Cortesia de BVV Prasad.)

primeiros gêneros contêm vírus humanos que não podem ser cultivados; os dois últimos contêm somente cepas de origem animal, que podem ser cultivadas *in vitro*. O vírus da doença hemorrágica do coelho foi introduzido em 1995 na Austrália como agente de controle biológico para se reduzir a população de coelhos selvagens no país.

Os sorotipos humanos do calicivírus não estão definidos. Foram detectados vários genótipos de norovírus. Três genótipos estão associados à gastroenterite humana, designados como GI, GII e GIV. Desde 2001, o genótipo GII tem sido associado a surtos epidêmicos no mundo inteiro. Além disso, os norovírus parecem apresentar variação antigênica ao longo do tempo, provavelmente em resposta à pressão seletiva da imunidade da população.

Os receptores celulares para os norovírus são antígenos histosanguíneos que são expressos na mucosa do trato digestório. A condição secretora controlada pelo gene que codifica para a enzima α -2-L-fucosiltransferase, resulta em indivíduos suscetíveis à infecção por esses vírus, enquanto indivíduos não secretores tendem a ser resistentes ao vírus Norwalk*.

Manifestações clínicas e diagnóstico laboratorial

Os norovírus (vírus Norwalk) são a causa mais importante da gastroenterite viral em adultos (Quadro 37.2). A gastroenterite não bacteriana epidêmica caracteriza-se por: (1) ausência de patógenos bacterianos; (2) gastroenterite de início e recuperação rápidos, com sinais sistêmicos relativamente leves; e (3) um padrão epidemiológico de doença altamente contagiosa que se propaga rapidamente, sem qualquer predileção em termos de idade ou distribuição geográfica. Foram utilizados vários termos descritivos em relatórios de diferentes surtos (p. ex., gastroenterite viral epidêmica, diarreia viral, doença dos vômitos do inverno), dependendo do quadro clínico predominante.

* N. de R.T. O trato gastrointestinal, dentre outros sítios, é um local em que se dá a expressão do perfil de glicoconjugados ABH, sob controle da enzima α -2-L-Fucosiltransferase (FUTII) codificada pelo gene FUT2 (19q13.3). A presença da FUTII define o status secretor positivo, o qual é relacionado com os fenótipos eritrocitários ABO.

A gastroenterite causada pelo vírus Norwalk tem um período de incubação de 24 a 48 horas. O início é rápido, e o curso clínico breve, durando 12 a 60 horas. Os sintomas incluem diarreia, náuseas, vômitos, febre baixa, cólicas abdominais, cefaleia e mal-estar. A doença pode ser incapacitante durante a fase sintomática, mas raramente é necessária a hospitalização. As infecções por norovírus têm maior probabilidade de induzir vômitos do que as infecções causadas por vírus tipo Sapporo. Desidratação é a complicação mais comum em jovens e idosos. A disseminação viral pode persistir por até um mês. Não foi relatada qualquer sequela.

Experimentos realizados em voluntários mostraram claramente que o aparecimento do vírus Norwalk coincide com a doença clínica. Verifica-se a produção de anticorpos durante a doença, que geralmente são protetores a curto prazo contra uma reinfecção pelo mesmo agente. A imunidade a longo prazo não exhibe boa correlação com a presença de anticorpos séricos. Alguns voluntários podem ser reinfetados pelo mesmo vírus depois de cerca de 2 anos.

A reação em cadeia da polimerase (PCR), feita após a reação de transcriptase reversa, é a técnica mais empregada para detecção de calicivírus humanos em amostras clínicas (fezes, vômitos) e amostras ambientais (alimento contaminado, água). Devido à diversidade genética entre as cepas em circulação, a escolha das sequências iniciadoras (*primers*) para a PCR é muito importante. Estima-se a presença de até 100 bilhões de cópias do genoma viral por grama de fezes no pico de eliminação viral (2 a 5 dias após infecção).

A microscopia eletrônica é empregada com frequência para detecção de partículas virais em amostras de fezes. Entretanto, as partículas do norovírus geralmente estão presentes em baixa concentração e são de difícil reconhecimento. Os ensaios imunoenzimáticos (Elisa) e imunomicroscopia eletrônica (IEM) baseados em partículas recombinantes do vírus podem detectar anticorpos, sendo um aumento do título de anticorpos IgG de 4 vezes ou mais nas fases aguda e de convalescença indicativo de infecção recente. Entretanto, os reagentes não estão facilmente disponíveis, não sendo esses antígenos capazes de detectar resposta a todos os tipos antigênicos de norovírus.

Epidemiologia e imunidade

Os calicivírus humanos apresentam distribuição mundial. Os norovírus são a causa mais comum da gastroenterite não bacteriana nos EUA, com 21 milhões de casos anuais.

Está associado a maior frequência de surtos epidêmicos de gastroenterites ligadas a água, alimentos ou frutos do mar contaminados. Todos os grupos etários podem ser acometidos. Os surtos ocorrem durante o ano inteiro, com picos sazonais nos meses mais frios. A maior parte dos surtos envolve transmissão por alimentos ou de pessoa para pessoa, via fômites ou aerossóis de fluidos corporais contaminados (vômitos, matéria fecal). Surtos em ambientes fechados são frequentes (como cruzeiros marítimos e lares de idosos). As características dos norovírus consistem em baixa dose infecciosa (em torno de 10 partículas virais), relativa estabilidade no meio ambiente e inúmeros modos de transmissão. O vírus sobrevive a 10 ppm de hipoclorito e aquecimento a 60°C, podendo ser mantido em ostras ao vapor.

A disseminação orofecal é provavelmente o modo primário de transmissão do vírus Norwalk. Durante um período de 5 anos,

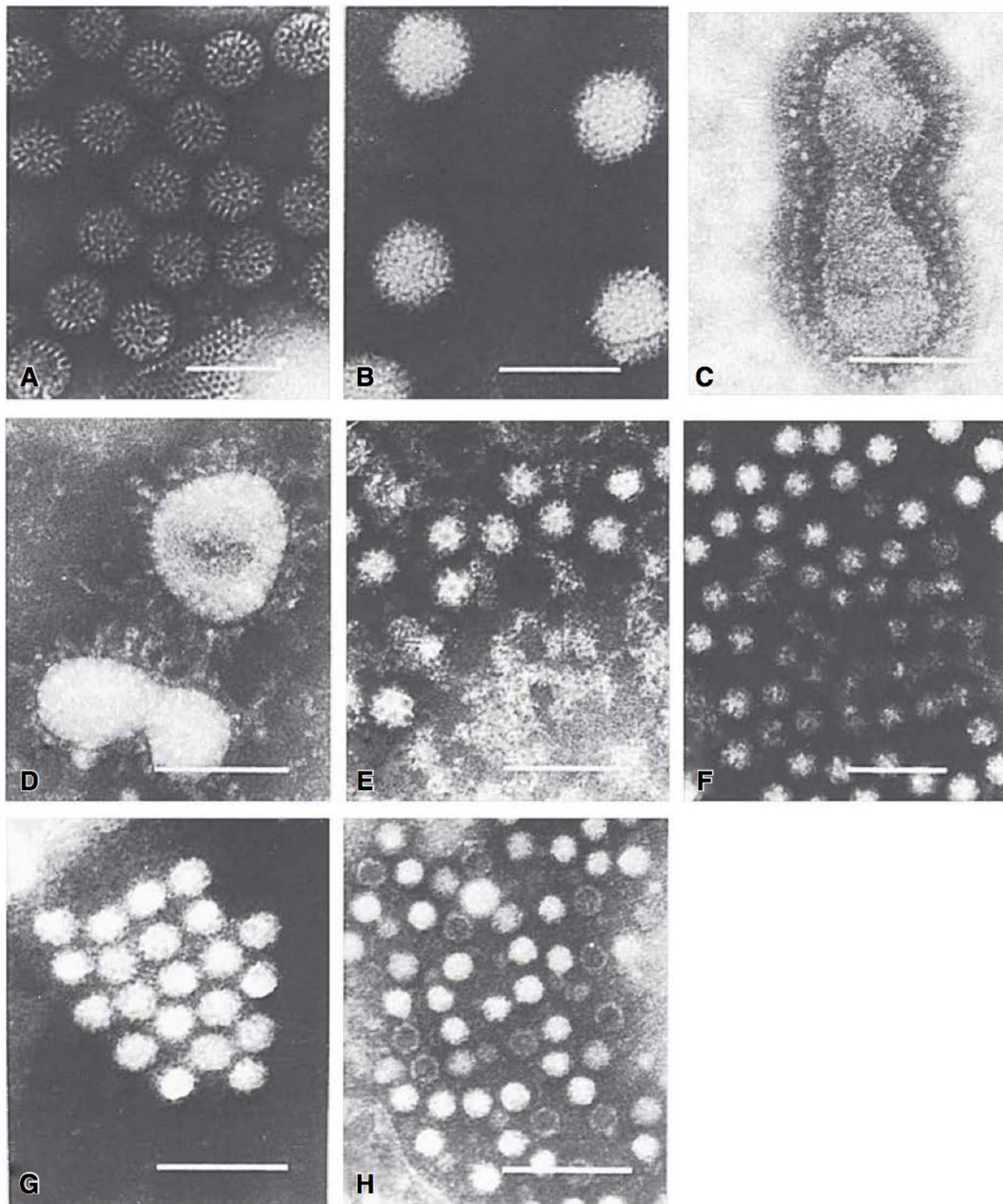


FIGURA 37.7 Micrografias eletrônicas de partículas virais encontradas em amostras de fezes de pacientes com gastroenterite. Esses vírus foram visualizados após coloração negativa. Os vírus específicos, com aumentos originais das micrografias, são os seguintes: (A) Rotavírus (ampliada 185.000 vezes). (B) Adenovírus entérico (ampliada 234.000 vezes). (C) Coronavírus (ampliada 249.000 vezes). (D) Torovírus (coronavírus) (ampliada 249.000 vezes). (E) Calicivírus (ampliada 250.000 vezes). (F) Astrovírus (ampliada 196.000 vezes). (G) Vírus Norwalk (calicivírus) (ampliada 249.000 vezes). (H) Parvovírus (ampliada 249.000 vezes). As micrografias eletrônicas em C e H foram originalmente cedidas por T Flewett; a micrografia E foi originalmente obtida de CR Madeley. Baras, 100 nm. (Reproduzida, com autorização, de Graham DY, Estes MK: *Viral infections of the intestine*. In: Gitnick G, et al. [editors]. *Principles and Practice of Gastroenterology and Hepatology*. Elsevier, 1988; 566)

nos EUA (1996 a 2000), os alimentos foram implicados em 39% dos surtos de gastroenterite provocada pelo vírus Norwalk; o contato entre pessoas, em 12%; a água, em 3%; e fontes desconhecidas, em 18%. Entre todos os surtos de doenças alimentares nos EUA (1998 a 2002), os norovírus causaram 30%. Com frequência, indivíduos que trabalham com alimentos e que estejam doentes estão envolvidos em surtos epidêmicos por norovírus.

Os vírus, predominantemente os norovírus, estiveram envolvidos em 10% dos surtos de doenças transmitidas pela água, associadas a fontes de recreação aquática nos EUA (2003 a 2004).

Os surtos de gastroenterite pelo vírus Norwalk ocorrem em diversos cenários. De 1996 a 2000, 39% dos casos ocorreram em restaurantes, 29% em enfermarias e hospitais, 12% em escolas e centros de cuidados (*daycare centers*), 10% em situações de férias, como cruzeiros marítimos, e 9% em outros cenários. Em 2006, após a passagem do furacão Katrina, ocorreu um surto de norovírus entre a população evacuada, no Texas, EUA.

Não existem ensaios de neutralização *in vitro* disponíveis para se estudar a imunidade. Estudos realizados com voluntários mostraram que cerca de 50% dos adultos são suscetíveis

à doença. Os anticorpos contra o vírus Norwalk são produzidos em uma idade mais avançada da vida do que os anticorpos contra o rotavírus, que se desenvolvem na infância. Em países em desenvolvimento, a maioria das crianças desenvolve anticorpos contra norovírus aos 4 anos de idade.

Tratamento e controle

O tratamento é sintomático. A baixa dose infecciosa permite a transmissão eficiente do vírus. A correta antisepsia das mãos é provavelmente o método mais eficaz na prevenção da infecção e disseminação do vírus. Devido à natureza infecciosa das fezes, é preciso ter cuidado com sua eliminação. A desinfecção de pisos, assoalhos e banheiros pode ajudar a diminuir a disseminação viral. O cuidadoso manuseio dos alimentos é importante, visto que ocorrem inúmeros surtos transmitidos por alimentos. A purificação da água potável e da água das piscinas deve diminuir os surtos provocados pelo vírus Norwalk. Não existe vacina contra esses agentes virais.

ASTROVÍRUS

Os astrovírus têm cerca de 28 a 30 nm de diâmetro e exibem morfologia distinta, tipo estrela, à microscopia eletrônica (Fig. 37.7F); contêm RNA de fita simples, sentido positivo, de 6,4 a 7,4 kb de tamanho. A família *Astroviridae* possui dois gêneros; todos os astrovírus humanos são classificados no gênero *Mamastrovirus*. Ao menos oito sorotipos são reconhecidos por IME e neutralização.

Os astrovírus causam doenças diarreicas, podendo ser eliminados nas fezes em quantidades extraordinariamente grandes. Os vírus são transmitidos pela via orofecal a partir de água ou alimentos contaminados, contato entre pessoas ou superfícies contaminadas. São reconhecidos como patógenos para crianças, pacientes idosos em instituições de cuidado (asilos) e pessoas imunocomprometidas (Quadro 37.2). Podem ser eliminados durante longos períodos por hospedeiros imunocomprometidos.

Astrovírus de origem animal são encontrados em uma variedade de mamíferos e aves e foram recentemente identificados em espécies de morcegos.

RESUMO DO CAPÍTULO

- Os reovírus e os rotavírus são vírus não envelopados e de material genético composto por RNA segmentado de fita dupla.
- Os reovírus, até o momento, não estão associados a nenhuma patologia humana, porém são importantes modelos para estudos sobre patogênese molecular.
- Os rotavírus são os mais importantes agentes virais de diarreia em lactentes e em crianças no mundo inteiro.
- Recombinação genética no genoma dos rotavírus é comum.
- Os calicivírus são vírus pequenos desnudos, com um genoma RNA fita simples, não segmentado.
- O gênero *Norovirus* dos calicivírus é a principal causa de gastroenterites epidêmicas e não bacterianas no mundo.

- Os rotavírus são difíceis de serem cultivados, enquanto os norovírus não são replicados em cultura de células.
- Os rotavírus e norovírus são transmitidos primariamente por contaminação orofecal, sendo associados a surtos vinculados a alimentos e água contaminados.
- Vacinas atenuadas orais contra rotavírus estão disponíveis. Elas são seguras e produzem proteção prolongada. Não há vacinas contra os norovírus.

QUESTÕES DE REVISÃO

1. Um homem de 36 anos de idade degustou um prato de ostras cruas. Vinte e quatro horas depois, ficou doente, com um início repentino de vômitos, diarreia e cefaleia. Constitui a causa mais provável da gastroenterite:
 - (A) Astrovírus
 - (B) Vírus da hepatite A
 - (C) Vírus Norwalk
 - (D) Rotavírus do grupo A
 - (E) Vírus Echo
2. Este vírus é a causa mais importante de gastroenterite em lactentes e crianças de pouca idade. Provoca infecções frequentemente graves e que podem ser de tratamento prolongado, especialmente em crianças:
 - (A) Vírus Echo
 - (B) Vírus Norwalk
 - (C) Rotavírus do grupo A
 - (D) Orbivírus
 - (E) Parvovírus
3. Um surto de gastroenterite epidêmica ocorreu em uma estação campestre de veraneio (hotel-fazenda), 24 horas após uma festa para as famílias dos hóspedes, dos quais alguns parentes também ficaram doentes. Duas semanas depois, foram coletadas amostras dos hóspedes e da água para consumo, as quais apresentaram resultados negativos para a presença de coliformes. A fonte mais provável do surto foi constituída por:
 - (A) Mosquitos ou carrapatos, presentes em grande quantidade na região
 - (B) Água contaminada servida durante a festa
 - (C) Um córrego próximo usado para pescaria
 - (D) Um dos familiares visitantes que estava desenvolvendo uma pneumonia
 - (E) Uma piscina
4. Este agente de gastroenterite viral possui um genoma RNA de fita dupla, segmentado, e capsídeo com duplo envelope. De qual das famílias virais mostradas a seguir esse agente é membro?
 - (A) *Adenoviridae*
 - (B) *Astroviridae*
 - (C) *Caliciviridae*
 - (D) *Reoviridae*
 - (E) *Coronaviridae*
5. Os vírus Norwalk e rotavírus são nitidamente diferentes. Entretanto, uma das características a seguir relacionadas é comum a ambos. Assinale-a:
 - (A) Seu modo de transmissão é orofecal
 - (B) São a principal causa de doenças em lactentes e crianças de pouca idade
 - (C) Geralmente induzem doença leve em crianças de pouca idade
 - (D) Os padrões de infecção não apresentam variação sazonal
 - (E) Têm genoma do RNA de fita dupla

6. Como as infecções por rotavírus podem ser graves, uma vacina poderia ser benéfica. Qual das alternativas a seguir é a mais correta, com respeito a uma vacina contra o rotavírus?
- (A) Uma vacina inativada contra o rotavírus humano do grupo A está em uso nos EUA desde 2003
 (B) Uma vacina atenuada foi retirada de circulação devido a relatos de intussuscepção (1998)
 (C) O desenvolvimento de uma vacina é complicado devido à rápida variação antigênica do vírus
 (D) Os fármacos antivirais disponíveis tornam a vacina desnecessária
 (E) O desenvolvimento de uma vacina é complicado, pois o vírus não pode ser cultivado em cultura de células
7. Os rotavírus e astrovírus partilham inúmeras características. Qual das características mostradas a seguir não é partilhada por estes vírus?
- (A) Existem vários sorotipos
 (B) Podem causar gastroenterites em lactentes e crianças
 (C) Podem causar gastroenterites em pacientes idosos internados
 (D) Existe vacina atenuada disponível
 (E) Rota de transmissão orofecal
8. Um homem de 20 anos de idade esteve durante 3 semanas na Itália com outros amigos. Abruptamente, ele manifestou sintomas de náuseas e vômitos, seguidos após cinco horas por dores abdominais e diarreia aquosa. Não foi observado aumento de temperatura. Qual dos seguintes vírus pode ser a possível causa da enfermidade apresentada pelo indivíduo?
- (A) Calicivírus
 (B) Rotavírus
 (C) Reovírus
 (D) Adenovírus
 (E) Astrovírus
9. Qual das afirmações seguintes sobre as gastroenterites por rotavírus está incorreta?
- (A) O nome do agente etiológico foi sugerido por sua aparência
 (B) A maioria das 600.000 mortes atribuídas por esse vírus no mundo inteiro se deve pela intensa desidratação observada nesses indivíduos
 (C) A maioria dos casos ocorre em lactentes e crianças
 (D) O agente viral infecta primariamente o estômago
 (E) O agente viral é transmitido por contaminação orofecal
10. A doença provocada pelo vírus Norwalk pode ser prevenida pelas seguintes ações, *exceto*:
- (A) Evitar o consumo de frutas *in natura*
 (B) Uso de vacinas recombinantes e atenuadas
 (C) Boas práticas de antisepsia das mãos
 (D) Evitar o consumo de águas, que não sejam minerais
 (E) Evitar o consumo de ostras cruas
11. Qual das seguintes afirmações sobre os norovírus é falsa?
- (A) Eles são responsáveis por metade dos casos de gastroenterites virais, nos EUA
 (B) Eles são responsáveis por gastroenterites epidêmicas
 (C) As manifestações clínicas duram cerca de 1 a 2 semanas
 (D) Vírus semelhantes estão disseminados entre animais marinhos
 (E) Eles tipicamente causam mais infecções em crianças e em adultos do que em lactentes
12. Todas as afirmações sobre os rotavírus estão corretas, *exceto*:
- (A) A vacina contra os rotavírus contém RNA polimerase recombinante como imunógeno
 (B) Os rotavírus são uma causa comum de diarreia em crianças
 (C) Os rotavírus são transmitidos por via orofecal
 (D) Os rotavírus pertencem à família reovírus e seu genoma é formado por RNA segmentado de fita dupla

Respostas

- | | | | |
|------|------|------|-------|
| 1. C | 4. D | 7. D | 10. B |
| 2. C | 5. A | 8. A | 11. C |
| 3. B | 6. B | 9. D | 12. A |

REFERÊNCIAS

- Breese JS, Nelson EA, Glass RI (guest editors): Rotavirus in Asia: Epidemiology, burden of disease, and current status of vaccines. *J Infect Dis* 2005;192(Suppl 1). [Entire issue.]
- Dennehy PH: Rotavirus vaccines: An overview. *Clin Microbiol Rev* 2008;21:198.
- Estes MK, Kapikian AZ: Rotaviruses. In Knipe DM, Howley PM (editors-in-chief). *Fields Virology*, 5th ed. Lippincott Williams & Wilkins, 2007.
- Green KY: *Caliciviridae*: The noroviruses. In Knipe DM, Howley PM (editors-in-chief). *Fields Virology*, 5th ed. Lippincott Williams & Wilkins, 2007.
- McDonald SM, Patton JT: Assortment and packaging of the segmented rotavirus genome. *Trends Microbiol* 2011;19:136.
- Monroe SS, Ando T, Glass RI (guest editors): International Workshop on Human Caliciviruses. *J Infect Dis* 2000;181(Suppl 12). [Entire issue.]
- Prevention of rotavirus gastroenteritis among infants and children. Recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP). *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2009;58(RR-2).
- Rotavirus infection in Africa: Epidemiology, burden of disease, and strain diversity. *J Infect Dis* 2010;202(Suppl 1). [Entire issue.]
- Rotavirus vaccines: An update. *World Health Org Wkly Epidemiol Rec* 2009;84:533.
- Updated norovirus outbreak management and disease prevention guidelines. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2011;60:1.
- WHO position paper: Rotavirus vaccines. *World Health Org Wkly Epidemiol Rec* 2007;82:285.

Doenças virais transmitidas por artrópodes e roedores

Os vírus transmitidos por artrópodes (arbovírus) e os vírus transmitidos por roedores representam um grupo ecológico de vírus com ciclos de transmissão complexos que envolvem artrópodes ou roedores. Esses vírus têm características físico-químicas variadas e são classificados em famílias virais diversas.

Os arbovírus e os vírus transmitidos por roedores estão classificados entre as famílias **Arenaviridae**, **Bunyaviridae**, **Flaviviridae**, **Reoviridae** e **Togaviridae**. Os vírus da febre hemorrágica africana são classificados na família **Filoviridae** (Quadro 38.1, Fig. 38.1). Várias das doenças aqui descritas são consideradas doenças infecciosas emergentes (ver Cap. 29).

Os arbovírus são transmitidos por artrópodes hematófagos de um hospedeiro vertebrado para outro. O vetor adquire infecção por toda a vida pela ingestão de sangue de um vertebrado virêmico. Os vírus multiplicam-se nos tecidos do artrópode, sem qualquer sinal de doença ou lesão. Alguns arbovírus são mantidos na natureza por transmissão transovariana nos artrópodes.

As principais doenças causadas por arbovírus no mundo inteiro são: febre amarela, dengue, encefalite japonesa B, encefalite de St. Louis, encefalite equina do oeste e encefalite equina do leste, encefalite transmitida por carrapato, febre do Nilo Ocidental e a febre transmitida pelo mosquito-pólvora (flebotomo). Nos EUA, as infecções mais importantes causadas por arbovírus são encefalite de La Crosse, febre do Nilo Ocidental, encefalite de St. Louis, encefalite equina do leste e encefalite equina do oeste.

As doenças virais transmitidas por roedores são mantidas na natureza por transmissão intraespécie ou interespecies direta de um roedor para outro, sem a participação de vetores artrópodes. Em geral, a infecção é persistente. Ocorre transmissão por contato com líquidos ou excreções corporais.

Entre as principais doenças virais transmitidas por roedores incluem-se as infecções por hantavírus, febre de Lassa e febres hemorrágicas da América do Sul. Nos EUA, as doenças virais mais importantes transmitidas pelos roedores são a síndrome pulmonar por hantavírus e a febre do carrapato do Colorado. Aqui também são consideradas as febres hemorrágicas africanas — Marburg e Ebola. Seus hospedeiros reservatórios são desconhecidos, mas suspeita-se de roedores ou morcegos.

INFECÇÕES HUMANAS POR ARBOVÍRUS

Existem centenas de arbovírus, dos quais cerca de 100 são patógenos humanos conhecidos. Acredita-se que todos os arbovírus que infectam seres humanos sejam zoonóticos, sendo o homem um hospedeiro acidental que não desempenha papel importante na manutenção ou no ciclo de transmissão do vírus. As exceções são representadas pela febre amarela urbana e pela dengue. Alguns dos ciclos naturais são simples e envolvem a infecção de um hospedeiro vertebrado não humano (mamífero ou ave), sendo a transmissão efetuada por uma espécie de mosquito ou carrapato (p. ex., febre amarela silvestre, febre transmitida pelo carrapato do Colorado). Entretanto, outros são mais complexos. Assim, por exemplo, as encefalites por picada de carrapato podem ocorrer após a ingestão de leite cru de cabras e vacas infectadas ao pastarem em locais infestados por carrapatos, em que exista um ciclo no carrapato e no roedor.

Certos vírus algumas vezes foram nomeados em seguida a uma doença (dengue, febre amarela) ou em lembrança à área geográfica em que o vírus foi primeiramente isolado (encefalite de St. Louis, febre do Nilo Ocidental). Os arbovírus são encontrados em todas as zonas tropicais e temperadas, mas são mais prevalentes nos trópicos com sua abundância de animais e artrópodes.

As doenças provocadas por arbovírus podem ser divididas em três síndromes clínicas: (1) febres do tipo indiferenciado, com ou sem exantema maculopapular, em geral benignas; (2) encefalite (inflamação do cérebro), frequentemente associada a elevada taxa de mortalidade; e (3) febres hemorrágicas, que também são frequentemente graves e fatais. Essas categorias são um tanto arbitrárias, e alguns arbovírus podem estar associados a mais de uma síndrome, como, por exemplo, a febre da dengue.

A síndrome clínica é determinada pelo grau de multiplicação do vírus e por sua localização predominante nos tecidos. Assim, os arbovírus podem causar doença febril discreta em alguns pacientes e encefalite ou diátese hemorrágica em outros.

As infecções por arbovírus ocorrem em distribuições geográficas distintas e por diferentes padrões de vetores (Fig. 38.2).

QUADRO 38.1 Classificação e propriedades de alguns vírus transmitidos por artrópodes e roedores

Classificação taxonômica	Membros importantes de arbovírus e vírus transmitidos por roedores	Propriedades virais
Arenaviridae		
Gênero <i>Arenavirus</i>	Novo Mundo: vírus Guanarito, Junin, Machupo, Sabiá e Whitewater Arroyo. Velho Mundo: vírus de Lassa e da coriomeningite linfocítica. Transmitidos por roedores	Esféricos, 50 a 300 nm de diâmetro (média, 110 a 130 nm). Genoma: RNA de filamento simples, com dois segmentos de sentido negativo e de ambos os sentidos, com tamanho de 10 a 14 kb. O virion contém uma transcriptase. Quatro polipeptídeos principais. Envelope. Replicação: citoplasma. Organização: incorpora partículas semelhantes a ribossomos, com brotamento a partir da membrana plasmática
Bunyaviridae		
Gênero <i>Orthobunyavirus</i>	Vírus do Anopheles A e B, vírus Bunyamwera, vírus da encefalite da Califórnia, vírus Guama, vírus La Crosse, vírus Oropouche e vírus Turlock. Transmitidos por artrópodes (mosquitos)	Esféricos, 80 a 120 nm de diâmetro. Genoma: RNA de fita simples, de três segmentos, de sentido negativo ou ambos os sentidos, com 11 a 19 kb de tamanho total. O virion contém uma transcriptase. Quatro polipeptídeos principais. Envelope. Replicação: citoplasma. Organização: brotamento no sistema de Golgi
Gênero <i>Hantavirus</i>	Vírus Hantaan (febre hemorrágica da Coreia), vírus Seoul (febre hemorrágica com síndrome renal), vírus Sin Nombre (síndrome pulmonar por hantavírus). Transmitidos por roedores	
Gênero <i>Nairovirus</i>	Vírus da febre hemorrágica do Congo-Crimeia, vírus da doença ovina de Nairóbi e vírus Sakhalin. Transmitido por artrópodes (carrapatos)	
Gênero <i>Phlebovirus</i>	Vírus da febre do Vale do Rift, vírus da febre do mosquito-pólvora (<i>Phlebotomus</i>) e vírus Uukuniemi. Transmitidos por artrópodes (mosquitos, mosquito-pólvora e carrapatos)	
Filoviridae		
Gênero <i>Marburgvirus</i>	Vírus Marburg	Filamentos longos, 80 nm de diâmetro x comprimento variável (> 10.000 nm), embora a maioria tenha tamanho médio de cerca de 1.000 nm. Genoma: RNA de fita simples e sentido negativo, não segmentado, de 19 kb de tamanho. Sete polipeptídeos. Envelope. Replicação: citoplasma. Organização: brotamento a partir da membrana celular
Gênero <i>Ebolavirus</i>	Vírus Ebola	
Flaviviridae		
Gênero <i>Flavivirus</i>	Vírus da encefalite brasileira (vírus Rocio), vírus da dengue, vírus da encefalite japonesa B, vírus da Floresta de Kyanasur, vírus da encefalomielite <i>louping ill</i> , encefalite do Vale do Murray, vírus da febre hemorrágica de Omsk, vírus da encefalite russa da primavera-verão, vírus da encefalite de St. Louis, vírus da encefalite transmitida por carrapato, vírus da febre do Nilo Ocidental e vírus da febre amarela. Transmitidos por artrópodes (mosquitos, carrapatos)	Esféricos, 40 a 60 nm de diâmetro. Genoma: RNA infeccioso de filamento simples e de sentido positivo, com 11 kb de tamanho. Envelope. Três polipeptídeos estruturais, sendo dois glicosilados. Replicação: citoplasma. Organização: no interior do retículo endoplasmático. Todos os vírus são sorologicamente relacionados
Reoviridae		
Gênero <i>Coltivirus</i>	Vírus da febre do carrapato do Colorado. Transmitido por artrópodes (carrapatos, mosquitos)	Esféricos, 60 a 80 nm de diâmetro. Genoma: RNA de 10 a 12 segmentos de filamento duplo e linear, com tamanho total de 16 a 27 kb. Ausência de envelope. Dez a 12 polipeptídeos estruturais. Replicação e organização: citoplasma (ver Cap. 37)
Gênero <i>Orbivirus</i>	Vírus da doença equina africana e vírus da língua azul. Transmitido por artrópodes (mosquitos)	
Togaviridae		
Gênero <i>Alphavirus</i>	Vírus Chikungunya, vírus da encefalite equina do leste e do oeste e venezuelana, vírus Mayaro, vírus O'Nyong-nyong, vírus do Rio Ross, vírus da Floresta Semliki, vírus Sindbis. Transmitido por artrópodes (mosquitos)	Esféricos, 70 nm de diâmetro, nucleocapsídeo com 42 capsômeros. Genoma: RNA de fita simples e sentido positivo, tamanho de 11 a 12 kb. Envelope. Três ou quatro polipeptídeos estruturais principais, sendo dois glicosilados. Replicação: citoplasma. Organização: brotamento através das membranas celulares do hospedeiro. Todos os vírus são sorologicamente relacionados

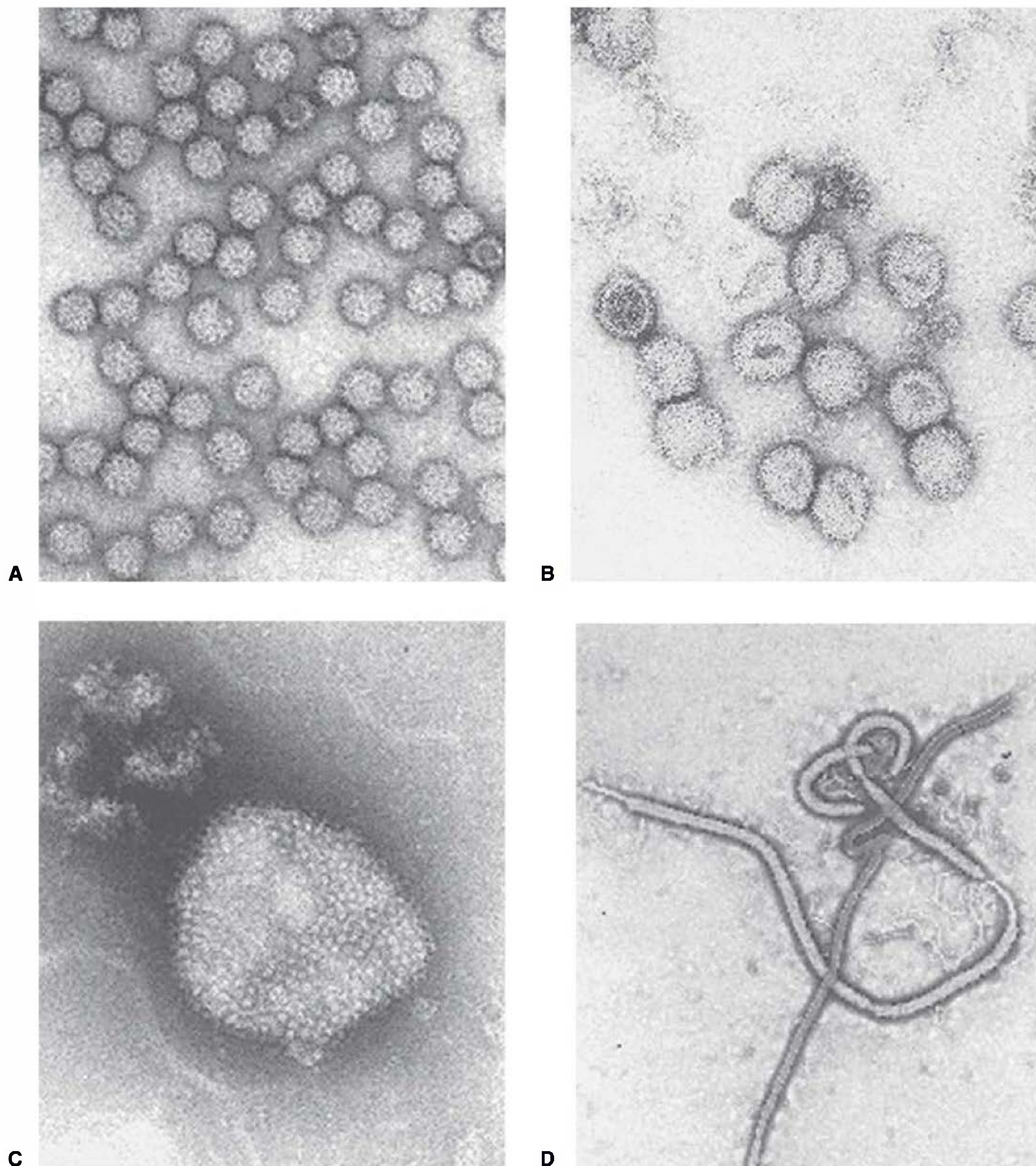


FIGURA 38.1 Micrografias eletrônicas típicas de arbovírus e vírus transmitidos por roedores. (A) Alfavírus, vírus da Floresta Semliki (Togaviridae). (B) Membro representativo da família Bunyviridae, vírus Uukuniemi. (C) Arenavírus, vírus Tacaribe (Arenaviridae). (D) Vírus Ebola (Filoviridae). (Cortesia de FA Murphy and EL Palmer.)

Cada continente tende a apresentar seu próprio padrão de arbovírus, geralmente com nomes sugestivos, como, por exemplo, encefalite equina venezuelana, encefalite B japonesa, encefalite do Vale do Murray (Austrália). Muitas encefalites são infecções por alfavírus e flavivírus disseminados por mosquitos, embora o grupo das encefalites da Califórnia seja causado por bunivírus. Em um determinado continente podem existir mudanças na distribuição, dependendo dos hospedeiros virais e dos vetores de determinado ano.

Diversos arbovírus causam infecções humanas significativas nos EUA (Quadro 38.2). O número de casos varia bastante de ano para ano.

ENCEFALITES POR TOGAVÍRUS E FLAVIVÍRUS

Classificação e propriedades dos togavírus e flavivírus

Na família Togaviridae, o gênero *Alphavirus* consiste em cerca de 30 vírus com 70 nm de diâmetro e genoma de RNA de fita simples e sentido positivo (Quadro 38.1). O envelope que circunda a partícula contém duas glicoproteínas (Fig. 38.1). Com frequência, os alfavírus estabelecem infecções persistentes em mosquitos e são transmitidos entre vertebrados por

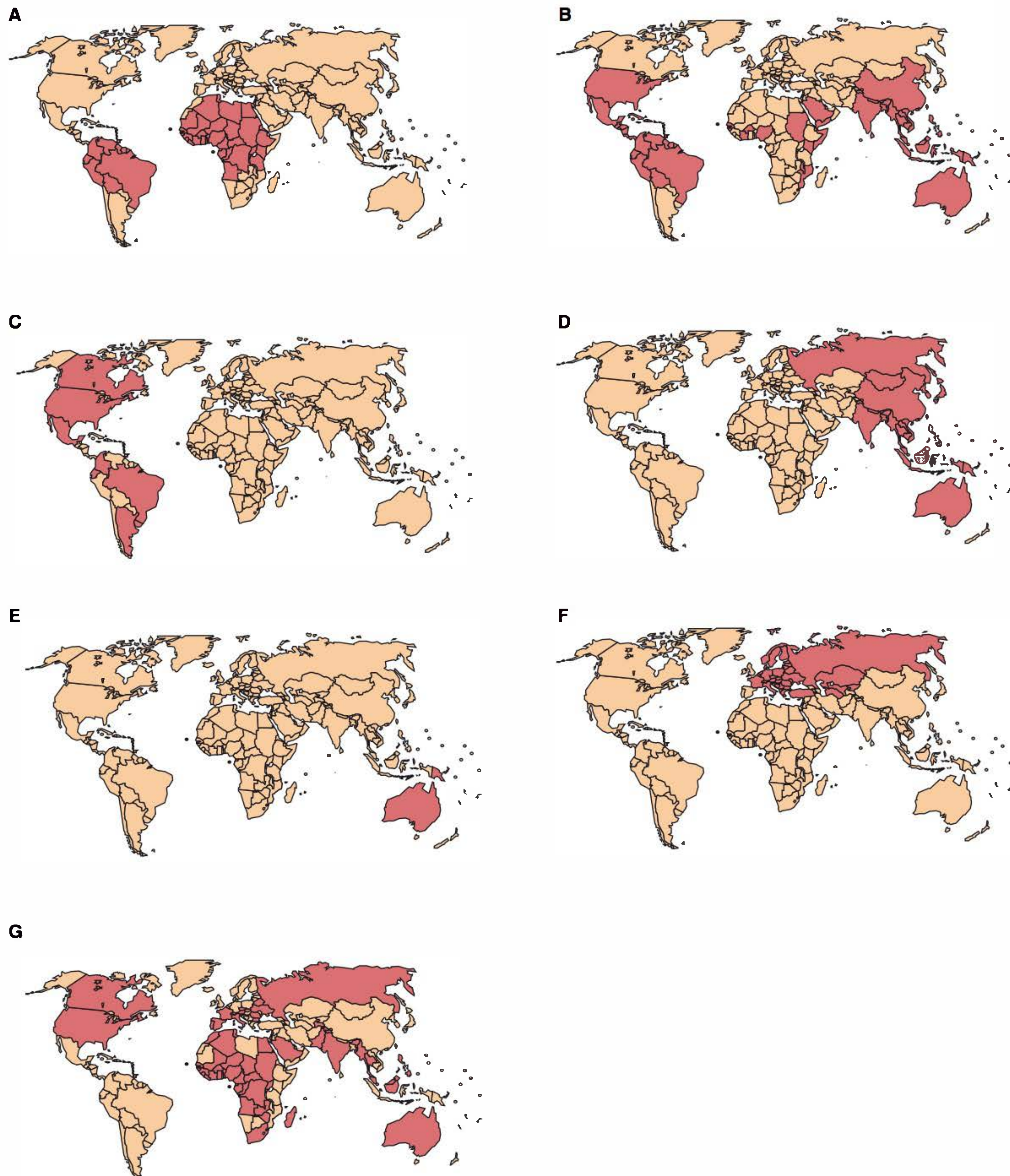


FIGURA 38.2 Distribuições conhecidas dos flavivírus causadores de doenças humanas. (A) Vírus da febre amarela. (B) Vírus da dengue. (C) Vírus da encefalite de St. Louis. (D) Vírus da encefalite japonesa B. (E) Vírus da encefalite do Vale do Murray. (F) Vírus da encefalite transmitida por carrapatos. (G) Vírus do Nilo Ocidental. (Reproduzida, com autorização, de Monath TP, Tsai TF: Flaviviruses. In Richmann DD, Whitley RJ, Hayden FG [editors]. *Clinical Virology*, 2nd ed. Washington DC: ASM Press, 2002.)

mosquitos ou outros artrópodes hematófagos. Apresentam distribuição mundial. Todos os alfavírus são relacionados antigenicamente. Os vírus são inativados por pH ácido, calor, solventes orgânicos, detergentes, fenol, álcool a 70% e formaldeído. A maioria exibe capacidade de hemaglutinação. O vírus da rubéola, classificado em um gênero separado na

família *Togaviridae*, não tem vetor artrópode e não é um arbovírus (ver Cap. 40).

Os arbovírus estão na família do gênero *Flavivirus*. Inicialmente, os flavivírus foram incluídos na família *togavírus* como “arbovírus do grupo B”, mas foram transferidos para uma família distinta devido a diferenças na organização do genoma

QUADRO 38.2 Resumo das principais infecções humanas causadas por arbovírus e vírus transmitidos por roedores que ocorrem nos EUA

Doenças ^a	Exposição	Distribuição	Vetores principais	Relação infecção:casos (Incidência etária)	Sequelas ^b	Taxa de mortalidade
Encefalite equina do leste (<i>Alphavirus</i>)	Rural	Atlântico, litoral sudoeste	<i>Aedes, Culex</i>	10:1 (lactentes) 50:1 (indivíduos de meia-idade) 20:1 (idosos)	+	30 a 70%
Encefalite equina do Oeste (<i>Alphavirus</i>)	Rural	Pacífico, montanhas, Sudoeste	<i>Culex tarsalis, Aedes</i>	50:1 (até 5 anos) 1.000:1 (acima de 15 anos)	+	3 a 7%
Encefalite equina venezuelana (<i>Alphavirus</i>)	Rural	Sul (também Américas do Sul e Central)	<i>Aedes, Psorophora, Culex</i>	25:1 (até 15 anos) 1.000:1 (acima de 15 anos)	±	Casos fatais são raros
Encefalite de St. Louis (<i>Flavivirus</i>)	Urbana-rural	Disseminada	<i>Culex</i>	800:1 (até 9 anos) 400:1 (9 a 59 anos) 85:1 (acima de 60 anos)	±	3 a 10% (até 65 anos) 30% (acima de 65 anos)
Febre do Nilo Ocidental (<i>Flavivirus</i>)	Urbana-rural	Disseminada	<i>Culex, Aedes, Anopheles</i>	150:1	Desconhecidas	3 a 15%
Encefalite da Califórnia (La Crosse) (<i>Orthobunyavirus</i>)	Rural	Centro-norte, Atlântico, Sul	<i>Aedes triseriatus</i>	Relação desconhecida (maioria dos casos com menos de 20 anos)	Raras	Cerca de 1%
Síndrome pulmonar por hantavírus (<i>Hantavirus</i>)	Rural	Sudoeste, Oeste	<i>Peromyscus maniculatus</i> ^c	Desconhecidas	Desconhecidas	30%
Febre do carrapato do Colorado (<i>Coltivirus</i>)	Rural	Pacífico, montanhas	<i>Dermacentor andersoni</i>	Relação desconhecida (acomete todas as faixas etárias)	Raras	Casos fatais são raros

^a É mostrado entre parênteses, sob o nome da doença, o gênero no qual o(s) agente(s) viral(is) causador(es) está(ão) classificado(s). As famílias virais estão indicadas e descritas no Quadro 38.1.

^b Sequelas: +, comuns; ± ocasionais.

^c Reservatório roedor: nenhum vetor.

viral. A família Flaviviridae consiste em cerca de 70 vírus de 40 a 60 nm de diâmetro, genoma de RNA de fita simples, sentido positivo. O envelope viral contém duas glicoproteínas. Alguns flavivírus são transmitidos entre vertebrados por mosquitos e carrapatos, enquanto outros são transmitidos entre roedores ou morcegos sem qualquer inseto vetor conhecido. Muitos apresentam distribuição mundial. Todos os flavivírus são relacionados antigenicamente. Os flavivírus são inativados de modo semelhante ao dos alfavírus, e muitos também exibem capacidade hemaglutinante. O vírus da hepatite C, classificado em um gênero separado na família Flaviviridae, não tem vetor artrópode e não é um arbovírus (ver Cap. 35).

Replicação dos togavírus e flavivírus

O genoma de RNA dos alfavírus é de sentido positivo (Fig. 38.3). Os RNAm de comprimento genômico e subgenômico (26S) são produzidos durante a transcrição. A transcrição de comprimento

genômico produz uma poliproteína precursora, que codifica as proteínas não estruturais (p. ex., replicase, transcriptase) necessárias para a replicação viral. O RNAm subgenômico codifica as proteínas estruturais. As proteínas são elaboradas por clivagem após a tradução. Os alfavírus replicam-se no citoplasma e maturam por brotamento dos nucleocapsídeos através da membrana plasmática. Dados relativos à sequência indicam que o vírus da encefalite equina do oeste é o recombinante genético do vírus da encefalite equina do leste e do vírus Sindbis.

O genoma de RNA dos flavivírus também tem sentido positivo. Durante a replicação viral, ocorre produção de uma grande proteína precursora a partir dos RNAm de comprimento genômico. Essa proteína é clivada por proteases do vírus e do hospedeiro, produzindo todas as proteínas virais, estruturais e não estruturais. Os flavivírus replicam-se no citoplasma e a organização das partículas ocorre em vesículas intracelulares (Fig. 38.4). A proliferação de membranas intracelulares é uma característica das células infectadas por flavivírus.

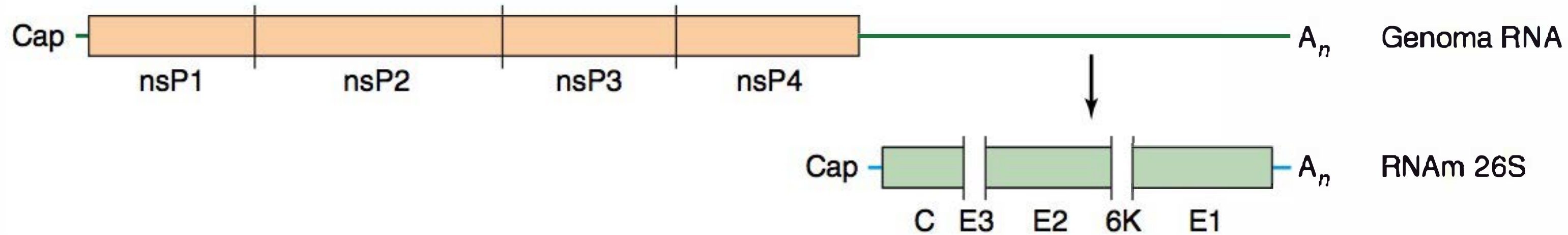


FIGURA 38.3 Organização genômica dos alfavírus. As proteínas não estruturais (nsP) são traduzidas a partir do RNA genômico em forma de poliproteína, que é processada em 4 proteínas não estruturais por uma protease viral presente em nsP2. As proteínas estruturais são traduzidas a partir de um RNAm 26S subgenômico, em forma de uma poliproteína que é processada por uma combinação de proteases viral e celular em uma proteína do capsídeo (C), três glicoproteínas do envelope (E3, E2 e E1) e uma proteína associada à membrana, denominada 6K. C, E2 e E1 constituem os principais componentes dos virions, que estão representados nas áreas sombreadas da figura. (Reproduzida, com autorização, de Strauss JH, Strauss EG, Kuhn RJ: Budding of alphaviruses. *Trends Microbiol* 1995;3:346.)

Propriedades antigênicas dos togavírus e flavivírus

Todos os alfavírus são antigenicamente relacionados. Devido aos determinantes antigênicos comuns, os vírus exibem reações cruzadas em técnicas de imunodiagnóstico. Os testes de inibição da hemaglutinação, ensaio imunoenzimático (Elisa) e imunofluorescência (IF) definem oito complexos antigênicos ou sorotipos de alfavírus, quatro dos quais são representados pelos vírus da encefalite equina do oeste e do leste, da encefalite equina venezuelana e pelo vírus da Floresta de Semliki. A identificação de um vírus específico pode ser efetuada por meio de testes de neutralização. De modo semelhante, todos os flavivírus compartilham locais antigênicos. Até hoje, pelo menos oito

complexos antigênicos foram identificados com base nos testes de neutralização para os alfavírus e dez para os flavivírus. A proteína do envelope (E) é a hemaglutinina viral, que contém os determinantes específicos do grupo, do sorocomplexo e do tipo. As comparações das sequências do gene da glicoproteína E mostram que os vírus dentro de um sorocomplexo partilham 70% das sequências de aminoácidos, enquanto a homologia entre sorocomplexos é < de 50%.

Patogênese e patologia

Em hospedeiros vertebrados suscetíveis, a multiplicação viral primária ocorre tanto em células mieloides quanto em células linfoides ou no endotélio vascular. A multiplicação no sistema

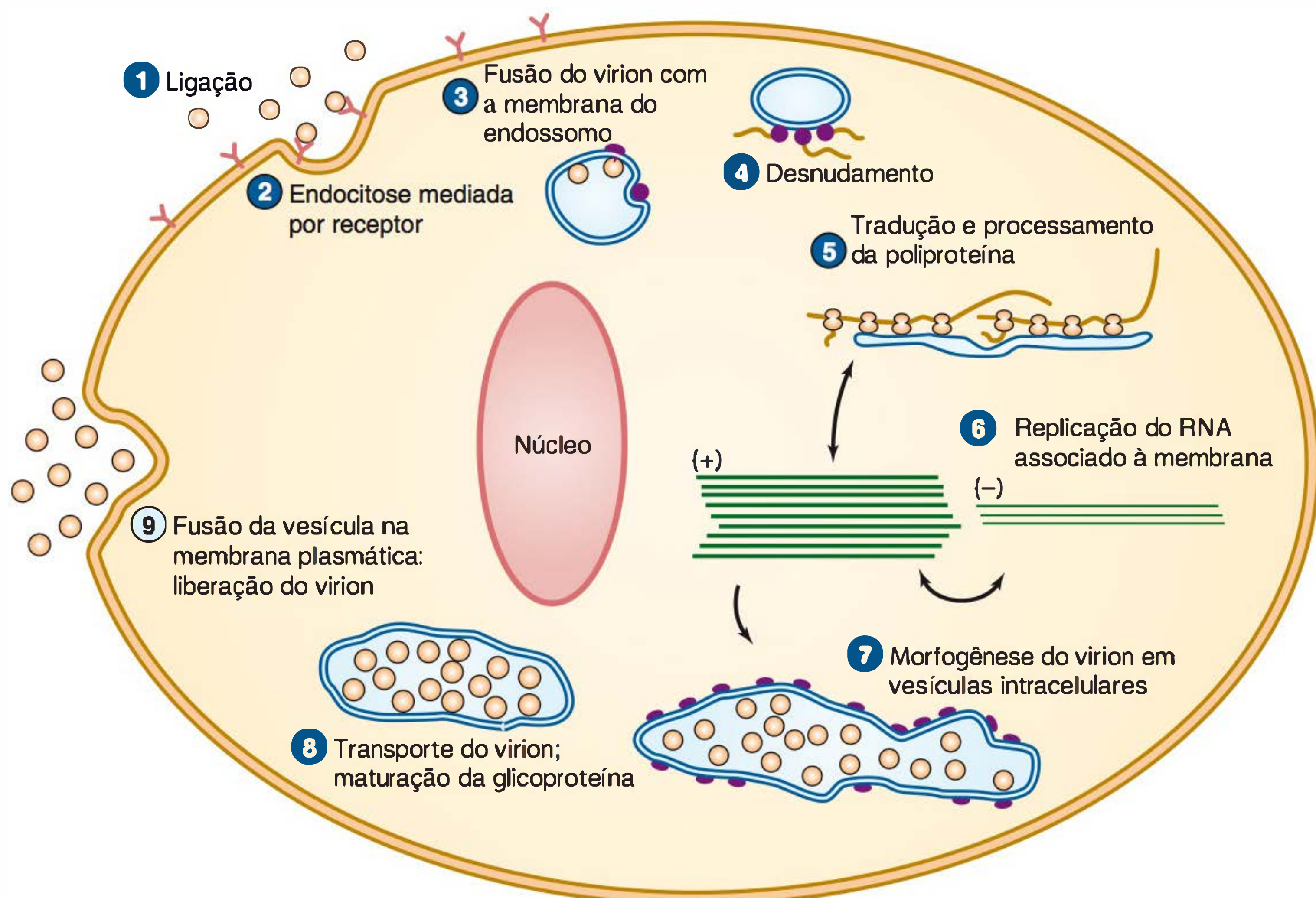


FIGURA 38.4 O ciclo de vida dos flavivírus. (Cortesia de CM Rice.)

nervoso central depende da capacidade do vírus de ultrapassar a barreira hematoencefálica e infectar as células nervosas. Na infecção natural em aves e mamíferos, uma infecção invisível é comum. A viremia ocorre por diversos dias, e um vetor artrópode adquire o vírus sugando o sangue nesse período — o primeiro passo para a disseminação para outros hospedeiros.

A doença em animais de laboratório possibilita maior compreensão da doença humana. Camundongos têm sido utilizados para o estudo da patogênese das encefalites. Após inoculação subcutânea, a replicação viral ocorre nos tecidos locais e nos linfonodos regionais. O vírus alcança a corrente sanguínea e dissemina-se. Dependendo do agente específico, diferentes tecidos podem ser usados para a replicação viral, inclusive monócitos-macrófagos, células endoteliais, pulmões, fígado e músculos. O vírus cruza a barreira hematoencefálica por mecanismos desconhecidos, talvez envolvendo os neurônios olfatórios ou células vasculares cerebrais, e dissemina-se. A degeneração neuronal disseminada ocorre em todas as encefalites induzidas por arbovírus.

Em grande parte das infecções, o vírus é controlado antes de ocorrer a neuroinvasão. A invasão depende de muitos fatores, inclusive o nível de viremia, a formação genética do hospedeiro, a resposta imunológica inata e adaptativa e a virulência da linhagem viral. O homem mostra uma suscetibilidade dependente da idade para infecções do sistema nervoso central, e as crianças e os idosos são mais suscetíveis.

As encefalites equinas são bifásicas nos cavalos. Na primeira fase (doença *minor*), o vírus multiplica-se no tecido não neural e pode ser detectado no sangue alguns dias antes do aparecimento dos primeiros sinais de comprometimento do sistema nervoso central. Na segunda fase (doença *major*), o vírus multiplica-se no cérebro, as células são lesionadas e destruídas, e a encefalite torna-se clinicamente nítida. São necessárias altas concentrações do vírus no tecido cerebral para que a doença clínica se torne manifesta. Ocorre degeneração neuronal disseminada em todas as encefalites induzidas por arbovírus.

Manifestações clínicas

Os períodos de incubação das encefalites variam de 4 a 21 dias. Infecções invisíveis são comuns. Algumas pessoas infectadas desenvolvem sintomas brandos de resfriado, enquanto outras desenvolvem encefalites. O início é súbito, com cefaleia intensa, calafrios, febre, náuseas, vômitos, dor generalizada e mal-estar. Em 24 a 48 horas, verifica-se o aparecimento de sonolência acentuada e o paciente pode tornar-se torporoso. Nos casos graves, ocorrem confusão mental, tremores, convulsões e coma. A febre tem duração de 4 a 10 dias. A taxa de mortalidade nas encefalites varia (Quadro 38.2). Na encefalite japonesa B, a taxa de mortalidade nos grupos etários mais avançados pode atingir 80%. As sequelas podem ser brandas a graves e incluem deterioração mental, alterações de personalidade, paralisia, afasia e sinais cerebelares.

Diagnóstico laboratorial

A. Isolamento e detecção do vírus

O isolamento viral requer precauções apropriadas de biossegurança para se prevenir infecções laboratoriais. O vírus é encontrado no sangue apenas no estágio inicial da infecção, em geral

antes do aparecimento dos sintomas. Também pode ser encontrado no líquido cerebrospinal e em amostras de tecido, dependendo do agente. Os alfavírus e os flavivírus geralmente são capazes de crescer em linhagens celulares comuns, como células Vero, BHK, HeLa e MRC-5. As linhagens de células de mosquitos são úteis. A inoculação intracerebral em camundongos ou *hamsters* recém-nascidos também pode ser usada para isolamento do vírus.

Existem testes de reação em cadeia da polimerase (PCR) disponíveis para detecção direta do RNA viral ou proteínas em amostras clínicas de algumas espécies de arbovírus. O emprego de anticorpos monoclonais específicos de vírus em ensaios de imunofluorescência tem facilitado a identificação rápida do vírus em amostras clínicas.

B. Sorologia

Podem ser detectados anticorpos neutralizantes e anticorpos inibidores da hemaglutinação poucos dias após o início da doença. Os anticorpos neutralizantes e os anticorpos inibidores da hemaglutinação persistem por anos. O teste de inibição da hemaglutinação constitui o teste diagnóstico mais simples, porém identifica mais o grupo do que o vírus causal específico. Os ensaios sorológicos mais sensíveis detectam IgM específicas do vírus no soro e no líquido cerebrospinal por Elisa.

Para se estabelecer o diagnóstico, é necessário demonstrar uma elevação de quatro vezes ou mais dos títulos de anticorpos específicos durante a infecção para se confirmar o diagnóstico. A primeira amostra de soro deve, se possível, ser coletada logo após o início da doença, devendo-se obter a segunda amostra em 2 a 3 semanas. Ao se estabelecer o diagnóstico, deve-se considerar a reatividade cruzada que ocorre entre alfavírus ou flavivírus. Após uma única infecção por um membro do grupo, pode-se verificar também a produção de anticorpos dirigidos contra outros membros. O diagnóstico sorológico torna-se difícil quando ocorre epidemia causada por um membro do grupo sorológico em uma região em que outro membro do grupo seja endêmico.

Imunidade

Acredita-se que a imunidade seja permanente após uma única infecção. As respostas imunológicas tanto humoral quanto celular são consideradas importantes na proteção e na recuperação da infecção. Nas áreas endêmicas, a população pode adquirir imunidade em consequência de infecções inaparentes. A proporção de indivíduos com anticorpos dirigidos contra o vírus local transmitido por artrópodes aumenta com a idade.

Devido à presença de antígenos comuns, a resposta à imunização ou à infecção por um dos vírus de determinado grupo pode ser modificada por exposição prévia a outro membro do mesmo grupo. Esse mecanismo pode ser importante para conferir proteção em uma comunidade contra epidemia causada por outro agente relacionado (p. ex., não ocorre encefalite japonesa B em áreas endêmicas para a febre do Nilo Ocidental).

Epidemiologia

Nas áreas altamente endêmicas, quase toda a população humana pode tornar-se infectada por um arbovírus, e a maioria das infecções é assintomática. Existe uma alta relação infecção-caso entre grupos etários específicos para muitas infecções causadas

por arbovírus (Quadro 38.2). A maior parte dos casos ocorre nos meses de verão no Hemisfério Norte, período em que os artrópodes estão mais ativos.

A. Encefalite equina do leste e do oeste

A encefalite equina do leste é a mais grave das encefalites arbovirais, com a mais alta taxa de mortalidade. As infecções são raras e esporádicas nos EUA, com uma média de cinco casos confirmados por ano. Infecções inaparentes são comuns. No caso da encefalite equina do oeste, a transmissão ocorre em baixos níveis no Oeste rural, onde as aves e os mosquitos *Culex tarsalis* estão envolvidos na manutenção do ciclo de vida do vírus. A média de infecções humanas é de 15 casos confirmados por ano. Entretanto, existem instâncias no passado (mais recentemente em 1987) em que seres humanos e equinos se infectaram em níveis epidêmicos e epizooticos. Os surtos também afetaram grandes áreas do oeste dos EUA e do Canadá.

B. Encefalite de St. Louis

Na América do Norte, o vírus da encefalite de St. Louis constitui a causa mais importante de encefalite epidêmica em seres humanos (Fig. 38.2), tendo causado cerca de 10.000 casos e 1.000 mortes desde que foi reconhecido pela primeira vez, em 1933. As taxas de soroprevalência em geral são baixas e a incidência da encefalite de St. Louis variam a cada ano nos EUA. Existe atualmente uma média de 130 casos confirmados por ano. Menos de 1% das infecções virais é clinicamente aparente. É necessária a presença de mosquitos infectados para que possa ocorrer infecção humana, embora os fatores socioeconômicos e culturais (ar-condicionado, uso de telas protetoras, controle dos mosquitos) afetem o grau de exposição da população a esses vetores transportadores de vírus.

C. Febre do Nilo Ocidental

A febre do Nilo Ocidental é causada por um membro do complexo antigênico de flavivírus causadores da encefalite japonesa B. Ocorre na Europa, no Oriente Médio, nos países integrantes da antiga União Soviética, no Sudeste Asiático e, mais recentemente, nos EUA. O surgimento inesperado na região da cidade de Nova York, em 1999, resultou em sete mortes e extensa mortalidade entre animais domésticos e aves exóticas. A análise das sequências dos isolados virais mostrou que eles eram originários do Oriente Médio e provavelmente cruzaram o Atlântico em uma ave infectada, em um mosquito ou em seres humanos.

Três anos após ter completado sua mudança transcontinental por meio dos EUA, a presença do vírus do Nilo Ocidental se estabeleceu de forma permanente na região temperada da América do Norte. O vírus do Nilo Ocidental já foi detectado em 48 Estados americanos, sendo, atualmente a principal causa de encefalites por arbovírus, nos EUA. Outros arbovírus que causam doenças neuroinvasivas esporádicas nos EUA incluem o vírus La Crosse e os vírus da encefalite de St. Louis e Ocidental. Estima-se que cerca de 80% das infecções pelo vírus do Nilo Ocidental são assintomáticas, com 20% causando a febre do Nilo Ocidental e menos de 1% causando doenças neuroinvasivas (meningite, encefalite ou paralisia aguda flácida). A encefalite fatal é mais comum em pessoas idosas. Uma deficiência genética resultando em uma variante não funcional

do receptor de quimiocina CCR5 foi identificada como fator de risco para infecções sintomáticas pelo vírus do Nilo Ocidental.

Em 2002, ocorreu, nos EUA, a maior epidemia por meningoencefalites causadas por arbovírus documentada no Hemisfério Ocidental. Houve 3.389 casos relatados de doença humana pelo vírus do Nilo Ocidental, 69% com meningoencefalite e 21% com febre do Nilo Ocidental. Mais de 9.000 casos ocorreram em cavalos. De 1999 a 2008, foram documentados 28.961 casos de febre do Nilo Ocidental, nos EUA, e 41% apresentavam complicações neuroinvasivas. A epidemia pelo vírus do Nilo Ocidental de 2002 incluiu o primeiro caso documentado de transmissão entre pessoas através de transplante de órgão, transfusão de sangue, pelo útero e talvez pelo aleitamento materno. O rastreamento entre doadores de sangue para o vírus do Nilo Ocidental foi implementado nos EUA em 2003.

O vírus do Nilo Ocidental produz viremia e uma doença febril branda com linfadenopatia e erupção. O envolvimento transitório das meninges pode ocorrer durante o estágio agudo. Existe somente um tipo antigênico do vírus e a imunidade é presumivelmente permanente.

Uma vacina contra o vírus do Nilo Ocidental para cavalos encontra-se disponível desde 2003. Não existe vacina humana. A prevenção da doença pelo vírus do Nilo Ocidental depende do controle e de proteção contra picadas do mosquito.

D. Encefalite japonesa B

A encefalite japonesa B constitui a principal causa de encefalite viral na Ásia (Fig. 38.2). Anualmente, são registrados cerca de 50.000 casos na China, no Japão, na Coreia e no subcontinente indiano, com 10.000 mortes, principalmente entre crianças e idosos. A mortalidade pode ultrapassar os 30%. Ocorrem sequelas neurológicas e psiquiátricas em elevado percentual de sobreviventes (acima de 50%). Foram relatadas infecções durante o primeiro e o segundo trimestres de gravidez que levaram à morte do feto.

Os estudos de soroprevalência indicam haver uma exposição quase universal dos adultos ao vírus da encefalite japonesa B. A relação estimada entre infecções assintomáticas e sintomáticas é de 300:1. Até o momento, não há tratamento efetivo contra este agente viral, porém há vacinas disponíveis na Ásia. Uma nova vacina inativada produzida em células Vero foi licenciada, nos EUA em 2009.

E. Doença de Chikungunya

Esse alfavírus pertence ao complexo antigênico da Floresta de Semliki reemergindo no Quênia em 2004, após período de eclipse de várias décadas, causando grandes surtos na Índia e no sudeste da Ásia. O vírus também causou um surto na Itália em 2007. Clinicamente, a infecção se assemelha à dengue*.

* N. de R.T. O Vírus é transmitido para os seres humanos por mosquitos do gênero *Aedes*. O *Aedes aegypti* é o principal vetor na África e Ásia, onde o vírus é endêmico. Entretanto, o *Aedes albopictus* foi identificado em recentes epidemias na introdução do vírus na Europa, devido à adaptação de cepas virais a essa espécie. Tanto o *A. aegypti* quanto o *A. albopictus* estão presentes nas Américas e podem transmitir o vírus CHIKV. Até o momento, não existe dados que comprovem a circulação desse vírus ou casos autóctones em território brasileiro, apenas relatos de casos esporádicos importados. Contudo, o risco de introdução é alto devido ao intenso fluxo de viagens internacionais, à competência e distribuição vetorial e à suscetibilidade da população.

A doença é caracterizada por febre alta e poliartrite grave. Infecções assintomáticas são raras e não há vacinas disponíveis comercialmente.

F. Encefalite vinculada à picada de carrapatos

Está associada a um flavivírus causando encefalites na Europa, Rússia e nordeste da China. Cerca de 10.000 a 12.000 casos de doença são reportados a cada ano. A maioria dos casos ocorre nos países Bálticos na Eslovênia e Rússia. Essa doença ocorre principalmente no início do verão, particularmente em indivíduos expostos aos carrapatos *Ixodes persulcatus* e *Ixodes ricinus*, em áreas de florestas durante desmatamento. Três subtipos virais causam doenças humanas (europeu, do extremo oriente e o siberiano), o subtipo siberiano parece ser o mais virulento. Várias espécies de animais podem ser infectadas, e a transmissão entre seres humanos ainda não é comprovada. Não há tratamento específico para essa encefalite. Medidas de proteção pessoais, tais como o uso de roupas apropriadas podem ajudar a reduzir o risco de exposição ao vetor. Vacinas produzidas na Austrália, Alemanha e Rússia estão disponíveis e são baseadas exclusivamente nos subtipos europeu e siberiano.

Tratamento e controle

Não há tratamento específico. O controle biológico do hospedeiro vertebrado é impraticável, especialmente quando muitos

desses hospedeiros são aves selvagens. O método mais eficiente, por exemplo, é o controle do artrópode por meio do uso de inseticidas contra os mosquitos. Medidas pessoais incluem o uso de repelentes e de roupas protetoras, além de telas como barreiras nas janelas. Diferentes vacinas inativadas foram desenvolvidas, ou estão em desenvolvimento para proteção de cavalos contra a encefalite equina do leste, do oeste e venezuelana. Uma vacina atenuada para a encefalite equina venezuelana está disponível para restringir epidemias entre cavalos. Essas vacinas não são usadas para imunização humana. Vacinas inativadas contra ambas as encefalites estão disponíveis em caráter experimental, apenas para indivíduos que trabalham especificamente com esses vírus em laboratórios de referência. Vacinas atenuadas e inativadas contra o vírus da encefalite japonesa B estão disponíveis para imunização humana em diferentes países asiáticos. Vacinas também estão disponíveis nos EUA para indivíduos em viagem a países endêmicos.

Ciclos de transmissão de arbovírus entre vetor e hospedeiro

Ocorre infecção de seres humanos por vírus causadores de encefalites transmitidas por mosquitos quando um mosquito, ou outro artrópode, pica em primeiro lugar um animal infectado e, mais tarde, um ser humano.

As encefalites equinas do leste, do oeste e venezuelana são transmitidas por mosquitos do gênero *Culex* a cavalos ou

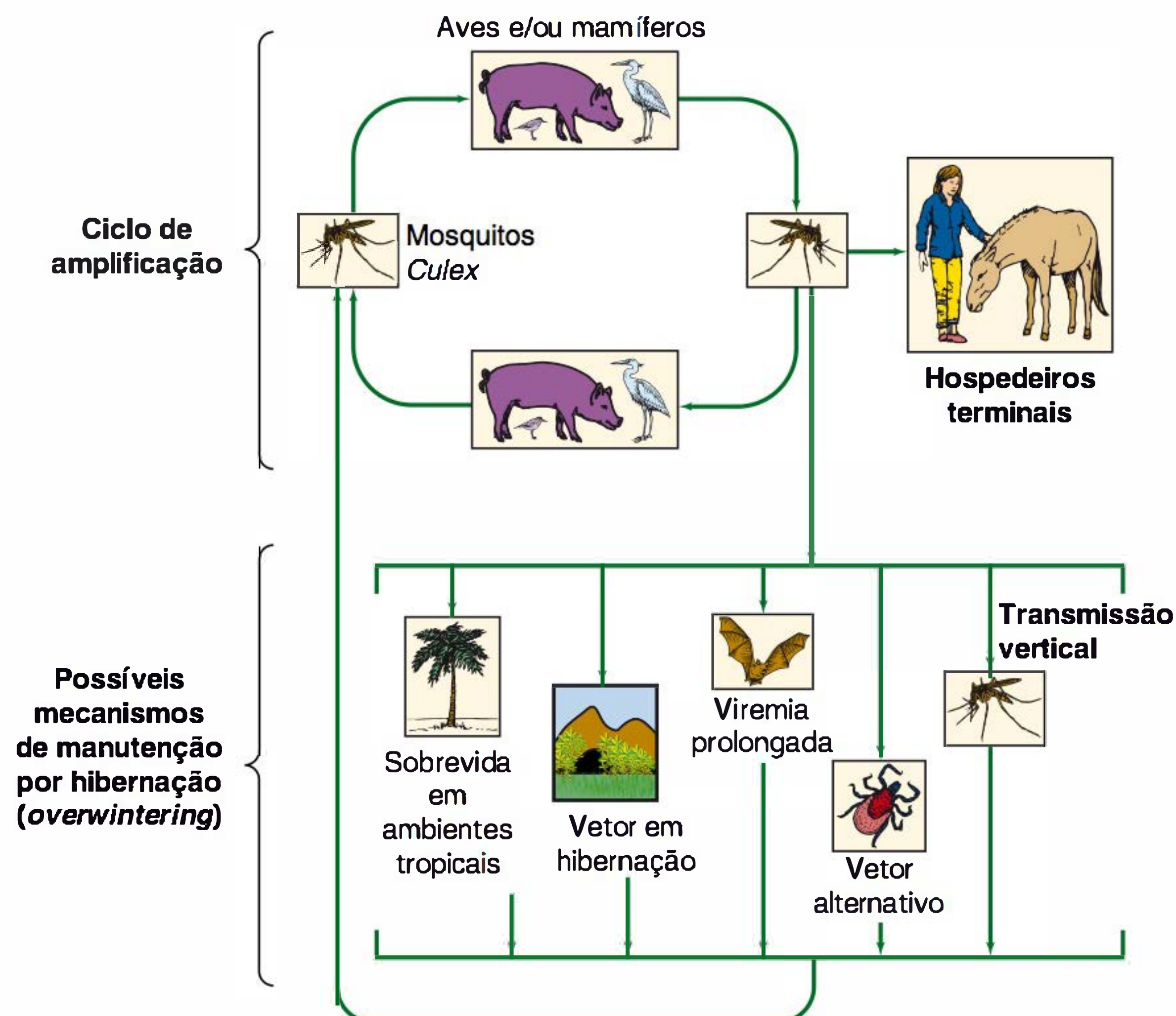


FIGURA 38.5 Ciclo de transmissão generalizada dos flavivírus transmitidos por mosquitos causadores de encefalite. A figura mostra a amplificação no verão e os possíveis mecanismos de persistência do vírus em seu vetor por períodos prolongados. Os seres humanos são hospedeiros terminais e, portanto, não contribuem para a perpetuação da transmissão do vírus. As aves silvestres constituem os hospedeiros virêmicos mais comuns, porém os suínos desempenham importante papel no caso do vírus da encefalite japonesa. O padrão apresentado aplica-se a muitos flavivírus, mas não para todos. (Reproduzida, com autorização, de Monath TP, Heinz FX: Flaviviruses. In: Fields BN, Knipe DM, Howley PM [editors-in-chief]. *Fields Virology*, 3rd ed. Lippincott-Raven, 1996.)

seres humanos a partir de um ciclo mosquito-ave-mosquito (Fig. 38.5). Os cavalos, assim como os seres humanos, não são hospedeiros essenciais para a manutenção do vírus. Tanto a encefalite equina do leste quanto a encefalite venezuelana são graves em cavalos, e até 90% dos animais acometidos morrem. A encefalite equina do oeste epizootica é menos fatal para os cavalos. Além disso, a encefalite equina do leste causa epizootias graves em certas aves de caça domésticas. Verifica-se também um ciclo mosquito-ave-mosquito na encefalite de St. Louis, na febre do Nilo Ocidental e na encefalite japonesa B. Os suínos constituem importantes hospedeiros do vírus da encefalite japonesa B. Os mosquitos permanecem infectados durante toda a vida (várias semanas a meses). Apenas a fêmea é hematófaga e pode alimentar-se e transmitir o vírus mais de uma vez. As células do intestino médio do mosquito constituem o local de multiplicação primária do vírus. Em seguida, ocorrem viremia e invasão dos órgãos — principalmente das glândulas salivares e do tecido nervoso, onde ocorre multiplicação viral secundária. O artrópode permanece sadio.

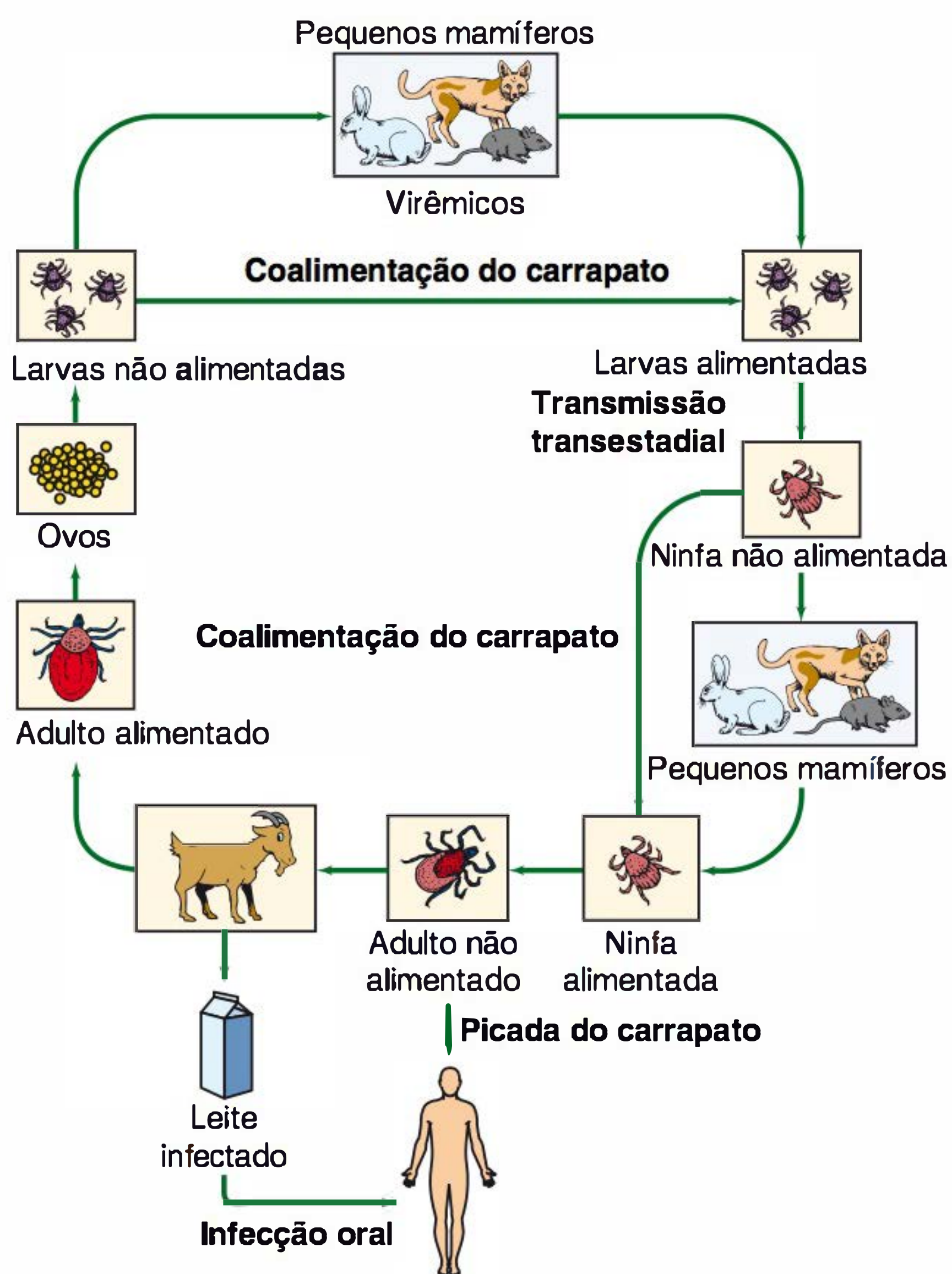


FIGURA 38.6 Ciclo de transmissão generalizada dos flavivírus transmitidos por carrapatos, mostrando os hospedeiros para os carrapatos nas formas larvar, de ninfa e adulta. O vírus passa por sucessivos estágios do carrapato durante a metamorfose (transmissão transtetadial), bem como por via transovariana para a progênie de carrapatos adultos. Tanto os machos quanto as fêmeas dos carrapatos estão envolvidos na transmissão. O vírus da encefalite transmitido por carrapato pode ser transmitido por carrapatos não infectados, que se alimentam em um hospedeiro vertebrado, sem a necessidade de infecção virêmica ativa do hospedeiro. (Reproduzida, com autorização, de Monath TP, Heinz FX: Flaviviruses. In *Fields BN, Knipe DM, Howley PM [editors-in-chief]. Fields Virology*, 3rd ed. Lippincott-Raven, 1996.)

A infecção de morcegos insetívoros por arbovírus resulta em viremia de 6 a 12 dias de duração, sem qualquer doença ou alteração patológica no morcego. Enquanto a concentração de vírus está elevada, o morcego infectado pode infectar mosquitos, que são então capazes de transmitir a infecção a aves silvestres e aves domésticas, bem como a outros morcegos.

Existem também encefalites transmitidas por carrapatos, que podem tornar-se infectados em qualquer estágio de sua metamorfose, e o vírus pode ser transmitido por via transovariana (Fig. 38.6). O vírus é secretado no leite de cabras infectadas por longos períodos, de modo que a infecção pode ser transmitida a indivíduos que consomem leite não pasteurizado. O vírus da encefalite de Powassan foi o primeiro membro do complexo da encefalite russa de primavera-verão isolado, na América do Norte. O primeiro caso fatal foi registrado no Canadá, em 1959. A infecção humana é rara.

Persistência dos arbovírus

A epidemiologia das encefalites transmitidas por artrópodes deve explicar a manutenção e a disseminação dos vírus na natureza e na ausência de seres humanos. Foram isolados vírus de mosquitos e carrapatos, que atuam como reservatórios da infecção. Nos carrapatos, os vírus podem passar de uma geração para outra por via transovariana, e, nesses casos, o carrapato atua como verdadeiro reservatório do vírus e também como seu vetor (Fig. 38.6). Nos climas tropicais, onde existem populações de mosquitos durante o ano todo, o ciclo dos arbovírus ocorre continuamente entre mosquitos e animais reservatórios.

Nos climas temperados, o vírus pode ser reintroduzido a cada ano a partir de outros locais (p. ex., pela migração de aves provenientes de regiões tropicais), ou pode sobreviver ao inverno na mesma região. Os mecanismos de persistência dos arbovírus em seus vetores por períodos prolongados (hibernação), possíveis, mas não comprovados, incluem (Figs. 38.5 e 38.6): (1) os mosquitos hibernantes, por ocasião de sua reparação, podem reinfetar aves; (2) o vírus pode permanecer latente durante o inverno em aves, mamíferos ou artrópodes; e (3) vertebrados de sangue frio (cobras, tartarugas, lagartos, jacarés, rãs) podem funcionar como reservatórios no inverno. Os mosquitos podem ser infectados ao picar cobras e, em seguida, podem transmitir o vírus. O vírus já foi encontrado no sangue de cobras em regiões afastadas da civilização.

Os mosquitos estão estreitamente associados a morcegos, tanto no verão quanto no inverno (em locais de hibernação). O ciclo mosquito-morcego-mosquito pode constituir um possível mecanismo de hibernação para alguns arbovírus.

FEBRE AMARELA

O vírus da febre amarela é o membro protótipo da família Flaviviridae. Causa a febre amarela, uma doença febril aguda transmitida por mosquitos, que ocorre somente em regiões tropicais e subtropicais da América do Sul e na África (Fig. 38.2). Os casos graves caracterizam-se por disfunção hepática, renal e hemorragia, com alta mortalidade.

Com base na análise de sequências genômicas, ao menos sete genótipos do vírus da febre amarela foram identificados, cinco na África e dois na América do Sul. Existe um único sorotipo.

O vírus da febre amarela multiplica-se em muitos tipos diferentes de animais e mosquitos, e cresce em ovos embrionados, culturas de células de embrião de galinha e linhagens celulares, inclusive as de macaco, humanas, de *hamster* e de mosquito.

Patogênese e patologia

O vírus é introduzido por um mosquito na pele, onde se multiplica. Propaga-se para os linfonodos locais, o fígado, baço, rins, medula óssea e miocárdio, onde pode persistir por vários dias. Encontra-se presente no sangue na fase inicial e durante a infecção.

As lesões da febre amarela são decorrentes da localização e da propagação do vírus em determinado órgão. Essas infecções podem resultar em lesões necróticas no fígado e nos rins. Também ocorrem mudanças degenerativas no baço, nos linfonodos e no coração. A doença grave caracteriza-se por hemorragia e colapso circulatório. A lesão viral ao miocárdio pode contribuir para o choque.

Manifestações clínicas

O período de incubação é de 3 a 6 dias. No início abrupto, o paciente apresenta febre, calafrios, fraqueza, mialgia, cefaleia e dor nas costas, seguidos de náuseas e vômitos e bradicardia. Durante esse período inicial, que dura vários dias, o paciente mostra-se virêmico e é uma fonte de infecção para mosquitos. A maioria dos pacientes pode recuperar-se nesse ponto, mas em cerca de 15% dos casos a doença progride para uma forma mais grave, com febre, icterícia, falência renal e manifestações hemorrágicas. Os vômitos podem estar escuros (negro), com sangue alterado. Quando a doença progride para o estágio grave (falência hepatorenal), a mortalidade é alta (20% ou mais), especialmente entre crianças e idosos. A morte ocorre entre o sétimo e o décimo dias da doença. A encefalite é rara.

No entanto, a infecção pode ser discreta ao ponto de não ser percebida. Independentemente da gravidade, não há sequelas e os pacientes ou morrem ou se recuperam por completo.

Diagnóstico laboratorial

A. Detecção e isolamento do vírus

Os antígenos virais ou o ácido nucleico podem ser identificados em amostras de tecidos por meio de testes de imuno-histoquímica, Elisa de captura de antígeno ou reação em cadeia da polimerase (PCR). O vírus pode ser isolado do sangue nos primeiros 4 dias após o início ou no tecido *post mortem* por meio de inoculação intracerebral em camundongos ou pelo emprego de cultura de células.

B. Sorologia

Os anticorpos IgM aparecem durante a primeira semana de doença. A detecção de anticorpos IgM por Elisa (captura de antígeno) em uma única amostra fornece um diagnóstico presuntivo, com confirmação por um título de 4 vezes ou mais de anticorpos neutralizantes entre as fases aguda e convalescente nas amostras de soro. Os métodos sorológicos mais antigos, como a inibição da hemaglutinação, foram substituídos em grande parte pelo Elisa. Os anticorpos específicos inibidores da

hemaglutinação são os primeiros a aparecer, seguidos rapidamente de anticorpos contra outros flavivírus.

Imunidade

Os anticorpos neutralizantes desenvolvem-se em cerca de uma semana e são responsáveis pela eliminação (depuração) viral. Os anticorpos neutralizantes perduram pela vida toda e fornecem completa proteção contra a doença. A demonstração de anticorpos neutralizantes é útil somente para se testar a imunidade contra a febre amarela.

Epidemiologia

São reconhecidos dois ciclos epidemiológicos principais de transmissão da febre amarela: (1) a febre amarela urbana e (2) a febre amarela silvestre (Fig. 38.7). A febre amarela urbana envolve a transmissão de uma pessoa para outra pelo mosquito doméstico *Aedes*. No Hemisfério Ocidental e na África Ocidental, essa espécie é principalmente o *Aedes aegypti*, que se prolifera em água acumulada que acompanha os agrupamentos humanos. Nas áreas em que o *A. aegypti* foi eliminado ou suprimido, a febre amarela urbana desapareceu.

A febre amarela silvestre é principalmente uma doença de macacos. Na América do Sul e na África, é transmitida de um macaco para outro por mosquitos das árvores (*i. e.*, *Haemagogus*, *Aedes*) que habitam a cobertura de florestas úmidas. A infecção em animais pode ser grave ou inaparente. O vírus multiplica-se em mosquitos, que permanecem infecciosos a vida inteira. Pessoas envolvidas em atividades com a floresta entram em contato com esses mosquitos e são infectadas.

A febre amarela não invadiu a Ásia, apesar de o vetor, *A. aegypti*, estar amplamente distribuído nesse continente.

A febre amarela continua a infectar e matar centenas de pessoas no mundo inteiro, por falta de vacinação. Estima-se que anualmente a febre amarela atinja 200.000 pessoas, das quais cerca de 30.000 morrem. A maior parte dos surtos (cerca de 90%) ocorre na África. As epidemias em geral ocorrem em uma típica zona de emergência para febre amarela: savana úmida e semiúmida, próxima de florestas tropicais onde o ciclo silvestre é mantido em uma grande população de macacos. Durante as epidemias africanas, a taxa de infecção varia de 20:1 a 2:1. Todos os grupos etários são suscetíveis.

Nas Américas, a febre amarela apresenta características epidemiológicas típicas do seu ciclo florestal: a maioria dos casos ocorre em homens de 15 a 45 anos que trabalham na agricultura ou em atividades florestais.

Tratamento, prevenção e controle

Não existe terapia (fármacos) antiviral.

Os programas de extermínio intenso dos mosquitos praticamente eliminaram a febre amarela urbana, principalmente na América do Sul, mas o controle do vetor é impraticável em muitas partes da África. O último surto de febre amarela relatado nos EUA ocorreu em 1905. Entretanto, com a velocidade dos modernos transportes aéreos, existe a ameaça de surto de febre amarela sempre que houver a presença de *A. aegypti*. A maioria dos países insiste no controle adequado dos mosquitos em aeronaves e na vacinação de todas as pessoas pelo menos 10 dias antes de sua entrada ou saída de uma zona endêmica.

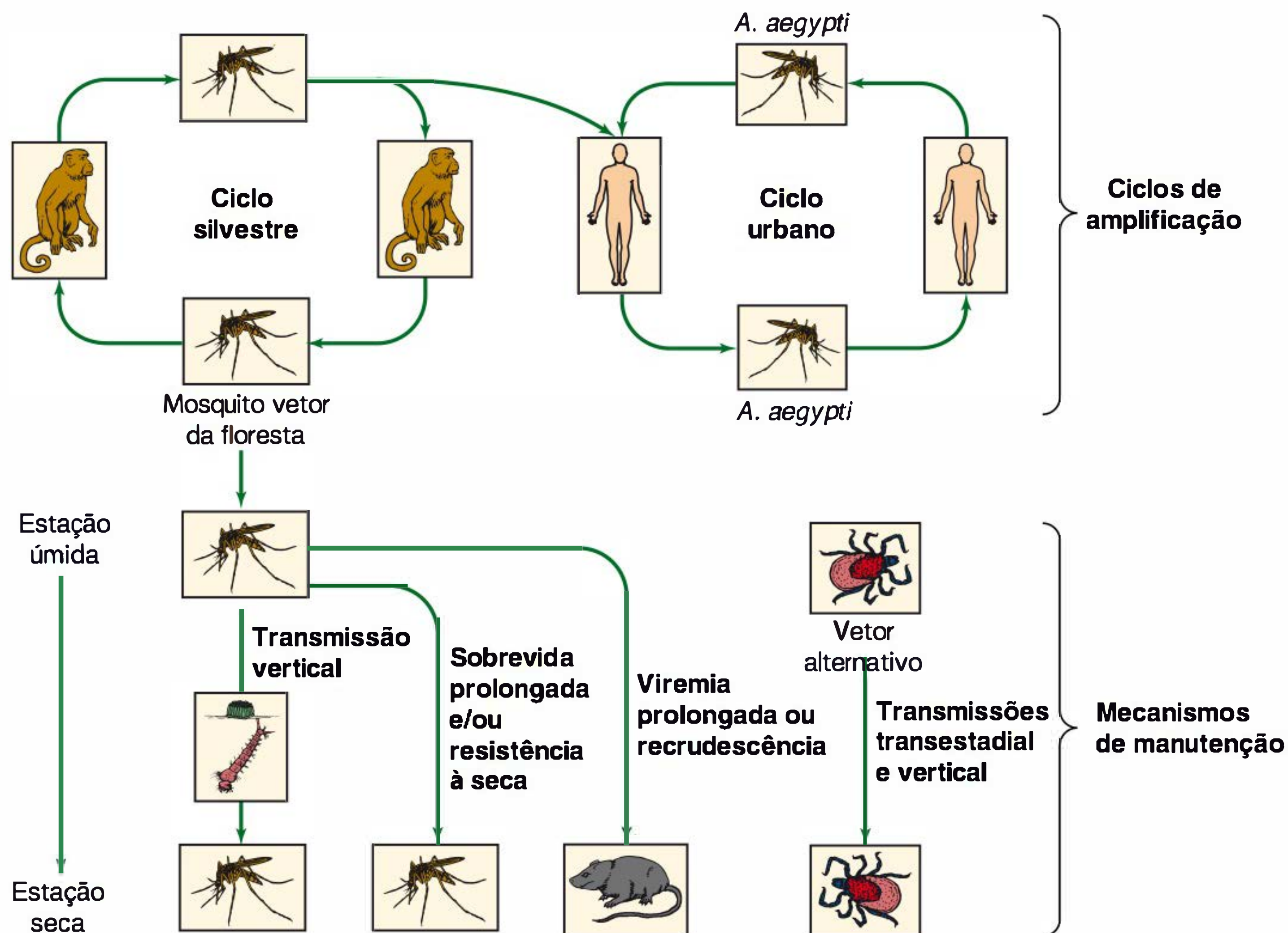


FIGURA 38.7 Ciclos de transmissão do vírus da febre amarela e do vírus da dengue. Esses vírus apresentam ciclos de manutenção enzoóticos, que envolvem vetores *Aedes* e primatas não humanos. Os vírus da dengue são transmitidos principalmente entre seres humanos e *Aedes aegypti* que se reproduzem em recipientes de água domésticos. No caso da febre amarela, a transmissão silvestre (floresta) é observada em toda a distribuição geográfica do vírus. Na América tropical, os casos de febre amarela em seres humanos são decorrentes do contato com mosquitos vetores das florestas e não houve caso algum de febre amarela urbana (transmitida por *Aedes aegypti*) durante mais de 50 anos. Na África, os vetores silvestres são responsáveis pela transmissão do vírus entre macacos e seres humanos, com a frequente participação do *Aedes aegypti* em regiões urbanas e de savana seca. (Reproduzida, com autorização, de Monath TP, Heinz FX: Flaviviruses. In: *Fields BN, Knipe DM, Howley PM [editors-in-chief]. Fields Virology, 3rd ed. Lippincott-Raven, 1996.*)

A cepa 17D do vírus da febre amarela fornece uma excelente vacina com vírus vivo atenuado. Durante uma série de passagens de uma linhagem pantrópica do vírus da febre amarela em cultura de células, foi obtida a cepa 17D, relativamente avirulenta. Esta linhagem perdeu sua capacidade de induzir doença viscerotrópica ou neurotrópica e tem sido utilizada como vacina nos últimos 70 anos.

A linhagem virulenta Asibi, do vírus da febre amarela, foi sequenciada e sua sequência comparada com a da linhagem vacinal 17D, da qual foi extraída (17D derivada da linhagem Asibi). Essas duas linhagens foram separadas por mais de 240 passagens. Os dois genomas RNA (10.862 nucleotídeos de extensão) diferem em 68 posições, resultando em um total de 32 aminoácidos diferentes.

A vacina é preparada em ovos e apresentada em forma de pó desidratado. Trata-se de um vírus vivo, que deve ser mantido sob refrigeração. Uma única dose produz boa resposta humoral em mais de 95% dos indivíduos vacinados, persistindo durante pelo menos 30 anos. Após a vacinação, o vírus multiplica-se e pode ser isolado do sangue antes do desenvolvimento de anticorpos.

A vacinação é contraindicada para crianças de menos de 9 meses de vida, durante a gravidez e em pessoas com alergia a ovos ou com sistema imunológico alterado (p. ex., infecção pelo HIV com baixa contagem de linfócitos T CD4⁺, transplante de órgãos).

A vacina 17D é segura. Mais de 400 milhões de doses da vacina contra a febre amarela já foram administradas e reações adversas são extremamente raras. Houve cerca de duas dezenas de casos no mundo inteiro de doença neurotrópica associada à vacina (encefalite pós-vacinal), a maior parte em crianças. Em 2000, foi descrita uma síndrome grave chamada doença viscerotrópica associada à vacina contra a febre amarela. Menos de 20 casos de falência múltipla de órgãos em pessoas vacinadas foram descritos.

A vacinação é a mais eficiente medida de prevenção contra a febre amarela, uma doença potencialmente grave, com alta taxa de mortalidade e para a qual não existe tratamento.

DENGUE

A dengue (**febre quebra-ossos**) é uma infecção causada por um flavivírus, transmitida por mosquitos, caracterizada por febre, cefaleia grave, mialgia, artralgia, náuseas, vômitos, dores oculares e exantema. Uma forma grave da doença, a dengue hemorrágica/síndrome do choque por dengue, acomete principalmente crianças. A dengue é endêmica em mais de 100 países.

Manifestações clínicas

A doença clínica começa 4 a 7 dias (podendo ser 3 a 14 dias) após a picada do mosquito infectante. O início da febre pode

ser súbito, ou podem ocorrer sintomas prodrômicos de mal-estar, calafrios e cefaleia. A dor surge rapidamente, sobretudo nas costas, nas articulações, nos músculos e nos globos oculares. A febre dura 2 a 7 dias, correspondendo ao pico da carga viral. A temperatura pode ceder em torno do 3º dia e elevar-se novamente cerca de 5 a 8 dias após seu aparecimento (em forma de “sela”). Dores musculares e dor nos ossos (febre “quebra-ossos”) são características. Pode-se verificar o aparecimento de exantema no 3º ou 4º dia, que pode durar 1 a 5 dias. Com frequência, ocorre aumento dos linfonodos. A febre clássica da dengue é uma doença autolimitada. A convalescença pode levar várias semanas, porém as complicações e a morte são raras. Especialmente em crianças de pouca idade, a dengue pode ser uma doença febril leve de curta duração.

Pode ocorrer uma síndrome mais grave — **febre hemorrágica da dengue/síndrome do choque da dengue** — em indivíduos (geralmente crianças) com anticorpos heterólogos preexistentes não neutralizantes devidos a uma infecção prévia com um vírus de sorotipo diferente. Apesar de os sintomas iniciais simularem a dengue normal, o estado do paciente agrava-se. A característica-chave da patologia da febre hemorrágica da dengue é a vascularidade capilar aumentada com fuga do plasma para os espaços intersticiais e nível de citocinas vasoativas aumentados, o que pode levar alguns pacientes ao choque. Os monócitos são as principais células alvo do tecido sanguíneo, infectados pelo vírus da dengue. Evidências circunstanciais sugerem que a infecção secundária pela dengue do tipo 2 seguida de uma infecção do tipo 1 é um fator de risco especial para doença grave.

A patogênese da síndrome grave envolve anticorpos preexistentes contra a dengue. Acredita-se que os complexos de vírus-anticorpos sejam formados poucos dias após a segunda infecção da dengue, e que os anticorpos não neutralizantes promovam a infecção de maiores números de células mononucleares, seguida de liberação de citocinas, mediadores vasoativos e procoagulantes, resultando na coagulação intravascular disseminada observada na síndrome de febre hemorrágica. Reações cruzadas da resposta imunológica celular ao vírus da dengue também podem estar envolvidas.

Diagnóstico laboratorial

Dispõe-se de métodos baseados na reação em cadeia da polimerase com transcriptase reversa (RT-PCR) para rápida identificação e sorotipagem do vírus da dengue em soros de fase aguda, abruptamente durante o período de febre. O isolamento do vírus é difícil. A abordagem corrente mais favorável é a inoculação de uma linhagem celular do mosquito com o soro do paciente, acoplado a ensaios de ácidos nucleicos para se identificar um vírus isolado.

O diagnóstico sorológico é complicado por reações cruzadas dos anticorpos IgG com antígenos heterólogos de outros flaví-virus. Vários métodos estão disponíveis; os mais utilizados atualmente são captura específica de IgM envelope/membrana (E/M) para a proteína viral, Elisa para IgG e o teste de inibição da hemaglutinação. Os anticorpos IgM desenvolvem-se em poucos dias da doença. Anticorpos neutralizantes e inibidores da hemaglutinação surgem em uma semana após o início da febre da dengue. A análise pareada de soro da fase aguda e da convalescença para mostrar uma elevação significativa nos títulos de anticorpos é a evidência mais confiável de uma infecção ativa de dengue.

Imunidade

Existem quatro sorotipos do vírus, que podem ser distinguidos por ensaios moleculares e por testes de neutralização. A infecção confere proteção duradoura contra o sorotipo causador da doença, mas a proteção cruzada contra outros sorotipos é de curta duração. A reinfeção por um vírus de sorotipo diferente após o primeiro episódio pode estar mais apta a causar doença grave (febre hemorrágica da dengue).

Epidemiologia

O vírus da dengue está distribuído mundialmente em regiões tropicais (Fig. 38.2). As regiões tropicais e subtropicais ao redor do mundo em que existem vetores do *Aedes* são áreas endêmicas. Nos últimos 20 anos, a dengue epidêmica emergiu como um problema no continente americano. Em 1995, mais de 200.000 casos de dengue e mais de 5.500 casos de dengue hemorrágica ocorreram nas Américas Central e do Sul. Os padrões variáveis da doença provavelmente estão relacionados com o crescimento da população urbana, a superpopulação e a ineficiência nos esforços de controle do mosquito.

Em 2008, a dengue foi a mais importante doença causada por arbovírus em seres humanos. Estima-se que ocorram 50 milhões ou mais casos de dengue anualmente no mundo inteiro, com 400.000 casos de febre hemorrágica da dengue, que é a principal causa de mortalidade infantil em diversos países asiáticos.

O risco de síndrome da febre hemorrágica é de cerca de 0,2 % durante a primeira infecção por dengue, mas é de pelo menos 10 vezes maior durante uma infecção por um segundo sorotipo de vírus da dengue. A taxa de fatalidade para febre hemorrágica da dengue pode alcançar 15%, mas pode ser reduzida a menos de 1% com o tratamento correto.

A razão entre infecções visíveis e invisíveis varia, mas pode ser de 15:1 para infecções primárias; a razão é mais baixa para infecções secundárias.

Nas comunidades urbanas, as epidemias de dengue são explosivas e envolvem parcelas apreciáveis da população. Iniciam-se geralmente durante a estação chuvosa, quando o mosquito vetor *A. aegypti* é abundante (Fig. 38.7). O mosquito acasala-se em climas tropicais ou subtropicais em recipientes de água ou em plantas próximo a habitações humanas.

O *A. aegypti* é o mosquito vetor primário da febre da dengue no Hemisfério Ocidental. A fêmea contrai o vírus ao picar um indivíduo virêmico. Depois de um período de 8 a 14 dias, os mosquitos tornam-se infectantes e provavelmente permanecem assim durante toda a vida (1 a 3 meses). Nos trópicos, a reprodução do mosquito durante todo o ano mantém a doença.

A Segunda Guerra Mundial foi responsável pela propagação da dengue do Sudeste Asiático para a região do Pacífico. Durante anos, somente o vírus da dengue tipo 2 esteve presente nas Américas. Então, em 1977 o vírus da dengue tipo 1 foi isolado pela primeira vez no Hemisfério Ocidental. Em 1981, o vírus da dengue tipo 4 foi identificado pela primeira vez no Hemisfério Ocidental, seguido, em 1994, pelo da dengue do tipo 3. Na atualidade, o vírus está disseminado por toda a América Central e pela América do Sul e a febre hemorrágica da dengue é endêmica em muitos países.

A dengue endêmica no Caribe e no México constitui uma ameaça constante para os EUA, em que os mosquitos *A. aegypti* prevalecem durante os meses de verão. Concomitantemente à

atividade epidêmica aumentada da dengue nos trópicos, constatou-se um aumento no número de casos importados para os EUA. Em 2010, a dengue foi a principal causa de doença febril em viajantes retornando do Caribe, América Latina e Ásia. O primeiro caso de febre hemorrágica da dengue adquirido nos EUA ocorreu no sul do Texas, em 2005. Já no período entre 2009 e 2010, 28 casos locais de dengue foram reportados em Key West, Flórida.

Em 1985, foi descoberto no Texas o *Aedes albopictus*, um mosquito de origem asiática que em 1989 propagou-se por todo o Sudeste dos EUA, em que prevalece o *A. aegypti*, o principal vetor do vírus da dengue. Em contraste com o *A. aegypti*, que não pode hibernar nos Estados americanos do Norte, o *A. albopictus* pode hibernar, aumentando o risco de dengue epidêmico nos EUA.

Tratamento e controle

Não existe farmacoterapia antiviral. A febre hemorrágica da dengue pode ser tratada por terapia de reposição de líquidos. Não há vacina, mas estão em desenvolvimento vacinas candidatas. O desenvolvimento de uma vacina é difícil, pois esta deve fornecer proteção contra todos os quatro sorotipos do vírus. Anticorpos terapêuticos capazes de neutralizar múltiplos sorotipos virais também estão em fase de desenvolvimento.

O controle depende de medidas de extermínio dos mosquitos, como, por exemplo, eliminação dos locais de reprodução e uso de inseticidas. A utilização de telas nas janelas e portas pode reduzir a exposição aos mosquitos.

ENCEFALITE POR BUNIAVÍRUS

A família Bunyviridae contém mais de 300 vírus, transmitidos principalmente por artrópodes. Consistem em partículas esféricas que medem 80 a 120 nm, e contêm genoma RNA de fita simples, sentido negativo ou ambissenso, de três segmentos e 11 a 19 kb de tamanho. O envelope tem duas glicoproteínas. Diversos membros causam encefalites transmitidas por mosquito para seres humanos e animais; outros causam febres hemorrágicas. A transmissão transovariana ocorre em alguns mosquitos. Alguns são transmitidos pelo mosquito-pólvora. A síndrome pulmonar por hantavírus é causada por um vírus transmitido por roedores. Os bunivírus são sensíveis a inativação por calor, detergentes, formaldeído e pH baixo; alguns causam hemaglutinação (Fig. 38.1).

O complexo de vírus da encefalite da Califórnia compreende 14 vírus relacionados antigenicamente no gênero *Orthobunyavirus*. Estes incluem o vírus La Crosse, um patógeno humano significativo nos EUA (Quadro 38.2). O vírus La Crosse é uma importante causa de encefalite e meningite asséptica em crianças, particularmente no alto Meio-Oeste dos EUA. A maioria dos casos ocorre entre julho e setembro em crianças de até 16 anos de idade. Cerca de 70 casos de encefalite La Crosse são relatados por ano.

Esses vírus são transmitidos por vários mosquitos de florestas, principalmente *Aedes triseriatus*. Os principais hospedeiros vertebrados são pequenos mamíferos, como esquilos, marmotas e coelhos. A infecção no homem é tangencial. Pode ocorrer hibernação dos ovos do mosquito vetor. O vírus é

transmitido por via transovariana e os mosquitos adultos que se desenvolvem dos ovos infectados podem transmitir o vírus pela picada.

O início da encefalite viral da Califórnia é abrupto, tipicamente com uma cefaleia grave, febre e, em alguns casos, vômitos e convulsões. Cerca de 50% dos pacientes desenvolvem acessos e a taxa de casos fatais é de cerca de 1%. Com menor frequência, ocorre apenas meningite asséptica. A doença dura 10 a 14 dias, embora a convalescença possa prolongar-se. São raras as sequelas neurológicas. Existem muitas infecções para cada caso de encefalite. A confirmação sorológica por teste de inibição da hemaglutinação, Elisa ou testes de neutralização é feita em amostras de pacientes em fase aguda e convalescentes.

FEBRE DO MOSQUITO-PÓLVORA

A febre do mosquito-pólvora é uma doença leve transmitida por insetos, comum em países da bacia do mar Mediterrâneo, bem como na Rússia, no Irã, no Paquistão, na Índia, no Panamá, no Brasil e em Trinidad. A febre do mosquito-pólvora (também denominada febre por *Phlebotomus*) é causada por um bunivírus do gênero *Phlebovirus* (Quadro 38.1).

A doença é transmitida pela fêmea do mosquito-pólvora, *Phlebotomus papatasi*, que mede apenas alguns milímetros. Nos trópicos, o mosquito-pólvora prevalece durante o ano todo; nos climas mais frios, só ocorre durante as estações quentes. Ocorre transmissão transovariana.

Nas áreas endêmicas, a infecção é comum na infância. Quando adultos não imunizados (p. ex., tropas militares) chegam a essas regiões, podem ocorrer grandes surtos entre os recém-chegados, e em certas ocasiões a doença é confundida com a malária.

Nos seres humanos, a picada do flebótomo resulta em pequenas pápulas pruriginosas na pele, que persistem por até 5 dias. A doença começa de modo abrupto depois de um período de incubação de 3 a 6 dias. O vírus é encontrado no sangue próximo à época de aparecimento dos sintomas. As manifestações clínicas consistem em cefaleia, mal-estar, náuseas, febre, fotofobia, rigidez de nuca e das costas, dor abdominal e leucopenia. Todos os pacientes se recuperam. Não existe tratamento específico.

Os flebótomos são mais comuns logo acima do solo. Em virtude de seu pequeno tamanho, podem passar pelas telas comuns e por mosquiteiros. O inseto alimenta-se principalmente à noite. A prevenção da doença em áreas endêmicas depende do uso de repelentes durante a noite e de inseticidas residuais em volta das habitações.

FEBRE DO VALE DO RIFT

O agente dessa doença, um bunivírus do gênero *Phlebovirus*, é um vírus zoonótico transmitido por mosquito, primariamente patogênico para animais domésticos. Os seres humanos são infectados secundariamente durante o curso de surtos epizooticos em animais domésticos. A infecção entre funcionários de laboratório é comum.

As epizoonoses ocorrem periodicamente após chuvas intensas que tornam possível o contato entre o vetor primário e o reservatório (mosquitos da espécie *Aedes*). A viremia em

animais leva a infecção a outros vetores com transmissão colateral para o homem. A transmissão para humanos ocorre principalmente por contato com o sangue e fluidos corporais do animal infectado e picadas do mosquito.

Nos seres humanos, a doença em geral consiste em febre leve de curta duração; a recuperação é quase sempre completa. As complicações incluem retinite, encefalite e febre hemorrágica. Pode haver perda permanente da visão (1 a 10% dos casos com retinite). Cerca de 1% dos pacientes infectados morre.

A febre do Vale do Rift ocorre na maior parte dos países da África Subsaariana. Em 1977, propagou-se para o Egito, onde provocou enormes perdas de ovinos e bovinos, com registro de milhares de casos humanos e 600 mortes. Ocorreram grandes surtos na África oriental em 1987 e no Leste da África em 1997. Os primeiros casos documentados da febre do Vale do Rift fora da África ocorreram em 2000 no Iêmen e na Arábia Saudita.

FEBRE DO CARRAPATO DO COLORADO

Poucos arbovírus são membros da família Reoviridae (ver Cap. 37). A febre do carrapato do Colorado é classificada no gênero *Coltivirus*. A doença africana dos cavalos e o vírus da língua azul estão no gênero *Orbivirus*. Os rotavírus e ortorreovírus não têm vetores artrópodes.

A febre do carrapato do Colorado, também denominada febre das montanhas ou febre pelo carrapato, é uma doença febril leve, sem exantema, transmitida por um carrapato (Quadro 38.1). O vírus parece ser antigenicamente distinto de outros vírus conhecidos, e apenas um tipo antigênico é reconhecido.

A febre do carrapato do Colorado é uma doença febril branda, sem exantemas. O período de incubação é de 4 a 6 dias. A doença apresenta início súbito, com sensação de febre e mialgia. Os sintomas consistem em cefaleia, dores musculares e nas articulações, letargia, náuseas e vômitos. Em geral, a temperatura exibe uma curva difásica. Depois do primeiro episódio de 2 dias, o paciente pode sentir-se bem; entretanto, os sintomas reaparecem e persistem por mais 3 a 4 dias. A doença nos seres humanos é autolimitada (Quadro 38.2).

O vírus pode ser isolado do sangue total por inoculação de culturas de células. A viremia pode persistir por 4 semanas ou mais. Os testes de RT-PCR podem detectar o RNA viral em eritrócitos e no plasma. Na segunda semana de doença, aparecem anticorpos neutralizantes específicos, que podem ser detectados por testes de redução em placa. Outros testes sorológicos incluem o Elisa e testes com anticorpos fluorescentes. Acredita-se que uma única infecção seja capaz de produzir imunidade permanente.

Existem centenas de casos relatados de febre do carrapato do Colorado anualmente, mas acredita-se que estes representem apenas uma fração do total de casos. A febre do carrapato do Colorado limita-se a áreas em que se distribui o carrapato da madeira, *Dermacentor andersoni*, principalmente nas regiões mais altas do Oeste dos EUA e Sudoeste do Canadá. Os pacientes relatam ter permanecido em uma área infestada por carrapatos antes do aparecimento dos sintomas. Os casos ocorrem principalmente em adultos do sexo masculino, que constitui o grupo de maior exposição aos carrapatos. O *D. andersoni* coletado na natureza pode transportar o vírus. Esse carrapato é um verdadeiro reservatório e o vírus é transmitido por via

transovariana pela fêmea adulta. Ocorre infecção natural em roedores, que funcionam como hospedeiros para os estágios imaturos do carrapato.

Não existe tratamento específico. Pode-se prevenir a doença ao evitarem-se áreas infestadas por carrapatos e utilizando-se roupas protetoras ou repelentes químicos.

FEBRES HEMORRÁGICAS TRANSMITIDAS POR ROEDORES

As febres hemorrágicas zoonóticas transmitidas por roedores incluem as febres da Ásia (vírus Hantaan e Seoul), da América do Sul (vírus Junin e Machupo) e da África (vírus de Lassa). Os hantavírus também causam a síndrome pulmonar por hantavírus nas Américas (p. ex., vírus Sin Nombre). Embora os reservatórios naturais dos vírus Marburg e Ebola (febre hemorrágica africana) sejam desconhecidos, suspeita-se de que sejam mantidos por roedores ou morcegos. Os agentes causais são classificados como bunivírus, arenavírus e filovírus (Quadro 38.1).

DOENÇAS CAUSADAS POR BUNIAVÍRUS

Os hantavírus são classificados no gênero *Hantavirus* da família Bunyaviridae. Esses vírus são encontrados no mundo inteiro e provocam duas doenças humanas graves e frequentemente fatais: a febre hemorrágica com síndrome renal (FHSR) (*hemorrhagic fever with renal syndrome*) e a síndrome pulmonar por hantavírus (SPH) (*hantavirus pulmonary syndrome*). Estima-se que, no mundo inteiro, ocorram anualmente 100.000 a 200.000 casos de infecção por hantavírus. Existem vários hantavírus distintos, cada qual associado a um hospedeiro roedor específico. As infecções nos roedores são permanentes e não causam efeitos deletérios. A transmissão entre roedores parece ocorrer de forma horizontal, e a transmissão para seres humanos se dá por inalação de aerossóis de excrementos de roedores (urina, fezes, saliva). A presença de doenças associadas a hantavírus é determinada pela distribuição geográfica dos reservatórios de roedores.

Febre hemorrágica com síndrome renal

A FHSR é uma infecção viral aguda que provoca nefrite intersticial, podendo resultar em insuficiência renal aguda e falência renal nas formas graves da doença. Os vírus Hantaan e Dobrava causam doença grave que ocorre na Ásia, particularmente na China, Rússia e Coreia, e na Europa, principalmente nos Balcãs. Podem ocorrer hemorragia generalizada e choque, com taxa de mortalidade de 5 a 15%. Uma forma moderada de FHSR causada pelo vírus Seoul ocorre na Eurásia. Em uma forma clínica mais leve, chamada nefropatia epidêmica, que é causada pelo vírus Puumala e prevalece na Escandinávia, a nefrite geralmente sofre resolução sem qualquer complicação hemorrágica, e os casos fatais são raros (< 1%).

Foram relatados mais de 2.000 casos de FHSR em tropas da Organização das Nações Unidas durante a Guerra da Coreia; todavia, o hantavírus só foi isolado em 1976 na Coreia, de um roedor, *Apodemus agrarius*.

Sabe-se que os ratos urbanos são persistentemente infectados por hantavírus, e foi sugerido que os ratos em navios de frotas comerciais podem ter disseminado o hantavírus pelo mundo. Estudos sorológicos indicaram que os ratos marrons noruegueses nos EUA também são infectados com o vírus de Seoul. Constatou-se que os ratos de laboratório infectados constituem uma fonte de surtos do vírus Hantaan em institutos científicos na Europa e na Ásia, porém essas infecções não foram detectadas em ratos de laboratório criados nos EUA. Ocorreram infecções por hantavírus em indivíduos cujas ocupações exigem contato com ratos (p. ex., estivadores).

A FHSR é tratada por terapia de suporte. A prevenção depende do controle dos roedores e proteção contra exposição a material contaminado por esses animais.

Síndrome pulmonar por hantavírus

Em 1993, um surto de doença respiratória grave ocorreu nos EUA, atualmente denominada síndrome pulmonar por hantavírus (SPH). Esse surto foi causado por um novo hantavírus (vírus Sin Nombre). Esse agente foi o primeiro hantavírus reconhecido como causador de doença na América do Norte e o primeiro a induzir primariamente uma síndrome de angústia respiratória do adulto. Desde então, foram detectados inúmeros hantavírus em roedores nas Américas do Norte, Central e do Sul (Quadro 38.2) (Fig. 38.8).

O camundongo-veado (*Peromyscus maniculatus*) é o principal roedor reservatório do vírus Sin Nombre. Esse camundongo está disseminado e cerca de 10% dos animais testados mostraram evidências de infecção pelo vírus Sin Nombre. Outros hantavírus conhecidos causadores da SPH nos EUA incluem o vírus de Nova York, vírus do canal Black Creek e vírus Bayou, cada qual com diferentes hospedeiros roedores. A SPH é mais comum na América do Sul do que nos EUA. O vírus dos Andes é um hantavírus encontrado na Argentina e no Chile. O vírus Choclo foi identificado no Panamá.

As infecções por hantavírus não são comuns e as infecções subclínicas parecem incomuns, particularmente pelo vírus Sin Nombre. A SPH geralmente é grave, com taxas de mortalidade relatadas de 30% ou mais. Esta taxa de casos-fatalidade é substancialmente mais alta do que as outras infecções causadas por hantavírus. A doença inicia-se com febre, cefaleia e mialgia, seguidas rapidamente de edema pulmonar progressivo, levando com frequência o comprometimento respiratório grave. Não apresenta sinais de hemorragia. Os antígenos de hantavírus são detectados em células endoteliais e macrófagos nos pulmões, no coração, no baço e nos linfonodos. A patogênese da SPH envolve imparidade funcional do endotélio vascular. A transmissão de hantavírus entre pessoas raramente ocorre, embora tenha sido observada durante surtos de SPH causados pelo vírus dos Andes.

O diagnóstico laboratorial depende da detecção do ácido nucleico viral por RT-PCR, detecção de antígenos virais em



FIGURA 38.8 Distribuição geográfica dos hantavírus no Novo Mundo em relação aos seus vetores roedores (em *itálico*). Os Hantavírus reconhecidos como patogênicos (em *vermelho*). (Reproduzida, com autorização, de MacNeil A, Nichol ST, Spiropoulou CF: Hantavírus pulmonary syndrome. *Virus Res* 2011;162:138- Copyright Elsevier.)

tecidos fixados por imuno-histoquímica, ou detecção de anticorpos específicos pelo emprego de proteínas recombinantes. Um teste Elisa para detecção de anticorpos IgM pode ser usado para o diagnóstico de infecções agudas. Um aumento de 4 vezes nos títulos de anticorpos IgG entre o soro da fase aguda e o da fase de convalescença é diagnóstico. Os anticorpos IgG são de longa duração. O isolamento de hantavírus é difícil e requer o uso de equipamentos de contenção.

O tratamento atual para a SPH consiste em manutenção de oxigenação adequada e suporte hemodinâmico. A ribavirina traz algum benefício como tratamento da SPH. Medidas preventivas estão baseadas no controle de roedores e em evitar o contato com os mesmos e com fluidos e secreções desses animais. Deve-se tomar cuidado com a inalação de excrementos secos em aerossol quando se faz a limpeza de estruturas infestadas por roedores.

DOENÇAS CAUSADAS POR ARENAVÍRUS

Os arenavírus caracterizam-se por partículas pleomórficas que contêm um genoma de RNA segmentado, circundado por um envelope com grandes peplômeros claviformes, medindo 50 a 300 nm de diâmetro (média de 110 a 130 nm) (Fig. 38.1). O genoma dos arenavírus consiste em duas moléculas de RNA de filamento simples, com organização genética de duplo sentido incomum.

Com base nos dados da sequência genômica, os arenavírus estão divididos em vírus do Velho Mundo (p. ex., vírus de Lassa) e vírus do Novo Mundo. A última divisão está subdividida em três grupos, com o Grupo A incluindo o vírus Pichinde e o Grupo B contendo vírus patogênicos humanos, como o vírus de Machupo. Alguns isolados, tais como o vírus Whitewater Arroyo, parecem recombinantes entre as linhagens A e B do Novo Mundo.

Os arenavírus causam infecções crônicas em roedores. Cada vírus em geral está associado a uma única espécie de roedor. A distribuição geográfica de um dado arenavírus é determinada em parte pela faixa de seu roedor hospedeiro. O homem é infectado quando entra em contato com os excrementos desses roedores. Alguns vírus causam febre hemorrágica grave. Diversos arenavírus são conhecidos por infectar fetos e podem causar morte fetal em humanos.

Vários arenavírus causam doença humana, inclusive os vírus de Lassa, Junin, Machupo, Guanarito, Sabiá, Whitewater Arroyo e o vírus da coriomeningite linfocítica (CML) (Quadro 38.1). Como esses arenavírus são infecciosos através de aerossóis, é preciso ter muita cautela no processamento de amostras de roedores e seres humanos. São necessárias condições de alta segurança no laboratório. A transmissão de arenavírus no hospedeiro natural (roedor) pode ocorrer pelas rotas horizontal e vertical. Leite, saliva e urina podem estar envolvidos na transmissão. Acredita-se que os vetores artrópodes não estejam envolvidos.

Um ciclo de replicação generalizada é mostrado na Figura 38.9. Os ribossomos hospedeiros são encapsulados durante a morfogênese das partículas virais. Os arenavírus não causam efeito citopático quando se replicam em cultura de células.

Febre de Lassa

Os primeiros casos reconhecidos de febre de Lassa ocorreram em 1969 entre americanos acampados na aldeia nigeriana de

Lassa. O vírus de Lassa é altamente virulento: a taxa de mortalidade é de cerca de 15% para pacientes hospitalizados com febre de Lassa. No total, cerca de 1% das infecções por vírus de Lassa é fatal. Na África Ocidental, estima-se que os casos anuais podem alcançar centenas a milhares de infecções e 5.000 mortes. O vírus de Lassa é ativo em todos os países da África Ocidental situados entre o Senegal e a República do Congo. Os casos esporádicos identificados fora da área endêmica geralmente são importados, frequentemente de pessoas que retornam da África Ocidental.

O período de incubação para a febre de Lassa é de 1 a 3 semanas, a partir do momento da exposição. A doença pode afetar muitos sistemas orgânicos, embora os sintomas possam variar em cada paciente. O início é gradual, com febre, vômitos, dor no peito e nas costas. A doença caracteriza-se por febre muito alta, úlceras na boca, dores musculares intensas, exantema cutâneo com hemorragias, pneumonia e lesões cardíacas e renais. A surdez é uma complicação comum, afetando cerca de 25% dos casos durante a recuperação; a perda auditiva é, com frequência, permanente.

As infecções pelo vírus de Lassa causam morte fetal em mais de 75% das mulheres grávidas. Durante o terceiro trimestre, a mortalidade materna aumenta (30%) e a mortalidade fetal é muito elevada (> 90%). Ocorrem também casos febris benignos.

O diagnóstico em geral envolve a detecção de anticorpos IgG e IgM por Elisa. A imuno-histoquímica pode ser usada para detecção de antígenos virais em necropsias. As sequências virais podem ser detectadas por meio de testes de RT-PCR em laboratórios de pesquisa.

Um rato doméstico (*Mastomys natalensis*) constitui o principal reservatório roedor do vírus de Lassa. As medidas de controle dos roedores constituem uma maneira de minimizar a propagação do vírus, mas isto frequentemente é impraticável em áreas endêmicas. Entretanto, o vírus pode ser transmitido por contato entre seres humanos. Quando o vírus se propaga dentro de um hospital, o contato humano constitui o modo de transmissão. Os métodos de enfermagem de barreira e as precauções universais para evitar qualquer contato com sangue e líquidos orgânicos contaminados pelo vírus podem evitar a transmissão para os profissionais de saúde.

O antiviral ribavirina constitui o fármaco de escolha para a febre de Lassa, sendo mais eficaz quando administrado no início do processo patológico. Não existe vacina, embora uma vacina recombinante que expressa o gene da glicoproteína do vírus de Lassa seja capaz de induzir imunidade protetora em cobaias e em macacos.

Febres hemorrágicas da América do Sul

Com base em estudos sorológicos e filogenéticos de RNA viral, todos os arenavírus da América do Sul são considerados membros do complexo Tacaribe. A maioria apresenta reservatórios roedores da subfamília *Cricetinae*. Os vírus tendem a prevalecer em determinada região e são limitados em sua distribuição. Foram descobertos inúmeros vírus, e os patógenos humanos graves incluem os vírus Junin, Machupo, Guanarito e Sabiá, estreitamente relacionados. Sangramento é mais comum na Argentina (Junin) e em outras febres hemorrágicas da América do Sul do que na febre de Lassa.

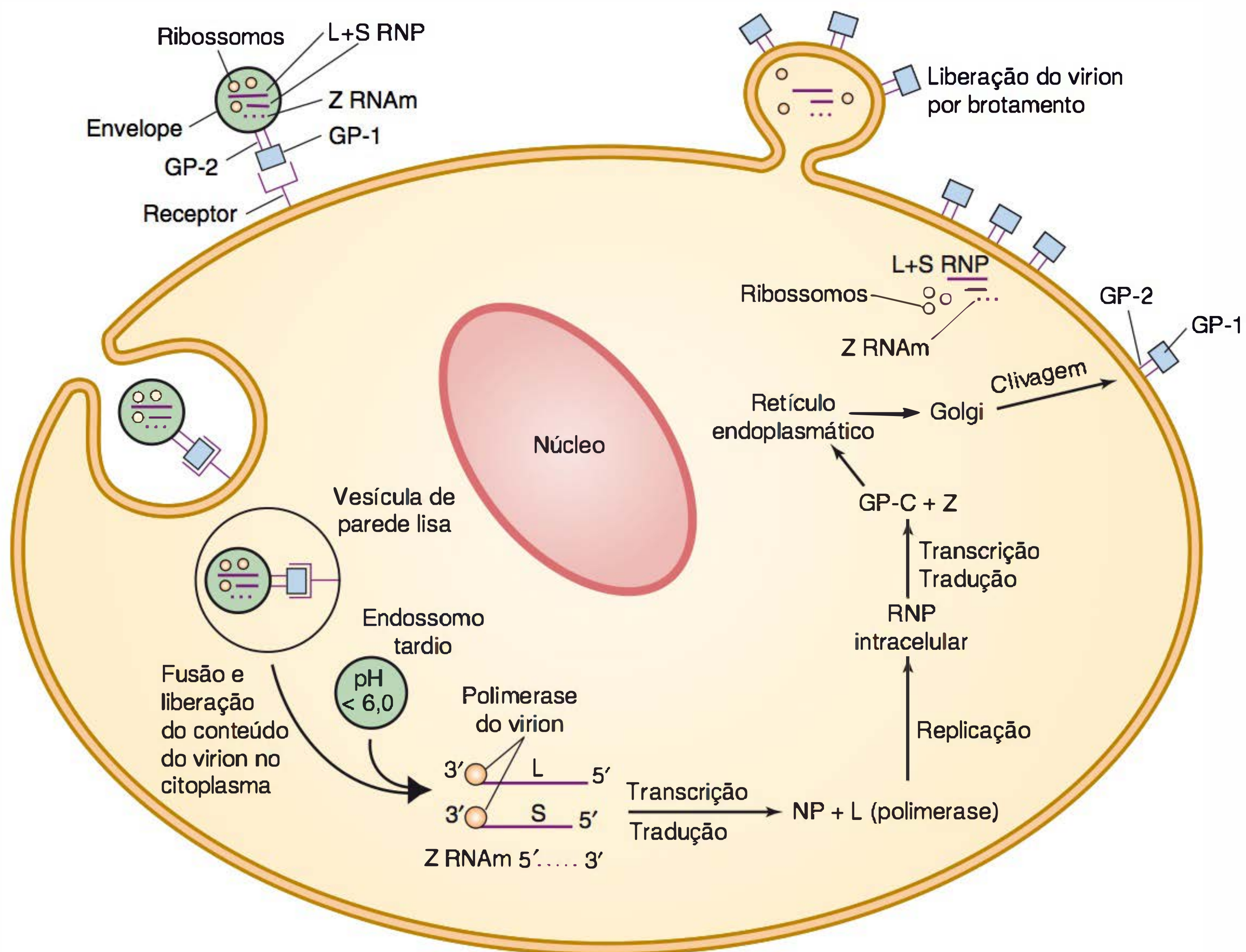


FIGURA 38.9 Ciclo de vida dos arenavírus. (Cortesia de PJ Southern.)

A **febre hemorrágica de Junin** (febre hemorrágica argentina) representa um importante problema de saúde pública em determinadas regiões agrícolas da Argentina. Foram notificados mais de 18.000 casos entre os anos 1958 e 1980, com taxa de mortalidade de 10 a 15% nos pacientes não tratados. Muitos casos continuam ocorrendo a cada ano. A doença exibe uma acentuada variação sazonal, e a infecção ocorre quase exclusivamente entre pessoas que trabalham em plantações de milho e de trigo, que são expostas ao roedor reservatório *Calomys musculinus*.

O vírus Junin provoca imunodepressão tanto humoral quanto celular. As mortes causadas pela febre hemorrágica de Junin podem estar relacionadas com uma incapacidade do hospedeiro de iniciar uma resposta imunológica celular. A administração de plasma humano da fase convalescente a pacientes durante a primeira semana da doença reduziu a taxa de mortalidade de 15 a 30% para 1%. Alguns desses pacientes desenvolvem uma síndrome neurológica autolimitada depois de 3 a 6 semanas. Uma vacina atenuada eficaz é usada para vacinar indivíduos de alto risco na América do Sul.

O primeiro surto de **febre hemorrágica de Machupo** (febre hemorrágica boliviana) foi identificado na Bolívia em 1962. Estima-se que 2.000 a 3.000 pessoas tenham sido acometidas pela doença, com taxa de mortalidade de 20%. Na Bolívia, foi implementado um programa de controle eficaz contra roedores, dirigido contra o *Calomys callosus*, o hospedeiro do vírus Machupo, o que reduziu acentuadamente o número de casos de febre hemorrágica pelo vírus Machupo.

O **vírus Guanarito** (o agente da **febre hemorrágica venezuelana**) foi identificado em 1990, e a doença apresenta uma taxa de mortalidade de cerca de 33%. Seu aparecimento foi associado ao desflorestamento para construção de pequenas fazendas. O **vírus Sabiá** foi isolado em 1990 de um caso fatal de febre hemorrágica no Brasil. Tanto o vírus Guanarito quanto o vírus Sabiá causam uma doença clínica que se assemelha à febre hemorrágica argentina e que provavelmente apresenta uma taxa de mortalidade semelhante.

Coriomeningite linfocítica

O vírus da **coriomeningite linfocítica** (CML) foi descoberto em 1933 e encontra-se disseminado na Europa e nas Américas. Seu vetor natural é o camundongo doméstico selvagem, *Mus musculus*. É endêmico em camundongos, mas pode também infectar outros roedores. Cerca de 5% dos camundongos nos EUA são portadores do vírus. Pode infectar cronicamente colônias de camundongos ou *hamsters*.

O vírus da CML é ocasionalmente transmitido aos seres humanos, presumivelmente via excrementos de camundongos. Não existem evidências de transmissão horizontal entre pessoas. A CML nos seres humanos é uma doença aguda, que se manifesta por meningite asséptica ou doença sistêmica leve semelhante à *influenza*. Raramente se verifica a ocorrência de encefalomyelite grave ou doença sistêmica fatal em pessoas saudáveis (a mortalidade é de menos de 1%). Muitas infecções

são subclínicas. O período de incubação é de 1 a 2 semanas e a doença dura 1 a 3 semanas.

As infecções pelo vírus da CML podem ser sérias em pessoas com o sistema imunológico em desequilíbrio. Em 2005, quatro receptores de transplante de órgãos sólidos nos EUA infectaram-se a partir de um doador comum de órgãos. Três dos quatro pacientes que receberam transplante morreram 23 a 27 dias após o transplante. Foi determinado que a fonte do vírus era um *hamster* doméstico adquirido pouco tempo antes pelo doador. O vírus da CML também pode ser transmitido verticalmente da mãe para o feto e a infecção do feto no início da gravidez pode levar a defeitos sérios, tais como hidrocefalia, cegueira e morte fetal.

As infecções em geral são diagnosticadas de modo retrospectivo por sorologia, por meio de Elisa para anticorpos IgM e IgG. Outros testes diagnósticos incluem a imuno-histoquímica na coloração de tecidos para antígenos virais, RT-PCR para a detecção de ácidos nucleicos virais e cultura de células Vero. Estudos sorológicos em áreas urbanas têm mostrado que as taxas de infecções em humanos variam de 2 a 5%.

Estudos experimentais mostraram que, nos camundongos infectados por CML, a resposta imunológica pode ser protetora ou deletéria. É necessária a presença de células T para controlar a infecção, embora essas células também possam induzir doença imunologicamente mediada. O resultado depende da idade, do estado imunológico e da constituição genética do camundongo e da via de inoculação do vírus. Camundongos adultos infectados podem desenvolver uma doença rapidamente fatal devido à resposta inflamatória mediada por células T no cérebro. Os camundongos com infecção congênita ou neonatal não apresentam doença aguda, mas desenvolvem infecção persistente durante toda a vida. São incapazes de eliminar a infecção, visto que foram infectados antes da maturação do sistema imunológico celular. Esses camundongos podem apresentar uma acentuada resposta humoral, que pode levar ao aparecimento de complexos circulantes de antígeno-anticorpos virais e doença por imunocomplexos.

DOENÇAS CAUSADAS POR FILOVÍRUS

Classificação e propriedades dos filovírus

Os filovírus são partículas pleomórficas que aparecem como longos filamentos ou formas bizarras de 80 nm de diâmetro (Fig. 38.1). O tamanho das partículas é de 665 nm (Marburg) a 805 nm (Ebola). Os dois filovírus conhecidos (vírus Marburg e Ebola) são antigenicamente distintos e classificados em gêneros distintos (Quadro 38.1). Os quatro subtipos de vírus Ebola (Zaire, Sudão, Reston, Costa do Marfim) diferem entre si em até 40% quanto a nucleotídeos, mas têm alguns epítomos em comum. Os subtipos parecem ser estáveis ao longo do tempo.

O grande genoma dos filovírus consiste em RNA de fita simples, não segmentado e de sentido negativo, com 19 kb de tamanho, contendo sete genes (Fig. 38.10). Uma estratégia de codificação inusitada observada no vírus Ebola consiste na codificação da glicoproteína (GP) do envelope em duas estruturas de leitura, exigindo edição da transcrição ou expressão de deslocamento de tradução. A glicoproteína forma espículas na superfície viral em forma de trímeros de 10 nm de comprimento.

Os virions são liberados por brotamento a partir da membrana plasmática.

Os filovírus são altamente virulentos e exigem medidas máximas de segurança (nível de biossegurança 4) para trabalho em laboratório. A infecciosidade dos filovírus é destruída por aquecimento durante 30 minutos a 60°C, irradiação ultravioleta ou gama, solventes lipídicos e alvejantes e desinfetantes fenólicos. Hospedeiros naturais e vetores, se existem, são desconhecidos, porém dados sugerem que morcegos ou roedores possam albergar esses agentes virais.

Febres hemorrágicas africanas (Vírus Marburg e Ebola)

Os vírus Marburg e Ebola são altamente virulentos em seres humanos e primatas não humanos, e as infecções geralmente resultam em morte. O período de incubação é de 3 a 9 dias para a doença de Marburg e 2 a 21 dias para o Ebola. Provocam doenças agudas semelhantes, caracterizadas por febre, cefaleia, faringite e dor muscular, seguidas de dor abdominal, vômitos, diarreia e exantema, com sangramento tanto interno quanto externo, resultando frequentemente em choque e morte. Os filovírus possuem um tropismo pelas células macrofágicas, células dendríticas, fibroblastos intersticiais e células endoteliais. Verifica-se a presença de títulos muito elevados do vírus em muitos tecidos, inclusive fígado, baço, pulmões, rins e sangue, bem como outros líquidos. Esses vírus apresentam as maiores taxas de mortalidade (25 a 90%) de todas as febres hemorrágicas virais.

A doença causada pelo vírus Marburg foi reconhecida em 1967 entre funcionários de laboratório expostos a tecidos de macacos verdes africanos (*Cercopithecus aethiops*) importados pela Alemanha e Iugoslávia. Ocorreu transmissão da doença dos pacientes para a equipe médica, com elevada taxa de mortalidade. Os levantamentos de anticorpos indicaram a presença do vírus na África Oriental, provocando infecção em macacos e seres humanos. Os casos registrados da doença são raros, mas foram documentados surtos no Quênia, na África do Sul, República Democrática do Congo e, em 2005, em Angola. O vírus Marburg pode infectar cobaias, camundongos, *hamsters*, macacos e vários sistemas de culturas de células.

O vírus Ebola foi descoberto em 1976, quando ocorreram duas epidemias graves de febre hemorrágica no Sudão e no Zaire (hoje República Democrática do Congo). Os surtos envolveram mais de 500 casos e pelo menos 400 mortes causadas por febre hemorrágica clínica. Em cada surto, a equipe hospitalar foi infectada em consequência do contato próximo e prolongado com pacientes, com sangue ou excrementos deles. Esses subtipos do vírus Ebola (Zaire, Sudão) são altamente virulentos. O tempo médio até a morte a partir do início dos sintomas é de 7 a 8 dias.

Surtos subseqüentes de febre hemorrágica por Ebola ocorreram em Uganda (2000), República do Congo (1995, 2001, 2002, 2003), Gabão (1994, 1996, 1997, 2002), África do Sul (1996) e Sudão (2004). As epidemias são frequentemente contidas pela instituição de métodos de enfermagem de barreira e treinamento da equipe hospitalar.

Desde que o vírus Ebola foi descoberto, aproximadamente 1.850 casos foram identificados em 2004, com mais de 1.200 mortes. O surto de 2003 foi primeiramente reconhecido a partir de um grande número de gorilas e chimpanzés mortos.

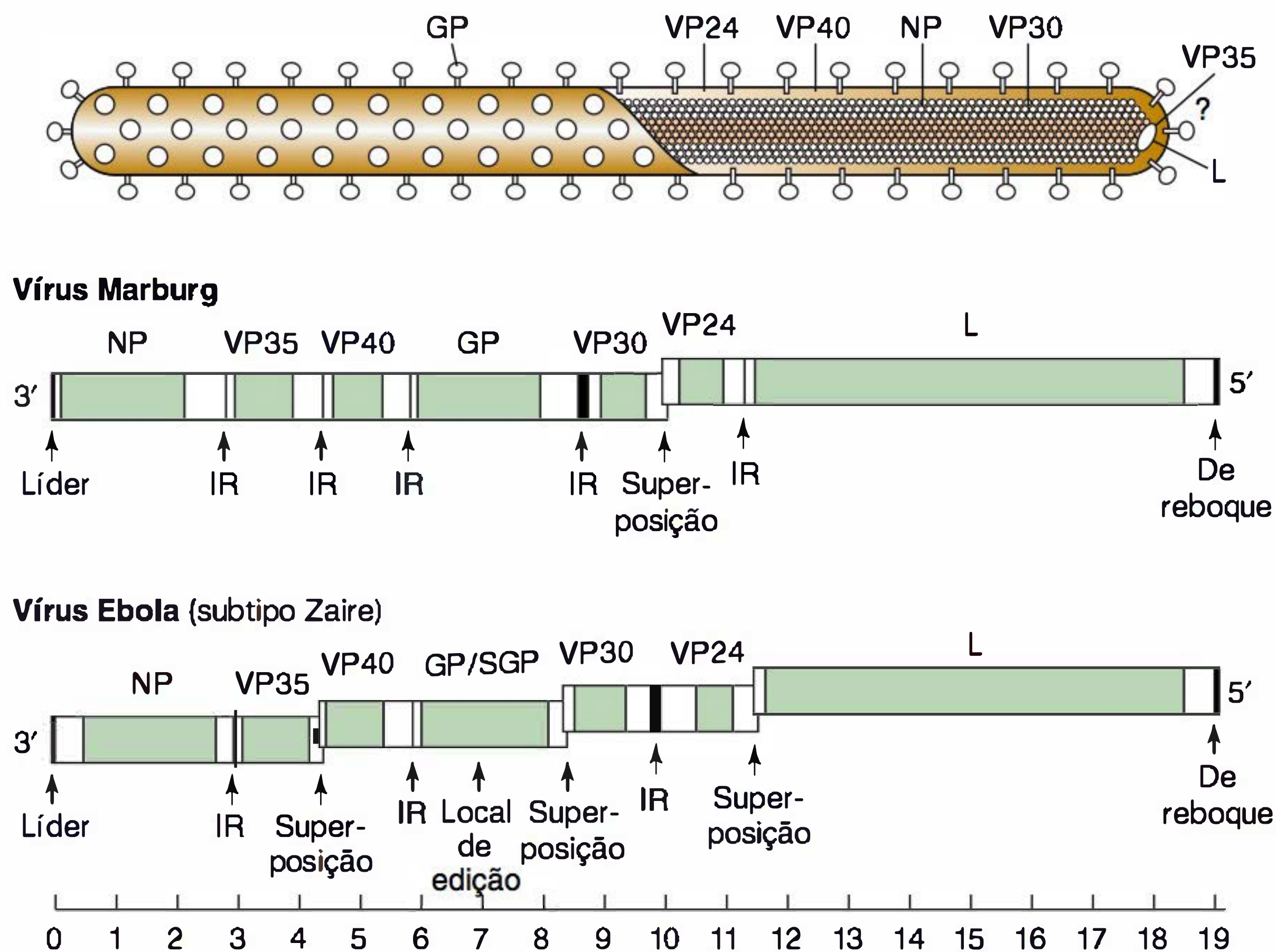


FIGURA 38.10 Estrutura do virion e organização do genoma dos filovírus. A figura mostra a organização do genoma do vírus Marburg e do subtipo Zaire do vírus Ebola. O diagrama do virion mostra o RNA de fita simples e sentido negativo circundado pelo nucleocapsídeo e envolvido em uma dupla membrana lipídica. As proteínas estruturais associadas ao nucleocapsídeo incluem a nucleoproteína (NP), VP30, VP35 e a polimerase (L). As proteínas associadas à membrana consistem na proteína da matriz (VP40), VP24 e GP (glicoproteína do peplômero). Os genes que codificam as proteínas estruturais são identificados e representados de acordo com a escala nas estruturas do genoma. As áreas sombreadas indicam as regiões de codificação, enquanto as áreas em branco indicam as sequências não codificadoras. Os genes começam com um local de início da transcrição conservado e terminam com um local de interrupção da transcrição (poliadenilação); os genes adjacentes são separados uns dos outros por uma região intergênica (IR) ou estão superpostos uns aos outros. O local em que o A adicional é acrescentado ao gene GP durante a edição da transcrição está indicado no diagrama do vírus Ebola. O produto gênico primário do gene GP do vírus Ebola é a SGP, uma glicoproteína não estrutural secretada. Nas extremidades 3' e 5' dos genomas estão, respectivamente, as sequências líder e de reboque complementares. (Reproduzida, com autorização, de Peters CJ, Sanchez A, Rollin PE, et al.: Filoviridae: Marburg and Ebola viruses. In Fields BN, Knipe DM, Howley PM [editors-in-chief]. *Fields Virology*, 3rd ed. Lippincott-Raven, 1996.)

Em 1989, foram detectadas infecções causadas por um filovírus estreitamente relacionado com o vírus Ebola em macacos cingolgos (*Macaca fascicularis*) exportados das Filipinas para os EUA e mantidos em quarentena na Virgínia. A infecção propagou-se em apenas algumas das 149 pessoas que tiveram contato com os macacos infectados ou com tecidos deles, mas nenhuma apresentou qualquer doença, o que indica que o vírus (linhagem Reston) apresenta baixa patogenicidade para humanos.

A alta mortalidade em suínos nas Filipinas em 2008 levou à descoberta do vírus Ebola Reston em outros animais além dos primatas. Cinco pessoas que tiveram contato com suínos doentes desenvolveram anticorpos contra o vírus Ebola Reston, mas permaneceram saudáveis, confirmando que esta linhagem viral pode infectar humanos sem causar doença.

Um vírus semelhante ao Ebola foi descrito em 2011 em morcegos insetívoros na Europa (Espanha).

As infecções causadas por filovírus parecem ser imunossupressoras. Os casos fatais revelam comprometimento da resposta imunológica humoral. Entretanto, aparecem anticorpos dirigidos contra os filovírus quando os pacientes se recuperam. Esses anticorpos são detectáveis por Elisa. Os antígenos virais no soro podem ser detectados por Elisa, proporcionando um rápido teste de rastreamento de amostras humanas. Os testes de RT-PCR também podem ser utilizados para amostras

clínicas. A realização de testes para filovírus é perigosa, visto que o soro do paciente e outras amostras clínicas podem conter vírus virulento. Esses testes só podem ser conduzidos em condições de biossegurança máxima. Os vírus recém-isolados podem ser cultivados em linhagens celulares, como linhagens de células de macaco Vero e MA-104.

É provável que os vírus Marburg e Ebola tenham um hospedeiro reservatório, talvez um roedor ou morcego, e sejam transmitidos acidentalmente ao homem. Os macacos não são considerados hospedeiros-reservatórios, visto que a maior parte dos animais infectados morre muito rapidamente para sustentar a sobrevivência do vírus. As infecções humanas são altamente contagiosas para contatos humanos, geralmente por contato direto com o sangue ou fluidos corporais. Tipicamente, os surtos de infecções pelo vírus Ebola estão associados à introdução do vírus na comunidade por uma pessoa infectada, seguida da disseminação de um indivíduo para os outros, frequentemente nos serviços de saúde.

Como os reservatórios naturais dos vírus Marburg e Ebola permanecem desconhecidos, nenhuma atividade de controle pode ser organizada. O uso de sistemas de isolamento nos hospitais continua sendo a medida mais eficaz de controle dos surtos da doença provocada pelo vírus Ebola. Técnicas estritas de barreira hospitalar devem ser implementadas. É preciso ter

extremo cuidado com sangue, secreções, tecidos e excrementos infectados. As pessoas envolvidas no transporte e nos cuidados de primatas não humanos devem ser instruídas sobre os riscos potenciais da manipulação desses animais.

Não existe terapia antiviral específica disponível. O tratamento é dirigido para manutenção da função renal e reposição do balanço eletrolítico, combate à hemorragia e ao choque. Não existem vacinas disponíveis, mas alguns protótipos vacinais estão em desenvolvimento.

RESUMO DO CAPÍTULO

- Os arbovírus e os vírus transmitidos por roedores apresentam um complexo ciclo de transmissão, que envolvem artrópodes ou roedores. Esses vírus são classificados em várias famílias virais (Arenaviridae, Bunyaviridae, Flaviviridae, Reoviridae e Togaviridae).
- As doenças causadas pelos arbovírus se dividem em três categorias gerais: doenças febris (em geral benignas), encefalites e febres hemorrágicas. As últimas categorias podem ser fatais.
- As principais doenças que apresentam mosquitos como vetores são: a febre amarela, dengue, encefalite japonesa B, febre do Nilo Ocidental e a encefalite equina do leste.
- Todos os alfavírus e os flavivírus, alocados na família Togaviridae, são geneticamente relacionados.
- Infecções inaparentes são comuns e raramente ocorrem invasão neurológica.
- O ser humano é um hospedeiro acidental dos arbovírus e não é importante no ciclo de vida viral.
- O vírus do Nilo Ocidental é a principal causa de encefalite por arbovírus, nos EUA.
- A vacina atenuada contra o vírus da febre amarela foi desenvolvida em 1930 e ainda é considerada segura e imunoprotetora.
- A dengue está distribuída mundialmente nas regiões tropicais e provavelmente é a mais importante doença humana, tendo mosquitos como vetores.
- A dengue é uma doença autolimitada, porém a dengue hemorrágica e a síndrome do choque da dengue são potencialmente fatais.
- A dengue hemorrágica ocorre como infecção secundária pela presença de anticorpos preexistentes, a partir de uma infecção primária por um sorotipo viral direfente.
- A encefalite japonesa B em geral resulta em sequelas sérias, enquanto a febre amarela não resulta em sequelas.
- As infecções virais mais importantes que apresentam roedores como vetores são as infecções por hantavírus, a febre Lassa e as febres hemorrágicas da América do Sul. Os prováveis hospedeiros para os vírus da febre hemorrágica africana, do Marburg e do Ebola são morcegos e roedores.
- As febres hemorrágicas por roedores são causadas pelos bunivírus (hantavírus) e pelos arenavírus (febre Lassa).
- O vírus Lassa está distribuído na África Ocidental. Cerca de 1% das infecções causadas por esse agente viral é fatal, e as infecções intrauterinas são em geral fatais.
- Os vírus Marburg e Ebola (classificados como filovírus) são encontrados na África Oriental e são extremamente virulentos e fatais.
- A prevenção da maioria das infecções pelos harbovírus envolve, também, a proteção contra a exposição a mosquitos e carrapatos vetores, tais como controle do vetor, uso de roupas protetoras e uso de repelentes, além de evitar regiões endêmicas.

QUESTÕES DE REVISÃO

1. Um homem de 74 anos de idade desenvolveu febre, mal-estar e dor de garganta, sintomas logo seguidos de náuseas, vômitos e, depois, estupor. Foi diagnosticada encefalite equina ocidental. O controle desta doença em humanos pode ser alcançado pela erradicação de qual das seguintes alternativas?
 - (A) Cavalos
 - (B) Aves
 - (C) Mosquito-pólvora
 - (D) Mosquitos
 - (E) Carrapatos
2. Um arbovírus comum no Oriente Médio, na África e no Sudeste Asiático apareceu pela primeira vez em Nova York em 1999. Em 2002 esse vírus disseminou-se pelos EUA. Esse arbovírus, um membro do complexo antigênico da encefalite japonesa B, é o:
 - (A) Vírus de encefalite japonesa B
 - (B) Vírus da encefalite do carrapato
 - (C) Vírus do Nilo Ocidental
 - (D) Vírus da dengue
 - (E) Vírus da febre do Vale do Rift
3. Qual das seguintes descrições ou afirmativas sobre a febre de Lassa está correta?
 - (A) É encontrada na África Ocidental
 - (B) Não ocorre transmissão entre pessoas
 - (C) Raramente causa mortes ou complicações
 - (D) Ocorre por contato com o rato *Mastomys natalensis*
 - (E) Não existe fármaco eficaz para o tratamento da febre de Lassa
4. Os arbovírus são transmitidos por artrópodes que se alimentam de sangue, de um hospedeiro vertebrado para outro. Os arbovírus são encontrados nas seguintes famílias virais, exceto:
 - (A) Togaviridae
 - (B) Flaviviridae
 - (C) Bunyaviridae
 - (D) Reoviridae
 - (E) Arenaviridae
5. Um homem de 27 anos de idade desenvolveu febre, tremores, cefaleia e dor nas costas. Quatro dias depois, apresentou febre alta e icterícia. Foi diagnosticada febre amarela. Qual das seguintes afirmativas a respeito da febre amarela está correta?
 - (A) O vírus é transmitido por mosquitos culicídeos (*Culex*) na forma urbana da doença
 - (B) Os macacos na floresta são o principal reservatório do vírus da febre amarela
 - (C) A febre amarela com frequência deixa complicações permanentes
 - (D) Todas as infecções levam a doença aparente
 - (E) A ribavirina é a terapia específica
6. Com relação ao caso da Questão 5, a febre amarela ocorre em qual(is) região(ões) do mundo?
 - (A) Ásia
 - (B) África e América do Sul

- (C) América do Norte
(D) África e Oriente Médio
(E) Em todo o mundo
7. As febres hemorrágicas africanas Marburg e Ebola são doenças graves que com frequência levam à morte. Qual das seguintes afirmativas é a mais correta a respeito do vírus Ebola?
- (A) Dissemina-se por contato do sangue ou de outros fluidos do corpo
(B) É transmitido por mosquitos
(C) É um flavivírus
(D) Causa infecções, mas não causa doença em primatas não humanos
(E) É antígenicamente relacionado com o vírus da febre de Lassa
8. Qual dos seguintes grupos pode ser rotineiramente vacinado contra febre amarela sem considerações especiais de segurança?
- (A) Crianças de menos de 9 meses de vida
(B) Mulheres grávidas
(C) Pessoas com o sistema imunológico comprometido
(D) Todas as opções anteriores
(E) Nenhuma das opções anteriores
9. Os hantavírus, que são considerados patógenos emergentes nos EUA, podem ser descritos por qual destas alternativas?
- (A) São arenavírus
(B) São facilmente transmitidos entre pessoas
(C) Causam sintomas semelhantes aos do resfriado, seguidos rapidamente de falência respiratória aguda
(D) São adquiridos por inalação de aerossóis da urina de veados
(E) Mostram alta frequência de variação antigênica
10. Um microbiologista estava realizando uma necropsia em uma cabine de biossegurança biológica em um gaio-azul, encaminhado como parte de um programa público de vigilância de arbovírus. Enquanto manipulava o bisturi para remover o cérebro da ave, ele lacerou o dedo polegar. Quatro dias depois, apresentou cefaleia, mialgia e mal-estar, seguidos de tremores, suor e inchamento dos linfonodos. Dois dias depois, surgiu vermelhidão na face, que se espalhou pelo tronco, braços e pernas, persistindo por 3 dias. Ele procurou cuidado médico e relatou história de dengue e vacinações contra febre amarela e encefalite japonesa B. Foi obtida uma amostra de soro do dia da lesão, que continha anticorpos IgG antinflavivírus por Elisa. Uma amostra de soro coletada 13 dias após o início da doença mostrou títulos elevados de anticorpos IgG antinflavivírus e presença de anticorpos IgM contra o vírus do Nilo Ocidental. O clínico poderia concluir que a causa mais provável da doença do microbiologista foi por qual vírus?
- (A) Vírus da dengue
(B) Vírus da febre amarela
(C) Vírus do Nilo Ocidental
(D) Encefalite de St. Louis
(E) Não identificável até que os títulos de anticorpos neutralizantes de soros pareados possam ser avaliados para um painel de arbovírus
11. Qual das seguintes afirmativas sobre o vírus da dengue não é verdadeira?
- (A) É a mais importante doença viral transmitida por mosquitos que afeta o homem
(B) Tem distribuição mundial em regiões tropicais
(C) Pode causar febre hemorrágica grave
(D) Existe um único tipo antigênico
(E) Uma forma da doença é caracterizada por aumento da permeabilidade vascular
12. Qual das seguintes doenças, que ocorre nos EUA, carece de um vetor conhecido?
- (A) Síndrome pulmonar por hantavírus
(B) Febre do Nilo Ocidental
(C) Encefalite de La Crosse
(D) Febre do carrapato do Colorado
(E) Encefalite de St. Louis
13. Todas as afirmações sobre os arbovírus são verdadeiras, *exceto*:
- (A) A patogênese da dengue hemorrágica está relacionada com uma resposta imune heterotípica
(B) Aves selvagens são os reservatórios para os vírus das encefalites, mas não para o vírus da febre amarela
(C) Os carrapatos são os principais vetores, tanto para os vírus da encefalite quanto para o vírus da febre amarela
(D) Há uma vacina atenuada e uma vacina inativada que previnem de maneira eficiente a febre amarela
14. Qual das seguintes afirmações sobre a febre amarela é falsa?
- (A) Não há reservatório animal
(B) O nome “amarela” é devido à icterícia apresentada pelos indivíduos infectados
(C) Mosquitos são os hospedeiros biológicos naturais
(D) Surtos ocorrem nos EUA, uma vez que o vetor está presente
(E) Uma vacina atenuada é amplamente usada na prevenção da doença
15. Qual das seguintes afirmações sobre os hantavírus nos EUA é correta?
- (A) São limitados aos Estados do sudoeste americano
(B) São transmitidos apenas pelo camundongo-veado
(C) Infecções humanas podem ser fatais em cerca de 30%
(D) Foram inicialmente identificados no início da década de 1970
(E) É contraída principalmente em cavernas de morcegos

Respostas

- | | | | |
|------|------|-------|-------|
| 1. D | 5. B | 9. C | 13. C |
| 2. C | 6. B | 10. C | 14. A |
| 3. D | 7. A | 11. D | 15. C |
| 4. E | 8. E | 12. A | |

REFERÊNCIAS

- Brinton MA: The molecular biology of West Nile Virus: A new invader of the western hemisphere. *Annu Rev Microbiol* 2002;56:371.
- Calisher CH, Childs JE, Field HE, Holmes KV, Schountz T: Bats: Important reservoir hosts of emerging viruses. *Clin Microbiol Rev* 2006;19:531.
- Feldmann H, Geisbert T, Kawaoka Y (guest editors): Filoviruses: Recent advances and future challenges. *J Infect Dis* 2007;196 (Suppl 2). [Entire issue.]
- Griffin DE: Alphaviruses. In Knipe DM, Howley PM (editors-in-chief). *Fields Virology*, 5th ed. Lippincott Williams & Wilkins, 2007.
- Gubler DJ, Kuno G, Markoff L: Flaviviruses. In Knipe DM, Howley PM (editors-in-chief). *Fields Virology*, 5th ed. Lippincott Williams & Wilkins, 2007.

- Japanese encephalitis vaccines: WHO position paper. *World Health Org Wkly Epidemiol Rec* 2006;81:331.
- MacNeil A, Nichol ST, Spiropoulou CF: Hantavirus pulmonary syndrome. *Virus Res* 2011;162:138.
- Recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP): Japanese encephalitis vaccines. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2010;59(RR-1).
- Recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP). Yellow fever vaccine. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2010;59(RR-7).
- Rift Valley fever fact sheet. *World Health Org Wkly Epidemiol Rec* 2008;83:17.
- Rothman AL: Immunity to dengue virus: A tale of original antigenic sin and tropical cytokine storms. *Nat Rev Immunol* 2011;11:532.
- Shu PY, Huang JH: Current advances in dengue diagnosis. *Clin Diagnostic Lab Immunol* 2004;11:642.
- Süss J: Epidemiology and ecology of TBE relevant to the production of effective vaccines. *Vaccine* 2003;21(Suppl 1):S19.
- Vaccines against tick-borne encephalitis: WHO position paper. *World Health Org Wkly Epidemiol Rec* 2011;86:241.
- Walter CT, Barr JN: Recent advances in the molecular and cellular biology of bunyaviruses. *J Gen Virol* 2011;92:2467.
- Yellow fever vaccine: WHO position paper. *World Health Org Wkly Epidemiol Rec* 2003;78:349

Ortomixovírus (vírus *influenza*)

As doenças respiratórias são responsáveis por mais de metade das doenças agudas que ocorrem anualmente nos EUA. Os vírus **Orthomyxoviridae** (vírus *influenza*) constituem um importante determinante de morbidade e mortalidade causadas por doenças respiratórias, e algumas vezes ocorrem surtos de infecção em forma de epidemia mundial. A *influenza* já foi responsável por milhões de mortes no mundo inteiro. A mutabilidade e a elevada frequência do rearranjo genético, bem como as consequentes alterações antigênicas nas glicoproteínas da superfície viral, tornam os vírus *influenza* um verdadeiro desafio em termos de controle. Do ponto de vista antigênico, o vírus *influenza* tipo A é altamente variável, sendo responsável pela maioria dos casos de *influenza* epidêmica. O vírus *influenza* tipo B pode exibir alterações antigênicas, e por vezes provoca epidemias. O vírus *influenza* tipo C é antigenicamente estável e só provoca doença leve em indivíduos imunocompetentes.

PROPRIEDADES DOS ORTOMIXOVÍRUS

São conhecidos três tipos imunológicos de vírus *influenza*, designados pelas letras A, B e C. Verifica-se a contínua ocorrência de alterações antigênicas no grupo A dos vírus *influenza* e, em menor grau, no grupo B, enquanto o tipo C parece ser antigenicamente estável. São também conhecidas cepas do *influenza* A em aves aquáticas, frangos, patos, porcos, cavalos e focas. Do ponto de vista antigênico, algumas das cepas isoladas em animais assemelham-se a cepas encontradas na população humana.

As descrições a seguir baseiam-se no vírus *influenza* tipo A, o melhor caracterizado (Quadro 39.1).

Estrutura e composição

Em geral, as partículas do vírus *influenza* são esféricas, com cerca de 80 a 120 nm de diâmetro, embora os virions possam exibir grande variação de tamanho (Fig. 39.1).

Os genomas do RNA de fita simples, de sentido negativo, dos vírus *influenzas* A e B ocorrem em forma de oito segmentos distintos. Os vírus *influenza* C contêm sete segmentos de RNA, carecendo de um gene da neuraminidase. Os tamanhos e arranjos de codificação de proteínas são conhecidos para todos os segmentos (Quadro 39.2). A maioria dos segmentos codifica uma única proteína. A sequência completa dos

QUADRO 39.1 Propriedades importantes dos ortomixovírus^a

Virion: esférico, pleomórfico, com 80 a 120 nm de diâmetro (nucleocapsídeo helicoidal com 9 nm)
Composição: RNA (1%), proteínas (73%), lipídeos (20%) e carboidratos (6%)
Genoma: RNA de fita simples, segmentado (8 moléculas), de sentido negativo, com tamanho total de 13,6 kb
Proteínas: nove proteínas estruturais, uma não estrutural
Envelope: contém as proteínas hemaglutinina viral (HA) e neuraminidase (NA)
Replicação: transcrição nuclear; a região 5' do RNA celular funciona como molde (<i>primer</i>); maturação das partículas por brotamento da membrana plasmática
Características marcantes: rearranjo genético comum entre os membros do mesmo gênero O vírus <i>influenza</i> causa epidemias globais

^a Descrição para o vírus *influenza* tipo A, gênero *Influenzavirus A*.

nucleotídeos de muitos vírus *influenza* é conhecida. Os primeiros 12 ou 13 nucleotídeos em cada extremidade de cada segmento genômico são conservados entre os oito segmentos de RNA, sendo tais sequências importantes na transcrição viral.

As partículas virais do vírus *influenza* contêm nove proteínas estruturais diferentes. A nucleoproteína (NP) associa-se ao RNA viral para formar uma estrutura de ribonucleoproteína (RNP) de 9 nm de diâmetro que assume configuração helicoidal e forma o nucleocapsídeo viral. Três proteínas grandes (PB1, PB2 e PA) estão ligadas à RNP viral, sendo responsáveis pela transcrição e replicação do RNA. A proteína da matriz (M₁), que forma uma camada sob o envelope lipídico do vírus, é importante na morfogênese das partículas, constituindo um significativo componente do virion (cerca de 40% da proteína viral).

A partícula viral é circundada por um envelope lipídico derivado da célula. Duas glicoproteínas codificadas pelo vírus, a hemaglutinina (HA) e a neuraminidase (NA), são inseridas no envelope e expostas, em forma de espículas de cerca de 10 nm de comprimento, sobre a superfície da partícula. Essas duas glicoproteínas de superfície constituem os antígenos importantes

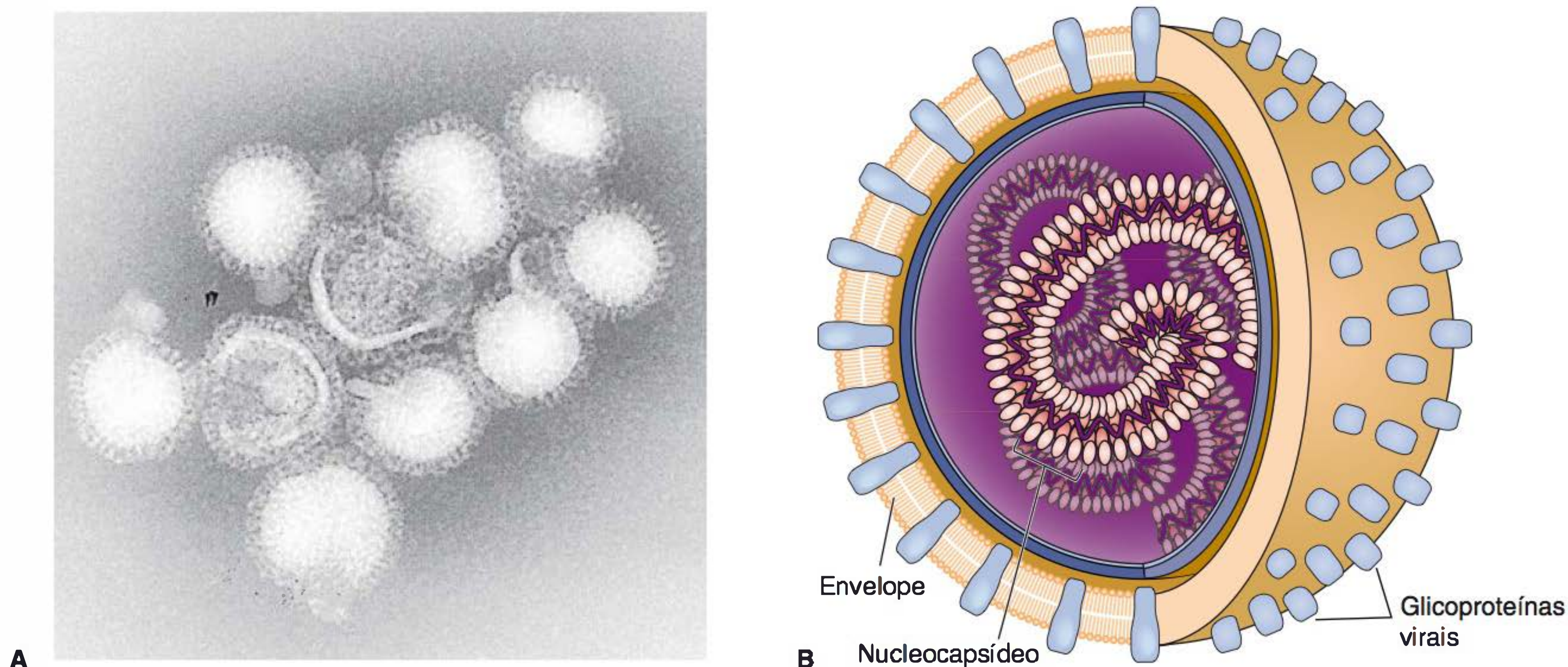


FIGURA 39.1 Vírus *influenza*. (A) Microscopia eletrônica do vírus *influenza* A/Hong Kong /1/68 (H3N2). Observar as formas pleomórficas e as projeções de glicoproteínas que revestem as superfícies das partículas (ampliada 315.000 vezes). (Cortesia de FA Murphy e EL Palmer.) (B) Visão esquemática do vírus *influenza*. As partículas virais possuem genomas segmentados, consistindo em 7 a 8 moléculas diferentes de RNA, cada uma revestida por proteínas de capsídeo, formando nucleocapsídeos helicoidais. As glicoproteínas virais (hemaglutinina e neuraminidase) fazem protruções como espículas através do envelope lipídico. (Reproduzida, com autorização, de Willey JM, Sherwood LM, Woolverton CJ: *Prescott, Harley and Klein's Microbiology*, 7th ed. McGraw Hill, 2008. © The McGraw-Hill Companies, Inc.)

que determinam a variação antigênica dos vírus *influenza* e a imunidade do hospedeiro. A HA representa cerca de 25% da proteína viral, e a NA, cerca de 5%. A proteína do canal iônico M_2 e a proteína NS_2 também são encontradas no envelope, porém existem apenas algumas cópias por partícula.

Devido à natureza segmentada do genoma, quando uma célula é coinfetada por dois vírus diferentes de determinado tipo, as misturas de segmentos dos genes parentais podem ser reunidas na progênie de virions. Esse fenômeno, denominado **reagrupamento genético**, pode resultar em alterações súbitas nos antígenos da superfície viral — uma propriedade que explica as características epidemiológicas da *influenza* e que constitui um problema significativo para o desenvolvimento de vacinas.

Os vírus *influenza* são relativamente resistentes *in vitro*, podendo ser conservados a 0 a 4°C durante várias semanas, sem perda da viabilidade. A infecciosidade é destruída por solventes lipídicos, desnaturantes proteicos, formaldeído e irradiação. Tanto a infecciosidade quanto a hemaglutinação são mais resistentes à inativação a pH alcalino do que a pH ácido.

Classificação e nomenclatura

O gênero *Influenzavirus A* contém cepas humanas e animais do *influenza* tipo A; o *influenzavirus B* contém cepas humanas do tipo B; o *Influenzavirus C* contém vírus *influenza* tipo C de seres humanos e suínos.

As diferenças antigênicas exibidas por duas das proteínas estruturais internas, o nucleocapsídeo (NP) e as proteínas da matriz (M), são utilizadas para classificação dos vírus *influenza* em tipos A, B e C. Essas proteínas não possuem reatividade cruzada entre os três tipos. As variações antigênicas nas glicopro-

teínas de superfície, HA e NA, são utilizadas para a subtipagem dos vírus. Somente o tipo A possui subtipos designados.

O sistema de nomenclatura padronizado para os vírus *influenza* isolados inclui as seguintes informações: tipo, hospedeiro de origem, origem geográfica, número da cepa e ano do isolamento. As descrições antigênicas da HA e da NA são fornecidas entre parênteses para o tipo A. O hospedeiro de origem não é indicado no caso dos vírus isolados em seres humanos, como, por exemplo, A/Hong Kong/03/68(H3N2), enquanto é indicado em outros casos, como, por exemplo, A/suíno/Iowa/15/30(H1N1).

Até hoje, foram isolados 15 subtipos de HA (H1 a H15) e 9 subtipos de NA (N1 a N9) em muitas combinações diferentes em aves, animais em geral ou seres humanos. Nos seres humanos, foram isolados quatro subtipos HA (H1 a H3 e H5) e dois subtipos NA (N1 e N2). A família Orthomyxoviridae também contém o gênero *Thogotovirus*, que até o momento não está associado a patologias humanas.

Estrutura e função da hemaglutinina

A proteína HA do vírus *influenza* liga as partículas virais a células suscetíveis e constitui o principal agente contra o qual são dirigidos os anticorpos neutralizantes (protetores). A variabilidade da HA é primariamente responsável pela contínua evolução de novas cepas e epidemias subsequentes de *influenza*. A hemaglutinina deve seu nome à sua capacidade de aglutinar eritrócitos em determinadas condições.

A sequência de aminoácidos da HA pode ser calculada a partir da sequência do gene da HA, e a estrutura tridimensional da proteína foi revelada por cristalografia dos raios X, tornando possível correlacionar as funções da molécula de HA com a sua estrutura.

QUADRO 39.2 Atribuições codificadas pelos segmentos de RNA do vírus *influenza*^a

Segmento do genoma		Polipeptídeo codificado			
Número ^b	Tamanho (número de nucleotídeos)	Designação	Peso molecular previsto ^c	Número aproximado de moléculas por virion	Função
1	2.341	PB2	85.700	30 a 60	Componentes de RNA transcriptase
2	2.341	PB1	86.500		
3	2.233	PA	84.200		
4	1.778	HA	61.500	500	Hemaglutinina; trímero; glicoproteína de envelope; intermediação da ligação do vírus com as células; ativado por clivagem; atividade de fusão a pH ácido
5	1.565	NP	56.100	1.000	Associado a RNA e proteínas da polimerase; estrutura helicoidal; nucleocapsídeo
6	1.413	NA	50.000	100	Neuraminidase; tetrâmero; glicoproteína de envelope; enzima
7	1.027	M ₁	27.800	3.000	Proteína de matriz; principal componente do virion; linhas no interior do envelope; envolvida na organização; interage com RNP e NS ₂
		M ₂	11.000	20 a 60	Membrana de proteína integral; canais de íons; essencial para o desnudamento viral; excisão de íntrons (splicing) do RNAm
8	890	NS ₁	26.800	0	Não estrutural; alta abundância; inibe o <i>splicing</i> do pré-RNAm; reduz a resposta ao interferon
		NS ₂	14.200	130 a 200	Componente menor dos virions; exportação nuclear dos RNP virais; proveniente do RNAm

^aOs segmentos de RNA estão numerados em ordem decrescente de tamanho.

^bA massa molecular das duas glicoproteínas HA e NA são aproximadamente 76.000 e 56.000, respectivamente, devido aos carboidratos adicionados.

HA, hemaglutinina; M, proteína de matriz; M₂, proteína de membrana integral; NA, neuraminidase; NS, nucleoproteína; NS₁ e NS₂ são proteínas não estruturais; PB1, PB2 e PA são proteínas de atividade polimerase; RNP, ribonucleoproteína.

Adaptado, com autorização, de Lamb RA, Krug RM: Orthomyxoviridae: The viruses and their replication. In Fields BN, Knipe DM, Howley PM (editors-in-chief). *Fields Virology*, 3rd ed. Lippincott-Raven, 1996.

A sequência primária da HA contém 566 aminoácidos (Fig. 39.2A). Uma sequência de sinal curta na extremidade aminoterminal insere o polipeptídeo no retículo endoplasmático; em seguida, o sinal é removido. A proteína HA é clivada em duas subunidades, HA1 e HA2, que permanecem estreitamente associadas por uma ponte dissulfeto. Uma extensão hidrofóbica próxima à extremidade carboxiterminal da HA2 fixa a molécula de HA à membrana, com uma pequena cauda hidrofílica que se estende no citoplasma. São adicionados resíduos de oligossacarídeos em vários locais.

A molécula de HA é dobrada em uma estrutura complexa (Fig. 39.2B). Cada dímero HA1 e HA2 ligado forma um pedículo alongado envolto por um grande glóbulo. A base do pedículo fixa a molécula na membrana. Cinco locais antigênicos na molécula de HA exibem mutações extensas. Esses locais ocorrem em regiões expostas sobre a superfície da estrutura; aparentemente, não são essenciais para a estabilidade da molécula e estão envolvidos na neutralização viral. Outras regiões da molécula de HA são conservadas em todos os vírus isolados, presumivelmente por serem necessárias para a molécula reter a sua estrutura e sua função.

A espícula de HA sobre a partícula viral é um trímero, constituído de três dímeros HA1 e HA2 entrelaçados (Fig. 39.2C). A trimerização confere à espícula maior estabilidade, do que a que poderia ser obtida por um monômero. O local de ligação do receptor celular (local de fixação do vírus) é uma bolsa localizada no ápice de cada glóbulo grande. A bolsa é inacessível ao anticorpo.

A clivagem que separa HA1 e HA2 é necessária para que a partícula viral seja infecciosa, sendo mediada por proteases celulares. Os vírus *influenza* normalmente permanecem confinados às vias respiratórias, visto que as enzimas proteases que clivam a HA são abundantes apenas nesses locais. Foram observados exemplos de vírus mais virulentos que se adaptaram para utilizar uma enzima mais onipresente, como a plasmina, para clivar a HA e promover infecção disseminada das células. A extremidade aminoterminal de HA2, gerada por clivagem, é necessária à fusão do envelope viral com a membrana celular — etapa essencial no processo da infecção viral. A presença de pH baixo deflagra uma alteração estrutural que ativa a atividade de fusão.

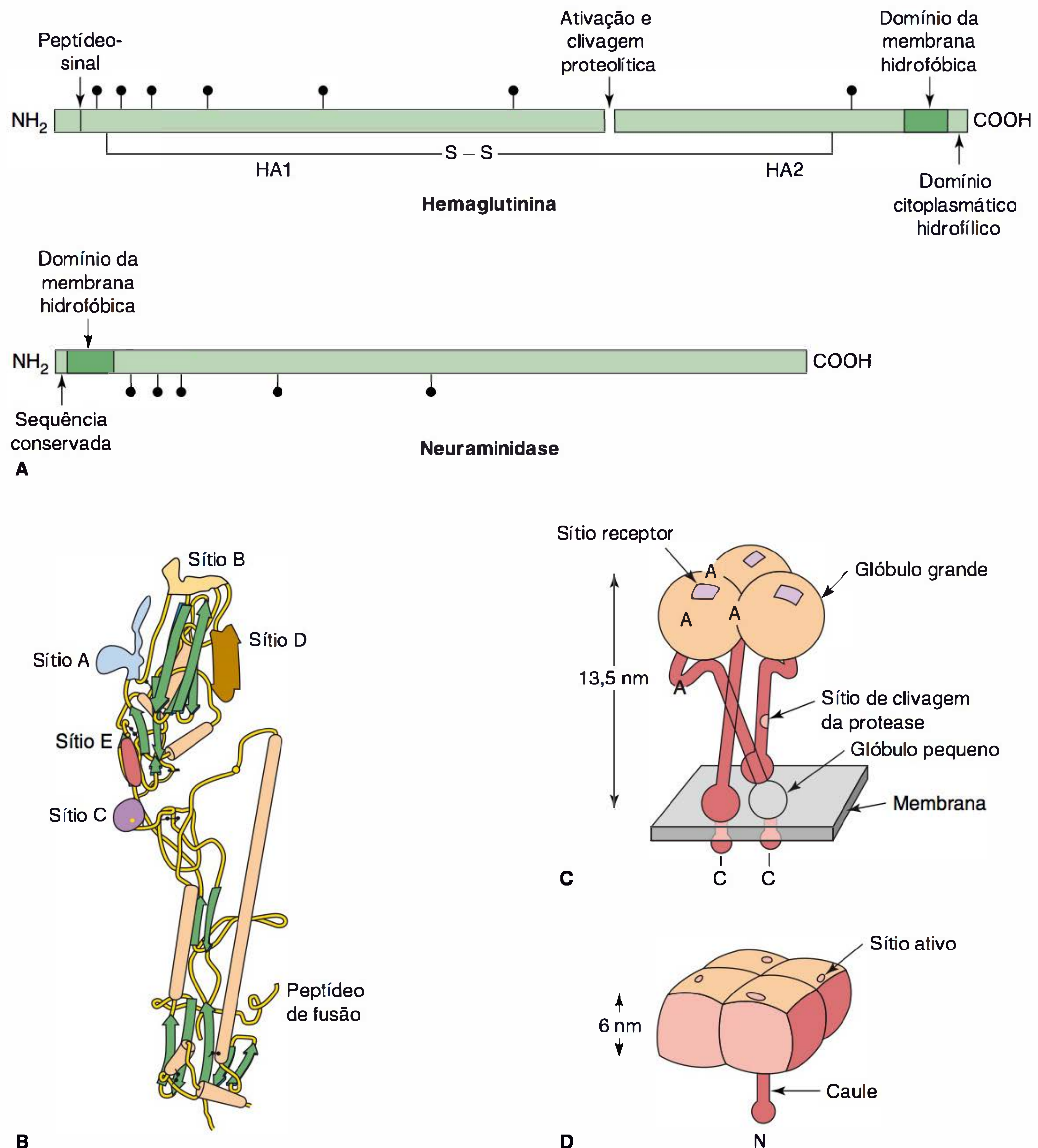


FIGURA 39.2 As glicoproteínas de superfície do vírus *influenza*: hemaglutinina e neuraminidase. **(A)** Estruturas primárias dos polipeptídeos de HA e NA. A clivagem da HA em HA1 e HA2 é necessária para que o vírus se torne infeccioso. A HA1 e a HA2 permanecem ligadas por uma ponte dissulfeto (S-S). Não ocorre clivagem pós-tradução na NA. Os locais de ligação dos carboidratos (●) estão indicados. Os aminoácidos hidrofóbicos, que fixam as proteínas à membrana viral, localizam-se próximos à extremidade carboxiterminal da HA e à extremidade aminoterminal da NA. **(B)** Dobramento dos polipeptídeos HA1 e HA2 em um monômero de HA. Cinco locais antigênicos principais (A a E) que sofrem alterações estão indicados como áreas sombreadas. A extremidade aminoterminal da HA2 proporciona a atividade de fusão (peptídeo de fusão). A partícula de fusão é mergulhada na molécula, até que seja exposta por uma alteração estrutural induzida pela presença de pH baixo. **(C)** Estrutura do trímero da HA, tal como ocorre na partícula viral ou na superfície de células infectadas. A figura mostra alguns dos locais envolvidos na variação antigênica (A). Os resíduos carboxiterminais (C) projetam-se através da membrana. **(D)** Estrutura do tetrâmero da NA. Cada molécula de NA exibe um local ativo em sua superfície superior. A região aminoterminal (N) dos polipeptídeos fixa o complexo na membrana. (Reproduzida, com autorização, de **[A, B]** Murphy BR, Webster RG: *Influenza viruses*, p. 1179, and **[C, D]** Kingsbury DW: *Orthomyxo- and paramyxoviruses and their replication*, p. 1157. In Fields BN [editor-in-chief]: *Virology*. Raven Press, 1985.)

Estrutura e função da neuraminidase

A antigenicidade da NA, a outra glicoproteína encontrada na superfície das partículas virais do *influenza*, também é importante na determinação do subtipo do vírus *influenza* isolado.

A espícula sobre a partícula viral é um tetrâmero, composto de quatro monômeros idênticos (Fig. 39.2D). Existe um pedículo delgado que termina por uma cabeça em forma de caixa. A NA possui um sítio catalítico no ápice de cada cabeça, de modo que cada espícula de NA contém quatro locais ativos.

A NA atua no final do ciclo de replicação viral. Trata-se de uma enzima sialidase que remove o ácido siálico dos glicocombinados. Facilita a liberação das partículas virais das superfícies das células infectadas durante o processo de brotamento e ajuda a evitar a autoagregação dos virions ao remover os resíduos do ácido siálico das glicoproteínas virais. É possível que a NA ajude o vírus a transpor a camada de mucina nas vias respiratórias para alcançar as células-alvo epiteliais.

Impulso antigênico e mudança antigênica

Os vírus *influenza* são notáveis pelas frequentes alterações antigênicas que ocorrem na HA e na NA. As variantes antigênicas dos vírus *influenza* têm uma vantagem seletiva sobre o vírus parenteral na presença de anticorpos dirigidos contra a cepa original, fenômeno responsável pelas características epidemiológicas peculiares da *influenza*. Outros agentes das vias respiratórias não exibem essa variação antigênica significativa.

Os dois antígenos de superfície do vírus *influenza* sofrem variação antigênica independentemente um do outro. As alterações antigênicas menores são denominadas **impulso antigênico** (*antigenic drift*), enquanto as alterações antigênicas maiores na HA ou na NA, denominadas **mudança antigênica** (*antigenic shift*), resultam no aparecimento de um novo subtipo (Fig. 39.3). A mudança antigênica tem maior probabilidade de resultar em uma epidemia.

O impulso antigênico é devido ao acúmulo de mutações puntiformes no gene, resultando em alterações dos aminoácidos na proteína. As alterações na sequência podem afetar os locais antigênicos na molécula, de modo que o virion consegue escapar ao reconhecimento pelo sistema imunológico do hospedeiro. O sistema imunológico não causa variação antigênica, mas outras funções, como a força de seleção que permite a expansão de novas variantes antigênicas. Uma variante deve sofrer duas ou mais mutações para que surja uma nova cepa epidemiologicamente significativa.

A mudança antigênica reflete alterações drásticas na sequência de uma proteína da superfície viral, alterações essas demasiado extremas para serem explicadas pela ocorrência de mutação. Os genomas segmentados dos vírus *influenza* sofrem rápido reagrupamento em células duplamente infectadas. O mecanismo para o deslocamento consiste no reagrupamento genético entre os vírus *influenza* humanos e os aviários. Os vírus *influenza* B e C não exibem mudança antigênica, visto que existem poucos vírus relacionados em animais.

Replicação do vírus *influenza*

O ciclo de replicação do vírus *influenza* encontra-se resumido na Figura 39.4. O vírus *influenza* é notável entre os vírus de

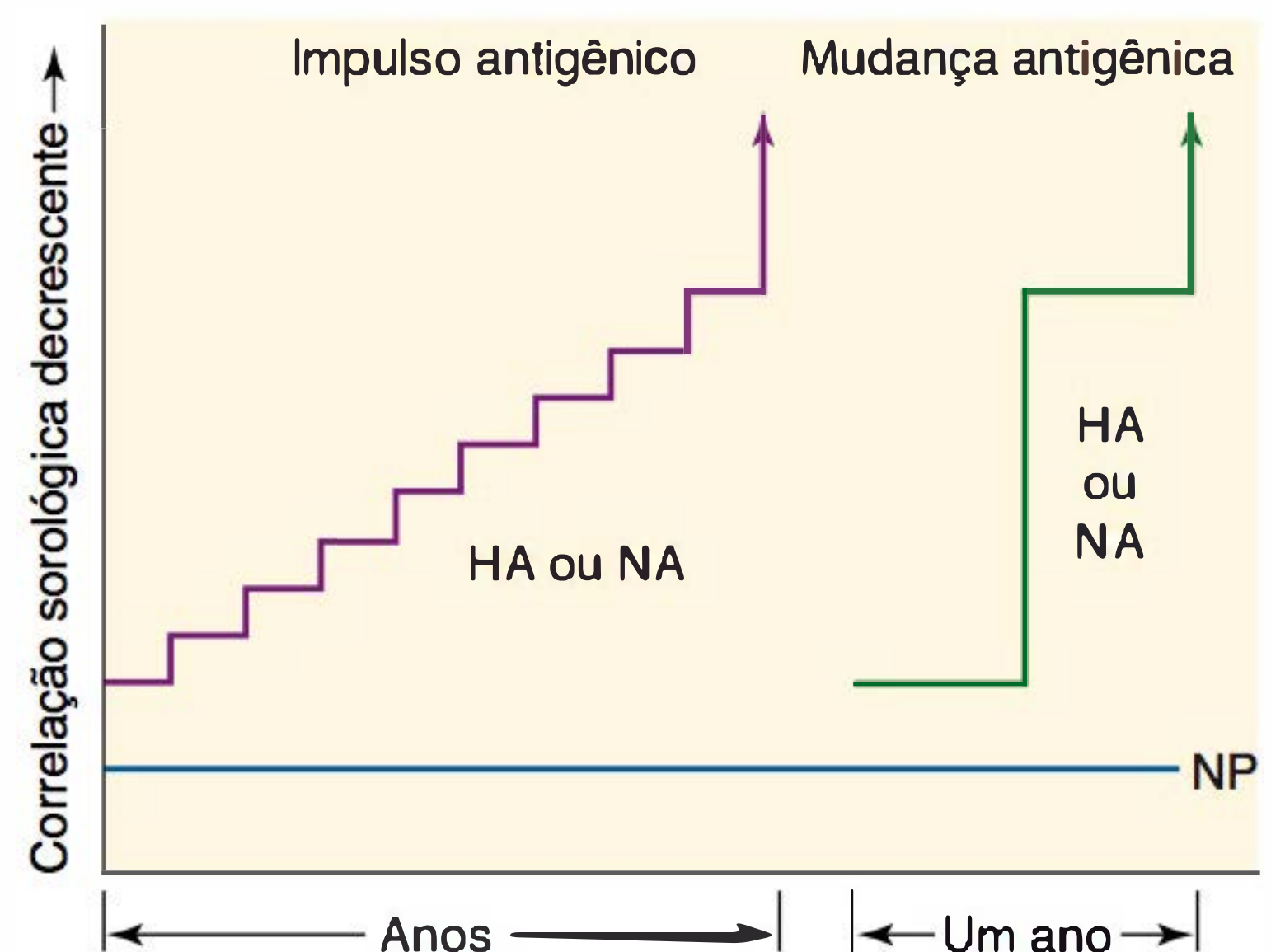


FIGURA 39.3 O impulso e a mudança antigênicos são responsáveis por alterações antigênicas observadas nas duas glicoproteínas de superfície (HA e NA) do vírus *influenza*. Impulso antigênico é uma alteração gradual da antigenicidade, devido a mutações puntiformes que afetam os principais locais antigênicos na glicoproteína. Deslocamento antigênico refere-se a uma alteração abrupta em decorrência de reagrupamento genético com uma cepa não relacionada. As alterações na HA e na NA ocorrem independentemente. As proteínas internas do vírus, como a nucleoproteína (NP), não sofrem alterações antigênicas.

RNA não oncogênicos, visto que toda a transcrição e a replicação do RNA ocorrem no núcleo das células infectadas. O ciclo de multiplicação procede rapidamente. Ocorrem a interrupção da síntese das proteínas da célula hospedeira cerca de 3 horas após a infecção, permitindo a tradução seletiva dos RNAm virais. A nova progênie de vírus é produzida em 8 a 10 horas.

A. Fixação, penetração e desnudamento do vírus

O vírus fixa-se ao ácido siálico da superfície celular através do sítio receptor localizado no ápice do grande glóbulo da HA. Em seguida, as partículas virais são internalizadas em endossomos por um processo denominado endocitose mediada por receptor. A etapa seguinte envolve a fusão entre o envelope viral e a membrana celular, desencadeando o processo de desnudamento. O pH baixo, existente no interior do endossomo, é necessário à fusão da membrana mediada pelo vírus, que libera RNP virais no citosol. O pH ácido provoca uma alteração estrutural da HA, colocando o “peptídeo de fusão” HA2 em contato correto com a membrana. A proteína do canal iônico M_2 presente no virion permite a entrada de íons do endossomo na partícula viral, desencadeando a alteração estrutural da HA. Em seguida, os nucleocapsídeos virais são liberados no citoplasma celular.

B. Transcrição e tradução

Os mecanismos de transcrição utilizados pelos ortomixovírus diferem acentuadamente daqueles observados em outros vírus do RNA devido à maior participação das funções celulares. A transcrição viral ocorre no núcleo. Os RNAm são produzidos a partir dos nucleocapsídeos virais. A polimerase codificada pelo vírus, constituída por um complexo das três proteínas

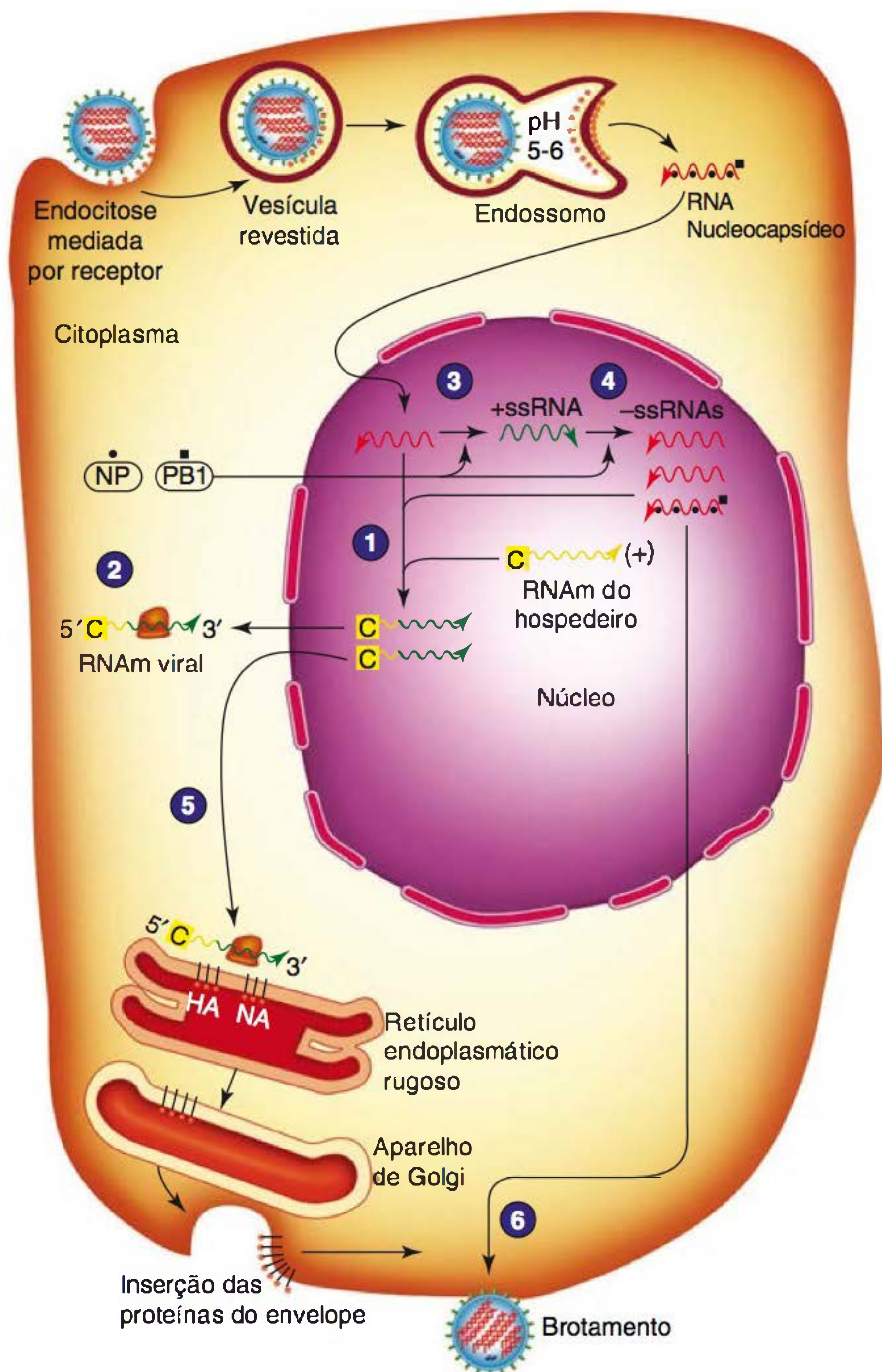


FIGURA 39.4 Diagrama esquemático do ciclo de vida do vírus *influenza*. Após a endocitose mediada por receptor, o complexo viral de ribonucleoproteínas é liberado no citoplasma e transportado para o núcleo, onde tomam lugar a replicação e a transcrição (1). Os RNAs mensageiros são exportados ao citoplasma para tradução (2). Proteínas virais iniciais necessárias para replicação e transcrição, incluindo a nucleoproteína (NP) e a proteína polimerase (PB1), são transportadas de volta para o núcleo. A atividade RNA polimerase da proteína sintetiza RNA de fita simples e de sentido positivo (RNAss+) a partir do genoma viral de sentido negativo (RNAss-) (3). Esses moldes de RNAss+ são copiados pela atividade RNA polimerase da PB1 (4). Alguns desses novos segmentos do genoma servem como molde para a síntese de mais RNAm viral, que posteriormente, tornam-se progênie viral. As moléculas de RNAm transcritas de alguns segmentos genômicos codificam para proteínas estruturais como a hemaglutinina (HA) e a neuraminidase (NA). Esses mensageiros são traduzidos em ribossomas associados ao retículo endoplasmático e transportados para membrana celular (5). Os segmentos do genoma viral são empacotados e ocorre o brotamento da progênie de virions (6). RE, retículo endoplasmático. (Reproduzida, com autorização, de Willey JM, Sherwood LM, Woolverton CJ (eds). *Prescott, Harley, & Klein's Microbiology*. New York: McGraw-Hill; 2008, p.457. © The McGraw-Hill Companies, Inc.)

P, é primariamente responsável pela transcrição. Sua ação deve ser orientada pelas terminações 5' metiladas e revestidas provenientes de transcrições celulares recém-sintetizadas

pela RNA-polimerase II celular, o que explica por que a replicação do vírus *influenza* é inibida pela dactinomicina e pela α -amanitina, que bloqueiam a transcrição celular, enquanto outros vírus do RNA não são afetados, uma vez que não utilizam transcrições celulares na síntese do RNA viral.

Seis dos segmentos do genoma produzem RNAm monocistronicos, traduzidos no citoplasma em seis proteínas virais. As duas outras transcrições sofrem junção, produzindo cada qual dois RNAm traduzidos em diferentes quadros de leitura. Nas fases iniciais, após a infecção, ocorre a síntese preferencial das proteínas NS₁ e NP. Em um estágio mais tardio, as proteínas estruturais são sintetizadas em alta velocidade. As duas glicoproteínas, HA e NA, são modificadas por meio da via secretora.

A proteína não estrutural NS₁ do vírus *influenza* desempenha um papel pós-transcricional na regulação da expressão gênica viral e da celular. A proteína NS₁ liga-se a sequências poli(A), inibe a fixação pré-RNAm e a exportação nuclear de RNAm que sofreram junção, assegurando um reservatório de moléculas celulares doadoras para fornecer os *primers* necessários à síntese do RNAm viral. A proteína NS₂ interage com a proteína M₁ e está envolvida na exportação nuclear dos RNP virais.

C. Replicação do RNA viral

A replicação do genoma viral é efetuada pelas mesmas proteínas polimerases codificadas pelos vírus envolvidas na transcrição. Os mecanismos que regulam as funções alternativas de transcrição e replicação das mesmas proteínas estão relacionados com a abundância de uma ou mais das proteínas do nucleocapsídeo viral.

A exemplo dos outros vírus de fita negativa, os modelos para a síntese do RNA viral permanecem recobertos com nucleoproteínas. Os únicos RNA totalmente livres são os RNAm. A primeira etapa na replicação do genoma consiste na produção de cópias de fitas positivas de cada segmento. Essas cópias antígenômicas diferem dos RNAm em ambas as terminações; as extremidades 5' não são revestidas, enquanto as extremidades 3' não estão truncadas nem poliadeniladas. Essas cópias servem de modelo para a síntese de cópias fiéis do RNA do genoma.

Como existem sequências comuns em ambas as extremidades de todos os segmentos de RNA virais, elas podem ser reconhecidas de maneira eficiente pelo mecanismo de síntese do RNA. O entrelaçamento de segmentos do genoma provenientes de diferentes vírus parentais em células coinfectadas é provavelmente responsável pela alta frequência de reagrupamento genético típico dos vírus *influenza* dentro de um mesmo gênero. Foram observadas frequências de reagrupamento de até 40%.

D. Maturação

O vírus amadurece por brotamento a partir da superfície da célula. Os componentes virais chegam ao local de brotamento por diferentes vias. Os nucleocapsídeos são organizados no núcleo e migram para fora da superfície celular. As glicoproteínas HA e NA são sintetizadas no retículo endoplasmático, modificadas e organizadas em trímeros e tetrâmeros, respectivamente, sendo inseridas na membrana plasmática.

A proteína M₁ atua como ponte, ligando o nucleocapsídeo às extremidades citoplasmáticas das glicoproteínas. A progênie de virions brota para fora da célula. Durante essa sequência de eventos, a HA é clivada em HA1 e HA2 quando a célula hospedeira tem a enzima proteolítica apropriada. A NA remove os ácidos siálicos terminais das glicoproteínas da superfície celular e viral, facilitando a liberação das partículas virais da célula e impedindo sua agregação.

Muitas das partículas não são infecciosas. Algumas vezes, as partículas não formam capsídeos em torno de todo o complemento dos segmentos genômicos; com frequência, um dos grandes segmentos de RNA está ausente. Essas partículas não infecciosas são capazes de provocar hemaglutinação, podendo interferir na replicação do vírus intacto.

Na atualidade, dispõe-se de sistemas de genética reversos que permitem a geração de vírus *influenza* infecciosos a partir de cDNA clonados de segmentos de RNA virais, permitindo os estudos funcionais e de mutagênese.

INFEÇÕES PELO VÍRUS *INFLUENZA* EM SERES HUMANOS

Uma comparação dos vírus *influenza* A com outros vírus que infectam o trato respiratório humano é apresentada no Quadro 39.3. O vírus *influenza* é abordado aqui.

Patogênese e patologia

O vírus *influenza* propaga-se de uma pessoa para outra por meio de perdigotos ou por contato com mãos ou superfícies contaminadas. Algumas células do epitélio respiratório serão infectadas se as partículas virais depositadas não forem removidas pelo reflexo da tosse e escaparem à neutralização por anticorpos IgA específicos preexistentes ou à inativação por inibidores inespecíficos presentes nas secreções mucosas. A progênie de virions é rapidamente produzida e propaga-se para as células adjacentes, onde se repete o ciclo de replicação. A NA viral reduz a viscosidade da película de muco nas vias respiratórias, deixando os receptores de superfície celular expostos e promovendo a disseminação de líquido contendo vírus para as porções inferiores do trato. Em pouco tempo, muitas células nas vias respiratórias são infectadas e, por fim, destruídas.

O período de incubação desde o momento de exposição ao vírus até o aparecimento da doença varia de 1 a 4 dias, dependendo do tamanho da dose viral e do estado imunológico do hospedeiro. A disseminação viral começa no dia anterior ao aparecimento dos sintomas, atinge o pico em 24 horas e permanece elevada por um a dois dias para, em seguida, declinar nos 5 dias seguintes. O vírus infeccioso é raramente isolado do sangue.

O interferon pode ser detectado nas secreções respiratórias cerca de um dia após o início da disseminação viral. Os vírus *influenza* são sensíveis aos efeitos antivirais do interferon e

QUADRO 39.3 Comparação dos vírus que infectam o trato respiratório humano

Vírus	Doença	Número de sorotipos	Imunidade duradoura contra a doença	Vacina disponível	Latência virai
Vírus de RNA					
Vírus <i>influenza</i> A	<i>Influenza</i>	Muitos	Não	+	-
Metapneumovírus	Crupe, bronquiolite	Muitos	Não	-	-
Vírus <i>parainfluenza</i>	Crupe	Muitos	Não	-	-
Vírus sincicial respiratório	Bronquiolite, pneumonia	Um	Não	-	-
Vírus da rubéola	Rubéola	Um	Sim	+	-
Vírus do sarampo	Sarampo	Um	Sim	+	-
Vírus da caxumba	Parotidite, meningite	Um	Sim	+	-
Rinovírus	Resfriado comum	Muitos	Não	-	-
Coronavírus	Resfriado comum	Muitos	Não	-	-
Vírus Coxsackie	Herpangina, pleurodinia	Muitos	Não	-	-
Vírus de DNA					
Herpes-vírus simples tipo 1	Gengivostomatite	Um	Não	-	+
Vírus Epstein-Barr	Mononucleose infecciosa	Um	Sim	-	+
Vírus varicela-zóster	Catapora, cobreiro	Um	Sim ^a	+	+
Adenovírus	Faringite, pneumonia	Muitos	Não	-	+

^a Imunidade duradoura contra as reinfecções por varicela (catapora), mas não contra reativação do zóster (cobreiro).

acredita-se que a resposta imune inata contribua para a recuperação do hospedeiro. Não podem ser detectados anticorpos específicos nem respostas mediadas por células durante um período de 1 a 2 semanas.

As infecções pelo vírus *influenza* provocam destruição celular e descamação da mucosa superficial das vias respiratórias, mas não afetam a camada basal do epitélio. A regeneração completa da lesão celular provavelmente leva 1 mês. A lesão do epitélio das vias respiratórias pelo vírus reduz a resistência aos invasores bacterianos secundários, particularmente estafilococos, estreptococos e *Haemophilus influenzae*.

O edema e infiltrações mononucleares que surgem em resposta à morte e descamação celulares devido à replicação do vírus provavelmente são responsáveis pelos sintomas locais. Os sintomas sistêmicos proeminentes associados à *influenza* provavelmente refletem a produção de citocinas.

Manifestações clínicas

A *influenza* ataca principalmente o trato respiratório superior, constituindo sério risco para pessoas idosas, jovens, adultos e pessoas com problemas pulmonares, renais, cardíacos, diabetes ou câncer.

A. Influenza sem complicações

Em geral, os sintomas clássicos da *influenza* surgem de modo abrupto, consistindo em calafrios, cefaleia e tosse seca, seguidos de febre alta, dores musculares generalizadas, mal-estar e anorexia. Em geral, a febre persiste por 3 a 5 dias, assim como os sintomas sistêmicos. Tipicamente, os sintomas respiratórios duram 3 a 4 dias. A tosse e a fraqueza podem persistir por 2 a 4 semanas após o desaparecimento dos principais sintomas. Podem ocorrer infecções leves ou assintomáticas. Estes sintomas podem ser induzidos por qualquer cepa do vírus *influenza* A ou B. Diferentemente, o vírus *influenza* C raramente provoca a síndrome de *influenza*, manifestando-se em forma de resfriado comum. A coriza e a tosse podem persistir por várias semanas.

Em crianças, os sintomas clínicos da *influenza* assemelham-se aos observados em adultos, embora as crianças possam apresentar febre mais alta e maior incidência de manifestações gastrintestinais, como vômitos. Podem ocorrer convulsões febris. Os vírus *influenza* A constituem uma importante causa de crupe em crianças com menos de um ano de idade, o qual pode ser grave. Por fim, pode-se verificar o desenvolvimento de otite média.

Quando a *influenza* aparece na forma epidêmica, as manifestações clínicas são compatíveis o suficiente para que a doença possa ser diagnosticada. Os casos esporádicos não podem ser diagnosticados em bases clínicas, visto que as manifestações da doença não podem ser distinguidas daquelas induzidas por outros patógenos das vias respiratórias. Entretanto, esses outros agentes raramente causam pneumonia viral grave, que constitui uma complicação da infecção pelo vírus *influenza* A.

B. Pneumonia

Em geral, as complicações graves só ocorrem em indivíduos idosos e indivíduos debilitados, particularmente os que apresentam doença crônica subjacente. A gravidez parece constituir

um fator de risco para complicações pulmonares letais em algumas epidemias. O impacto letal de uma epidemia de *influenza* reflete-se no número excessivo de mortes por pneumonia e doenças cardiopulmonares.

A pneumonia como complicação das infecções pelo vírus *influenza* pode ser de etiologia viral, bacteriana secundária ou uma combinação das duas. O aumento da secreção de muco ajuda a transportar os agentes para as vias respiratórias inferiores. A infecção pelo vírus *influenza* aumenta a suscetibilidade dos pacientes a superinfecção bacteriana, o que é atribuído a perda do processo de depuração ciliar, disfunção das células fagocíticas e fornecimento de um meio de cultura rico para crescimento bacteriano através do exsudato alveolar. Os patógenos bacterianos mais frequentes são *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae* e *H. influenzae*.

A pneumonia viral-bacteriana combinada é cerca de 3 vezes mais comum que a pneumonia primária pelo vírus *influenza*. Há relatos de que a coinfeção por *S. aureus* está associada a uma taxa de mortalidade de até 42%. Uma base molecular para o efeito sinérgico, observado entre vírus e bactérias, pode consistir na secreção, por algumas cepas do *S. aureus*, de uma protease que tem a capacidade de clivar a HA do vírus *influenza*, permitindo, assim, a produção de títulos muito mais elevados de vírus infecciosos nos pulmões.

C. Síndrome de Reye

É uma encefalopatia aguda de crianças e adolescentes que em geral ocorre entre os 2 e 16 anos de idade. A taxa de mortalidade é elevada (10 a 40%). Desconhece-se a causa da síndrome de Reye; entretanto, trata-se de uma complicação rara reconhecida de infecções causadas pelo vírus *influenza* B, vírus *influenza* A e herpes-vírus. Existe uma possível relação entre o uso de salicilato e o desenvolvimento subsequente de síndrome de Reye. A incidência da síndrome diminuiu com a redução do uso de salicilatos em crianças com sintomas gripais.

Imunidade

A imunidade à *influenza* é permanente e específica do subtipo. Os anticorpos contra a HA e a NA são importantes na imunidade contra a *influenza*, enquanto os anticorpos dirigidos contra as proteínas codificadas pelo vírus não são protetores. A resistência ao desenvolvimento da infecção está relacionada com o anticorpo dirigido contra a HA, enquanto a redução da gravidade da doença e da capacidade de transmitir o vírus por contato está relacionada com anticorpos dirigidos contra a NA. Os anticorpos contra a ribonucleoproteína são específicos do tipo e mostram-se úteis na tipagem dos vírus isolados (em vírus *influenza* A ou B).

A proteção correlaciona-se tanto com anticorpos séricos quanto com anticorpos IgA secretores nas secreções nasais. O anticorpo secretor local é provavelmente importante na prevenção da infecção. Os anticorpos séricos persistem por muitos meses a anos, enquanto os anticorpos secretores são de curta duração (em geral, de alguns meses). O anticorpo também modifica a evolução da doença. Uma pessoa com baixos títulos de anticorpos pode ser infectada, mas irá apresentar uma forma leve da doença. A imunidade pode ser incompleta, uma vez que pode ocorrer reinfeção pelo mesmo vírus.

Os três tipos de vírus *influenza* não são relacionados do ponto de vista antigênico e, por conseguinte, não induzem nenhuma proteção cruzada. Quando um tipo viral sofre impulso antigênico, a pessoa com anticorpos preexistentes contra a cepa original pode contrair apenas infecção leve pela nova cepa. Infecções subsequentes ou imunizações reforçam a resposta por anticorpos para o primeiro subtipo de *influenza* experimentado anos antes, fenômeno chamado “pecado original antigênico”.

Acredita-se que o principal papel das respostas imunológicas celulares na *influenza* consista em remover a infecção estabelecida. As células T citotóxicas provocam a lise das células infectadas. A resposta dos linfócitos T citotóxicos exibe reatividade cruzada (*i. e.*, são capazes de lisar células infectadas por qualquer subtipo de vírus), parecendo ser dirigida contra as proteínas internas e as glicoproteínas de superfície.

Diagnóstico laboratorial

As características clínicas das infecções respiratórias virais podem ser produzidas por muitos vírus diferentes. Por conseguinte, o diagnóstico de *influenza* baseia-se na identificação dos antígenos virais e do ácido nucleico viral em amostras, isolamento do vírus, ou na demonstração de resposta imunológica específica pelo paciente.

Lavados nasais, gargarejos e *swabs* de garganta constituem as melhores amostras para os testes diagnósticos, devendo ser obtidos até 3 dias após o aparecimento dos sintomas.

A. Reação em cadeia da polimerase

Testes rápidos baseados na detecção do RNA de *influenza* em amostras clínicas por meio da reação em cadeia da polimerase com transcriptase reversa (RT-PCR) são os preferidos para o diagnóstico de *influenza*. A RT-PCR é rápida (< 1 dia), sensível e específica. Tecnologias moleculares multiplex estão em desenvolvimento, visando à detecção rápida de múltiplos patógenos em um único teste.

B. Isolamento e identificação do vírus

A amostra a ser testada para o isolamento do vírus deve ser mantida a 4°C até inoculação e cultura de células, visto que o congelamento e o descongelamento reduzem a capacidade de isolamento do vírus. Todavia, se o tempo de armazenamento ultrapassar 5 dias, a amostra deverá ser congelada a -70°C.

Os procedimentos de cultura viral levam 3 a 10 dias. Classicamente, ovos embrionados e células renais primárias de macaco têm sido os métodos de isolamento de escolha para os vírus *influenza*, embora possam ser utilizadas algumas linhagens celulares contínuas. As culturas de células inoculadas são incubadas na ausência de soro, que pode conter fatores inibitórios virais inespecíficos; porém na presença de tripsina, que cliva e ativa a HA, permitindo a propagação do vírus em replicação por toda a cultura.

As culturas de células podem ser testadas para a presença de vírus por hemadsorção 3 a 5 dias após inoculação, ou o líquido da cultura pode ser examinado à procura do vírus depois de 5 a 7 dias por hemaglutinação. Se os resultados forem negativos, deverá ser efetuada uma passagem para culturas frescas, a qual

pode ser necessária, visto que os vírus primários isolados são frequentemente exigentes e de crescimento lento.

Os vírus isolados podem ser identificados por inibição da hemaglutinação, procedimento que permite a rápida determinação do tipo e do subtipo do vírus *influenza*. Para isso, devem-se utilizar soros de referência para as cepas atualmente prevalentes. A hemaglutinação pelo novo vírus isolado é inibida por antissoros contra o subtipo homólogo.

Para o rápido estabelecimento do diagnóstico, as culturas de células em lamínulas em frascos podem ser inoculadas e coradas 1 a 4 dias depois com anticorpos monoclonais contra agentes respiratórios. O cultivo viral também pode ser testado por RT-PCR para identificação de um agente cultivado.

É possível identificar o antígeno viral diretamente em células esfoliadas em aspirados nasais com o uso de anticorpos fluorescentes. Esse teste é rápido (leva poucas horas), mas não se mostra tão sensível quanto o isolamento do vírus, não fornece detalhes completos sobre a cepa viral nem proporciona um vírus isolado capaz de ser caracterizado. Os testes rápidos de detecção do antígeno da *influenza* estão disponíveis comercialmente e levam menos de 15 minutos. Entretanto, estes testes variam quanto à sensibilidade e à especificidade.

C. Sorologia

São produzidos anticorpos dirigidos contra diversas proteínas virais (hemaglutinina, neuraminidase, nucleoproteína e matriz) durante a infecção pelo vírus *influenza*. A resposta imunológica contra a glicoproteína HA está associada a uma resistência à infecção.

Os testes rotineiros para diagnóstico sorológico baseiam-se na inibição da hemaglutinação e Elisa. São necessários soros pareados das fases aguda e convalescente, visto que os indivíduos normais em geral apresentam anticorpos contra o vírus *influenza*. Deve ocorrer uma elevação de 4 vezes ou mais nos títulos para indicar a presença de infecção pelo vírus *influenza*. Com frequência, os soros humanos contêm inibidores inespecíficos de mucoproteína que devem ser destruídos antes da realização do teste de inibição da hemaglutinação.

O teste de inibição da hemaglutinação só revela a cepa do vírus responsável pela infecção quando se dispõe do antígeno correto. Os testes de neutralização são mais específicos, constituindo o melhor método para previsão de suscetibilidade à infecção. Todavia, levam mais tempo e são de execução mais difícil do que outros testes. O teste de Elisa é mais sensível que os demais ensaios.

Podem surgir complicações na identificação da cepa do vírus *influenza* infectante pela resposta humoral do paciente devido às respostas anamnésicas que ocorrem com frequência.

Epidemiologia

O vírus *influenza* ocorre no mundo inteiro, causando surtos anuais de intensidade variável. Estima-se que epidemias anuais sazonais de *influenza* causem 3 a 5 milhões de casos de doença grave e 250.000 a 500.000 mortes no mundo. O impacto econômico dos surtos de *influenza* são significativos pela morbidade associada às infecções. Os custos econômicos foram estimados em 10 a 60 milhões de dólares por milhão de

peças em países industrializados, dependendo das proporções da epidemia.

Os três tipos de vírus *influenza* variam acentuadamente quanto a seus padrões epidemiológicos. O vírus *influenza* C é o menos importante; provoca doença respiratória esporádica e leve, mas não causa epidemias de *influenza*. Algumas vezes, o vírus *influenza* B provoca epidemias, enquanto o vírus *influenza* tipo A pode atravessar continentes e causar epidemias maciças em todo o mundo, denominadas pandemias.

A incidência da *influenza* atinge um pico durante o inverno. Nos EUA, as epidemias de *influenza* em geral ocorrem de janeiro a abril (e de maio a agosto no Hemisfério Sul). Deve existir uma cadeia contínua de transmissão de uma pessoa para outra para a manutenção do vírus entre as epidemias. Pode-se detectar alguma atividade viral em grandes centros populacionais durante o ano inteiro, o que indica que o vírus permanece endêmico na população, causando algumas infecções subclínicas ou menores.

A. Mudança antigênica

Aparecem surtos periódicos em decorrência de alterações antigênicas em uma ou em ambas as glicoproteínas da superfície do vírus. Quando o número de indivíduos suscetíveis em determinada população atinge um nível suficiente, uma nova cepa do vírus provoca epidemia. A alteração pode ser gradual (daí a expressão “impulso antigênico”), devido a mutações puntiformes que se manifestam através de alterações em locais antigênicos importantes da glicoproteína (Fig. 39.3), ou ser drástica e abrupta (por isso a expressão “mudança antigênica”), em virtude do reagrupamento genético que ocorre durante a coinfeção por uma cepa não relacionada.

Os três tipos de vírus *influenza* exibem impulso antigênico. Entretanto, apenas o vírus *influenza* A sofre mudança antigênica, presumivelmente pelo fato de os tipos B e C serem restritos aos seres humanos, enquanto os vírus *influenza* A relacionados circulam em populações de animais em geral e aves. Essas cepas animais são responsáveis pela mudança antigênica mediante o reagrupamento genético dos genes das glicoproteínas. Foram isolados vírus *influenza* A de muitas aves aquáticas, particularmente patos; de aves domésticas, como perus, frangos, gansos e patos; de porcos e de cavalos; e mesmo de focas e baleias. Além disso, estudos de sorologia indicam uma alta prevalência de infecção, pelo vírus *influenza*, em gatos domésticos.

Os surtos epidêmicos ocorrem em ondas, embora não exista uma periodicidade regular na ocorrência de epidemias. A experiência de um determinado ano irá refletir na interface entre a extensão do impulso antigênico do vírus predominante e a diminuição da imunidade da população. O período entre as ondas epidêmicas de *influenza* A tende a ser de 2 a 3 anos; o período interepidêmico para o tipo B é mais longo (3 a 6 anos). A cada 10 a 40 anos, quando surge um novo subtipo de *influenza* A, ocorre uma pandemia, o que se deu em 1918 (H1N1), 1957 (H2N2) e 1968 (H3N2). O subtipo H1N1 ressurgiu em 1977, embora não se tenha configurado uma epidemia. Desde 1977, os vírus *influenza* A (H1N1) e (H3N2), bem como da *influenza* B têm estado em circulação em todo o mundo.

Um novo vírus H1N1 de origem suína surgiu no início de 2009 e atingiu disseminação pandêmica em meados do ano.

Trata-se de um recombinante quádruplo, contendo genes dos vírus suínos da América do Norte e Eurásia, bem como os vírus *influenza* humana e aviária. O vírus era facilmente transmissível entre seres humanos e disseminado globalmente, causando mais de 18.000 mortes. A gravidade da doença foi comparável a da gripe sazonal. A pandemia denominada A (H1N1) pdm09 tornou-se um vírus *influenza* sazonal, e continua a circular juntamente com outros vírus sazonais.

A vigilância quanto a surtos de *influenza* é necessária para identificar o surgimento precoce de novas cepas, com o objetivo de preparar vacinas antes que ocorra uma epidemia. A vigilância pode ser estendida para populações animais, especialmente aves, porcos e cavalos. O isolamento de um vírus com hemaglutinina alterada no final da primavera, durante uma miniepidemia, sinaliza uma possível epidemia no inverno seguinte. Esse sinal de alarme, chamado “onda precursora”, tem sido observado precedendo epidemias por *influenza* A e B.

B. *Influenza* aviária

As análises de sequência de vírus *influenza* A isolados de muitos hospedeiros em diferentes regiões do mundo sustentam a teoria de que todos os vírus *influenza* de mamíferos provêm do reservatório da *influenza* em aves. Dos 15 subtipos de HA encontrados em aves, apenas alguns foram transferidos para mamíferos (H1, H2, H3 e H5 em seres humanos; H1 e H3 em suínos; e H3 e H7 em cavalos). Observa-se o mesmo padrão para a NA; são conhecidos nove subtipos de NA em aves, dos quais apenas dois são encontrados nos seres humanos (N1 e N2). Os vírus *influenza* não parecem sofrer alteração antigênica nas aves, talvez devido à breve duração de sua sobrevivência, que significa: os genes que causaram pandemias anteriores de *influenza* em seres humanos ainda permanecem inalterados no reservatório de aves aquáticas.

A *influenza* (gripe) aviária varia desde infecções inaparentes a infecções altamente letais em galinhas e perus. A maioria das infecções pelo vírus *influenza* em patos é causada por cepas avirulentas. Os vírus *influenza* em patos multiplicam-se em células que revestem o trato intestinal e são eliminados em altas concentrações em material fecal na água, onde permanecem viáveis por vários dias ou semanas, especialmente a baixas temperaturas. É provável que a *influenza* das aves seja uma infecção transmitida pela água, migrando de aves silvestres para aves domésticas e porcos.

Até o momento, todas as cepas pandêmicas humanas eram recombinantes entre os vírus *influenza* aviária e humana. As evidências sustentam o modelo de que os porcos servem como um vaso de mistura para os recombinantes, pois suas células contêm receptores reconhecidos pelos vírus aviários e humanos (Fig. 39.5). A linhagem pandêmica de 2009 foi um novo recombinante que continha genes virais de origem suína bem como genes de aves e *influenza* humanos. As crianças em idade escolar são os vetores predominantes para a transmissão da *influenza*. A superlotação nas escolas favorece a transmissão do vírus, e as crianças o carregam para suas casas e famílias.

Em 1997, em Hong Kong, ocorreu a primeira infecção documentada de seres humanos pelo vírus *influenza* A das aves (H5N1). A fonte consistiu em aves domésticas. Em 2006, a presença geográfica desse vírus *influenza* aviária altamente

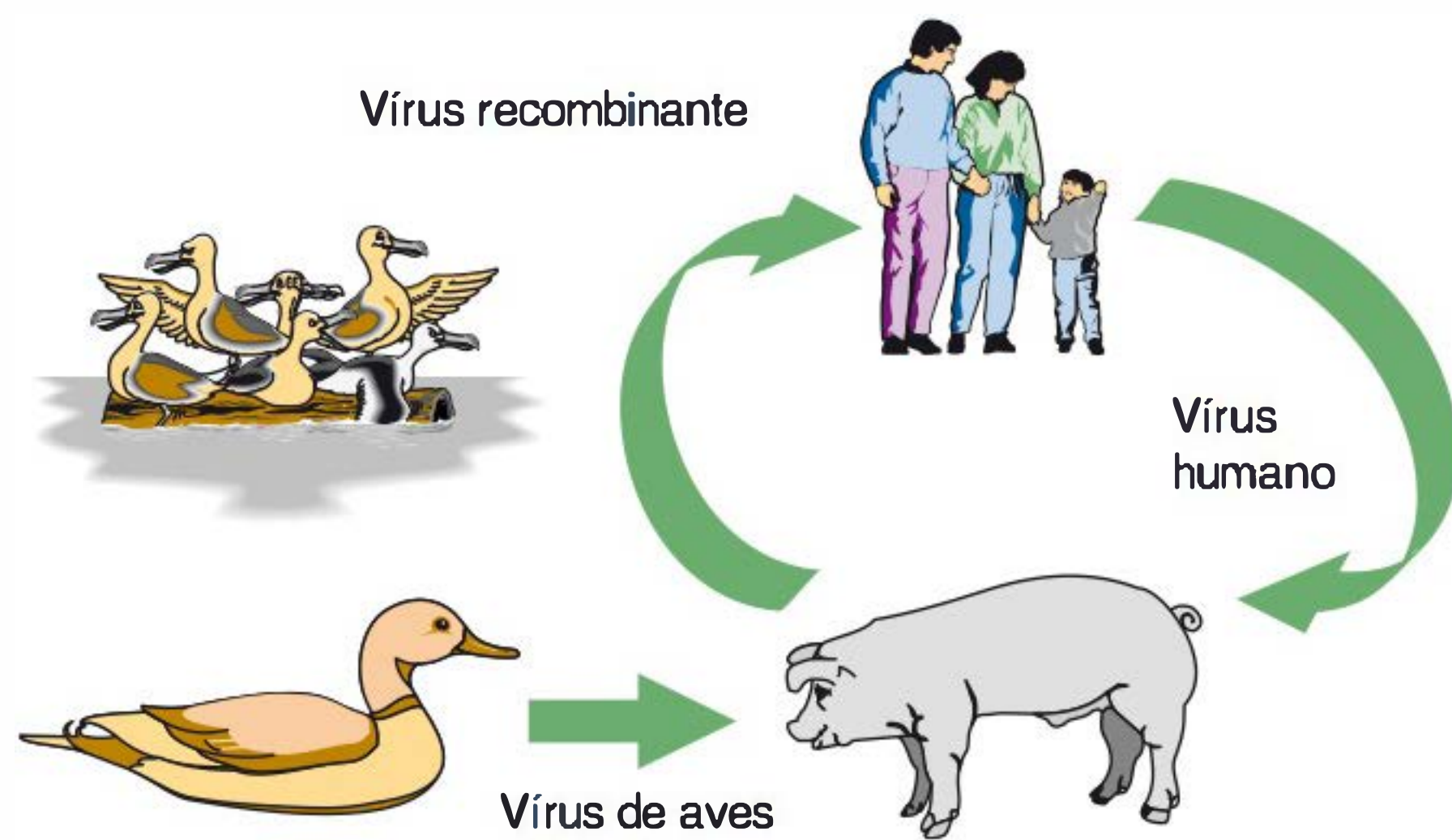


FIGURA 39.5 O porco pode atuar como hospedeiro intermediário para a geração do vírus *influenza* por reagrupamento humano — aves com potencial pandêmico. (Reproduzida, com autorização, de Claas ECJ, Osterhaus ADME: New clues to the emergence of flu pandemics. *Nat Med* 1998;4:1122.)

patogênico (H5N1) em aves domésticas e silvestres ampliou-se, incluindo muitos países na Ásia, Europa, África e Oriente Médio. Os surtos registrados foram maiores e mais graves. Dos cerca de 425 casos em humanos confirmados por exames de laboratório, em maio de 2009, mais de metade foi constituída por casos fatais. Além disso, os isolados de casos humanos continham todos os segmentos gênicos do vírus aviário, indicando que, nessas infecções, o vírus aviário saltou diretamente das aves para o homem. Todas as evidências indicam que contato próximo com aves doentes foi a fonte da infecção humana pelo H5N1. A preocupação é que, na presença de oportunidades suficientes, o vírus *influenza* aviária H5N1, altamente patogênico, irá adquirir habilidade para se disseminar de modo eficiente e sustentar-se entre os seres humanos, tanto por recombinações como por mutações adaptativas, o que pode resultar em uma pandemia devastadora.

C. Soroarqueologia

O vírus *influenza* humana foi isolado pela primeira vez em 1933, com a utilização de furões. Os subtipos que circularam antes dessa época foram deduzidos por meio de soropidemiologia retrospectiva, técnica que se baseia no rastreamento de títulos de anticorpos inibidores da hemaglutinação contra inúmeros subtipos HA do vírus com soros de muitos indivíduos de diferentes grupos etários.

Nos primeiros anos de vida, o espectro de anticorpos contra o vírus *influenza* é estreito, mas torna-se progressivamente amplo com o passar dos anos. Os anticorpos adquiridos de infecções iniciais na infância refletem antígenos dominantes das cepas prevalentes. As exposições posteriores a vírus resultam em uma ampliação do espectro de anticorpos contra maior número de antígenos comuns dos vírus *influenza*. As exposições posteriores a cepas antigenticamente relacionadas resultam em reforço progressivo do anticorpo primário. Por conseguinte, os níveis mais elevados de anticorpos observados em determinado grupo etário refletem os antígenos dominantes do vírus responsável pelas infecções do grupo durante a infância. Assim, pode-se obter uma recapitulação sorológica de infecções anteriores por vírus *influenza* de constituição antigênica diferente

pelo estudo da distribuição etária dos anticorpos contra os vírus *influenza* em populações normais.

Essa abordagem sugere que a epidemia de 1890 provavelmente foi causada por um subtipo H2N8, enquanto a epidemia de 1900 foi provocada por um vírus H3N8. A pandemia catastrófica de 1918-1919 (gripe espanhola) foi causada pelo súbito aparecimento do subtipo H1N1, o vírus *influenza* semelhante ao vírus *influenza* de suínos. (Mais de 20 milhões de pessoas morreram durante essa pandemia, principalmente de complicações de pneumonias bacterianas.) Foram documentados deslocamentos antigênicos subsequentes mediante o isolamento de vírus; o H2N2 (gripe asiática) apareceu em 1957 e foi substituído, em 1968, pelo subtipo H3N2 (gripe de Hong Kong). A cepa H1N1 reapareceu em 1977 (gripe russa).

D. Reconstrução do vírus *influenza* de 1918

A tecnologia da reação em cadeia da polimerase (PCR) produziu fragmentos gênicos do vírus *influenza* a partir de amostras de tecido pulmonar preservadas de vítimas da epidemia de gripe espanhola de 1918. As sequências completas dos oito segmentos de RNA viral foram determinadas, indicando tratar-se de um vírus *influenza* A H1N1. Aparentemente, o vírus de 1918 não era um recombinante, mas foi adquirido diretamente de uma fonte aviária que se adaptou aos seres humanos. Por meio de genética reversa, foi construído um vírus infeccioso contendo todos os segmentos gênicos do vírus pandêmico de 1918. Diferente dos vírus *influenza* comuns, o vírus de 1918 era altamente patogênico, sendo capaz de matar camundongos rapidamente. A HA 1918 e os genes da polimerase parecem ser os responsáveis pela alta virulência.

Prevenção e tratamento farmacológico

O cloridrato de amantadina e um análogo, a rimantadina, são inibidores do canal de íons M_2 para uso sistêmico no tratamento e na profilaxia da *influenza* A. Os inibidores da NA zanamivir e oseltamivir foram aprovados em 1999 para o tratamento tanto da *influenza* A quanto da B. Para serem eficazes ao máximo, os fármacos devem ser administrados em uma fase muito inicial da doença. Vírus resistentes emergem com mais frequência durante a terapia com inibidores M_2 do que com os inibidores da NA, e com maior frequência em crianças do que em adultos. Durante o ano de 2011, todo vírus *influenza* circulante foi resistente aos inibidores de M_2 , porém a maioria era sensível aos inibidores da NA.

Prevenção e controle por vacinas

As vacinas com vírus inativados constituem o principal modo de prevenção da *influenza* nos EUA. Entretanto, certas características dos vírus *influenza* dificultam sobremaneira a prevenção e o controle da doença por meio de imunização. As vacinas existentes tornam-se continuamente obsoletas, visto que os vírus sofrem impulso e mudança antigênicos. Os programas de vigilância por autoridades governamentais e pela Organização Mundial de Saúde monitoram constantemente os subtipos de vírus *influenza* que circulam pelo mundo, de modo a detectar imediatamente o aparecimento e a propagação de novas cepas.

A principal vantagem desse monitoramento seria o desenvolvimento de vacinas mais eficientes, que estimulem a produção de anticorpos circulantes contra muitos sorotipos de *influenza*.

Convém mencionar vários outros problemas. Embora a proteção possa alcançar 70 a 100% em adultos saudáveis, a frequência de proteção é baixa (30 a 60%) entre idosos e crianças menores. Em geral, as vacinas com vírus inativados não induzem a respostas imunológicas satisfatórias mediadas por células ou pela IgA local. A resposta imunológica é influenciada pelo fato de a pessoa ter sido “preparada” por exposição antigênica anterior a um vírus *influenza* A do mesmo subtipo.

A. Preparação de vacinas com vírus inativados

As vacinas com vírus *influenza* A e B inativados são aprovadas para uso parenteral em seres humanos. Os órgãos federais dos EUA e a Organização Mundial de Saúde divulgam recomendações, todos os anos, sobre as cepas que devem ser incluídas nas vacinas. Em geral, a vacina consiste em uma mistura contendo um ou dois vírus tipos A e B das cepas isoladas nos surtos do inverno anterior.

Determinadas cepas selecionadas são cultivadas em ovos embrionados, sendo o substrato utilizado para produção de vacinas. Algumas vezes, os vírus isolados naturais crescem pouquíssimo nos ovos para permitir a produção de vacinas. Nesses casos, efetua-se um reagrupamento no laboratório. Em seguida, o vírus com reagrupamento, que transporta os genes dos antígenos de superfície da vacina desejada com os genes de replicação provenientes de um vírus de laboratório adaptado a ovos, é utilizado para a produção de vacinas.

O vírus é coletado do líquido alantoide do ovo, purificado, concentrado por centrifugação zonal e inativado com formol ou β -propiolactona. A quantidade de HA é padronizada em cada dose de vacina (cerca de 15 μ g de antígeno), porém a quantidade de NA não é padronizada, por ser mais lábil em condições de purificação e armazenamento. Cada dose de vacina contém o equivalente a cerca de 10 bilhões de partículas virais.

As vacinas consistem em preparações de vírus integral (WV, de *whole virus*), subvirions (SV) ou antígenos de superfície. A vacina de WV contém o vírus intacto inativado; a vacina SV contém vírus purificado, tratado com detergente; e as vacinas com antígeno de superfície contêm as glicoproteínas HA e NA purificadas. Todas essas vacinas são eficazes.

B. Uso das vacinas de vírus atenuados

A vacina com vírus vivo precisa ser atenuada, de modo que não induza a doença que ela própria deve evitar. Tendo em vista a constante mudança dos vírus *influenza* na natureza e os extensos esforços laboratoriais necessários para atenuar um vírus virulento, a única estratégia viável consiste em planejar uma maneira de transferir genes atenuadores definidos de um vírus doador-mestre atenuado para cada novo vírus epidêmico ou pandêmico isolado.

Um vírus doador adaptado ao frio, capaz de crescer a 25°C, mas não a 37°C, a temperatura das vias respiratórias inferiores, pode replicar-se na nasofaringe, cuja temperatura é mais baixa (33°C). Uma vacina de vírus *influenza* trivalente vivo atenuado e sensível à temperatura, administrada por aerossol nasal,

foi licenciada nos EUA, em 2003, tendo sido a primeira vacina de vírus *influenza* atenuado aprovada nos EUA, bem como a primeira vacina de administração nasal administrada naquele país.

C. Uso de vacinas contra a *influenza*

A única contraindicação para a vacinação é história de alergia a proteína do ovo. Como as cepas vacinais crescem em ovos, alguns antígenos proteicos do ovo estão presentes na vacina.

A vacinação anual contra a *influenza* é recomendada para todas as crianças de 6 meses a 18 anos e para grupos de alto risco, como os indivíduos com maior risco de complicações associadas a infecção por *influenza* (tanto doenças cardíacas crônicas como de pulmão, inclusive crianças com asma, ou distúrbios metabólicos ou renais; residentes de enfermarias; pessoas infectadas pelo HIV; e pessoas a partir de 65 anos), bem como indivíduos que possam transmitir *influenza* a grupos de alto risco (profissionais da área médica, profissionais que fazem acompanhamento domiciliar e membros da família). A vacina intranasal de vírus atenuado não está sendo correntemente recomendada para indivíduos dos grupos de alto risco.

Prevenção pela higiene das mãos

Embora a transmissão ocorra principalmente por aerossóis, a transmissão pelas mãos é também potencialmente importante. Estudos mostraram que a lavagem das mãos com sabão e água ou o hábito de esfregar as mãos com álcool (álcool em gel) é altamente eficaz para reduzir a quantidade de vírus presentes nas mãos humanas.

RESUMO DO CAPÍTULO

- Os vírus *influenza* são os principais agentes virais respiratórios.
- O vírus *influenza* do tipo A apresenta elevada variação antigênica e causa a maioria das epidemias e todas as pandemias globais.
- O vírus *influenza* do tipo B pode apresentar variação antigênica, sendo assim, responsável por alguns casos epidêmicos.
- O vírus *influenza* do tipo C é antigenicamente mais estável.
- O vírus *influenza* do tipo A pode ser isolado de aves aquáticas, patos, perus, porcos e cavalos.
- O genoma viral é composto de RNA de fita simples, segmentado e de sentido negativo.
- Glicoproteínas de superfície, hemaglutinina (HA) e neuraminidase (NA) estão associadas à antigenicidade viral e à imunidade do hospedeiro.
- As mudanças antigênicas menores na HA e na NA, denominadas de **impulso antigênico**, ocorrem aleatoriamente e são causadas pelo acúmulo de mutações pontuais.
- As mudanças antigênicas maiores na HA e na NA, denominadas de **mudança antigênica**, resultam em um novo subtipo de vírus *influenza* e são causadas por rearranjo de segmentos do genoma dos vírus humanos e das aves.

- Uma vez que muitos vírus podem causar infecções respiratórias, o diagnóstico das infecções causadas pelo *influenza*, baseado na sintomatologia clínica, não é confiável, necessitando de confirmação laboratorial.
- A imunidade contra o vírus *influenza* é duradoura, porém subtipo específico. Somente anticorpos anti-HA e anti-NA são protetores.
- Há tanto vacinas inativadas quanto atenuadas, porém constantemente tornam-se obsoletas, quando novas variantes antigênicas do vírus *influenza* aparecem.
- Embora, existam drogas antivirais, o desenvolvimento de resistência é frequente, especialmente para os inibidores de canais de íons M_2 .
- O vírus *influenza* do tipo A aviário é altamente patogênico. O vírus H5N1 causa infecções humanas esporádicas, porém não é observada transmissão pessoa para pessoa.

QUESTÕES DE REVISÃO

- Qual das seguintes afirmativas em relação à prevenção e ao tratamento da *influenza* está correta?
 - Não são recomendadas doses de reforço
 - Os medicamentos que inibem a neuraminidase são ativos somente contra a *influenza* A
 - Como ocorre com qualquer outra vacina atenuada, a vacina contra a *influenza* não deve ser administrada a mulheres grávidas
 - A vacina contra a *influenza* contém diversos sorotipos do vírus
 - As linhagens virais na vacina contra a *influenza* não variam de ano para ano
- Qual das seguintes afirmativas sobre a neuraminidase do vírus *influenza* não é correta?
 - Está embebida na superfície externa do envelope viral
 - Forma uma espícula composta por quatro monômeros idênticos, cada qual com atividade enzimática
 - Facilita a liberação das partículas virais das células infectadas
 - Baixa a viscosidade do filme mucoso no trato respiratório
 - É antigenicamente similar entre todos os vírus *influenza* de mamíferos
- Qual das seguintes afirmativas reflete a patogênese da *influenza*?
 - O vírus penetra no hospedeiro por perdigotos
 - A viremia é comum
 - O vírus estabelece com frequência infecções persistentes no pulmão
 - A pneumonia não está associada a infecções bacterianas secundárias
 - A infecção viral não mata as células no trato respiratório
- Qual dos seguintes sintomas não é típico de *influenza*?
 - Febre
 - Dores musculares
 - Mal-estar
 - Tosse seca
 - Erupção cutânea
- O antígeno (A, B ou C) específico do tipo do vírus *influenza* é encontrado em qual componente viral?
 - Hemaglutinina
 - Neuraminidase
 - Nucleocapsídeo
 - Complexo polimerase
 - Proteína principal não estrutural
 - Lipídeo do envelope viral
- Uma paciente de 70 anos de idade, internada em uma enfermaria, recusou vacinar-se contra a *influenza* e desenvolveu posteriormente um quadro de *influenza*. Morreu de pneumonia aguda uma semana após ter contraído gripe. Qual das seguintes alternativas é a causa mais comum de pneumonia aguda pós-*influenza*?
 - Legionella*
 - Staphylococcus aureus*
 - Sarampo
 - Citomegalovírus
 - Listeria*
- Qual das seguintes afirmativas em relação à mudança antigênica está correta?
 - Resulta nas principais mudanças antigênicas
 - É exibida somente por vírus *influenza* A
 - Deve-se a mutações de fase no genoma viral
 - Resulta em novos subtipos durante o tempo
 - Afeta predominantemente a proteína de matriz
- Um médico de 32 anos de idade apresentou sintomas gripais, como febre, dor de garganta, cefaleia e mialgia. Foi solicitada uma cultura para vírus, a fim de se obter confirmação laboratorial do diagnóstico de *influenza*. Qual das seguintes alternativas seria a melhor amostra para o isolamento do vírus responsável por essa infecção?
 - Fezes
 - Lavado nasofaríngeo
 - Fluido de vesículas
 - Sangue
 - Saliva
- Qual das seguintes afirmativas sobre o isolamento do vírus *influenza* está correta?
 - O diagnóstico de uma infecção por vírus *influenza* só pode ser feito pelo isolamento do vírus
 - O isolamento do vírus *influenza* é feito com o emprego de camundongos recém-nascidos
 - O isolamento do vírus pode ajudar a determinar a epidemiologia da doença
 - Os vírus *influenza* crescem facilmente em cultura de células
- O principal reservatório para as variantes de impulso antigênico do vírus *influenza* parece ser constituído por:
 - Portadores humanos crônicos do vírus
 - Esgoto
 - Porcos, cavalos e galinhas
 - Mosquitos
 - Roedores
- A *influenza* aviária H5N1, altamente patogênica (HPAI), pode infectar seres humanos com uma alta taxa de mortalidade, mas ainda não resultou em pandemia. As alternativas a seguir são características de HPAI, exceto uma. Qual delas não é característica de HPAI?
 - Eficiente transmissão entre seres humanos
 - Presença de genes de *influenza* aviária
 - Eficiente transmissão de aves domésticas
 - Contém genoma de RNA segmentado

12. Qual das seguintes afirmativas sobre os testes diagnósticos para *influenza* é verdadeiro?
- (A) Os sintomas clínicos distinguem com segurança a *influenza* de outras infecções respiratórias
 (B) A cultura viral é o “padrão ouro” dos testes diagnósticos, pois é o ensaio mais rápido
 (C) A resposta de anticorpos do paciente é altamente específica para a linhagem do vírus *influenza* infectante
 (D) A PCR-RT é a técnica preferida em virtude de suas rapidez, sensibilidade e especificidade
13. O mecanismo de “impulso antigênico” inclui todas as afirmações abaixo, *exceto*:
- (A) Envolve a hemaglutinina (HA) e a neuraminidase (NA) viral
 (B) Mutações causadas pela polimerase RNA viral
 (C) Predomina na população hospedeira por pressão seletiva
 (D) Envolve rearranjo entre os reservatórios humano, animal, ou aviário
 (E) Pode envolver genes que codificam proteínas estruturais e não estruturais
14. Todas as afirmações sobre prevenção e tratamento contra o vírus *influenza* estão corretas, *exceto*:
- (A) Vacinas inativadas contêm o vírus H1N1, porém as vacinas atenuadas contêm o vírus H3N2
 (B) É recomendada a administração da vacina a cada ano, devido ao impulso antigênico do agente viral
 (C) O Oseltamivir é um fármaco efetivo contra o vírus *influenza* do tipo A e do tipo B
 (D) O principal antígeno vacinal que induz a produção de antígenos protetores é a hemaglutinina (HA)
15. As seguintes afirmações sobre a antigenicidade do vírus *influenza* do tipo A estão corretas, *exceto*:
- (A) As mudanças antigênicas, que são o principais mecanismos de antigenicidade, ocorrem de forma infrequente e são causadas por rearranjo de segmentos do genoma viral
 (B) As mudanças antigênicas afetam tanto a hemaglutinina quanto a neuraminidase
 (C) Epidemias mundiais causadas pelo vírus *influenza* do tipo A são causadas por mudanças antigênicas
 (D) A proteína envolvida nas mudanças antigênicas é primariamente uma ribonucleoproteína interna
16. Qual dos seguintes agentes infecciosos é a mais provável causa de pandemias?
- (A) Vírus *influenza* do tipo A
 (B) *Streptococcus pyogenes*
 (C) Vírus *influenza* do tipo B
 (D) Vírus respiratório sincicial
 (E) Vírus *influenza* do tipo C

Respostas

- | | | | |
|------|------|-------|-------|
| 1. D | 5. C | 9. C | 13. D |
| 2. E | 6. B | 10. C | 14. A |
| 3. A | 7. D | 11. A | 15. D |
| 4. E | 8. B | 12. D | 16. A |

REFERÊNCIAS

- Antiviral agents for the treatment and chemoprophylaxis of influenza. Recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP). *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2011;60:1.
- Avian influenza fact sheet. *World Health Org Wkly Epidemiol Rec* 2006;81:129.
- Gambotto A, Barratt-Boyes SM, de Jong MD et al.: Human infection with highly pathogenic H5N1 influenza virus. *Lancet* 2008; 371:1464.
- Horimoto T, Kawaoka Y: Influenza: Lessons from past pandemics, warnings from current incidents. *Nat Rev Microbiol* 2005;3:591.
- Influenza vaccination of health-care personnel. Recommendations of the Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee and the Advisory Committee on Immunization Practices. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2006;55(RR-2):1.
- Medina RA, García-Sastre A: Influenza A viruses: New research developments. *Nat Rev Microbiol* 2011;9:590.
- Neumann G, Noda T, Kawaoka Y: Emergence and pandemic potential of swine-origin H1N1 influenza virus. *Nature* 2009;459:931.
- Olsen B, Munster VJ, Wallensten A et al.: Global patterns of influenza A virus in wild birds. *Science* 2006;312:384.
- Palese P, Shaw ML: Orthomyxoviridae: The viruses and their replication. In Knipe DM, Howley PM (editors-in-chief). *Fields Virology*, 5th ed. Lippincott Williams & Wilkins, 2007.
- Prevention and control of influenza with vaccines. Recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP), 2010. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2010;59(RR-8):1.
- Seasonal and pandemic influenza: At the crossroads, a global opportunity. *J Infect Dis* 2006;194(Suppl 2). [Entire issue.] Special section: Novel 2009 influenza A H1N1 (swine variant). *J Clin Virol* 2009;45:169. [10 articles.]
- Swerdlow DL, Finelli L, Bridges CB (guest editors): The 2009 H1N1 influenza pandemic: field and epidemiologic investigations. *Clin Infect Dis* 2011;52(Suppl 1). [Entire issue.]
- Taubenberger JK, Morens DM (guest editors): Influenza. *Emerg Infect Dis* 2006;12:1. [Entire issue.]
- Wright PF, Neumann G, Kawaoka Y: Orthomyxoviruses. In Knipe DM, Howley PM (editors-in-chief). *Fields Virology*, 5th ed. Lippincott Williams & Wilkins, 2007.

Paramixovírus e vírus da rubéola

Os paramixovírus abrangem os agentes mais importantes das infecções respiratórias de lactentes e crianças de pouca idade (vírus sincicial respiratório e vírus *parainfluenza*), bem como os agentes etiológicos de duas das doenças contagiosas mais comuns da infância (caxumba e sarampo). A Organização Mundial de Saúde calcula que, anualmente, as infecções respiratórias agudas e as pneumonias sejam responsáveis pela morte de 4 milhões de crianças com menos de 5 anos. Os paramixovírus constituem os principais patógenos respiratórios nesse grupo etário.

Todos os membros da família **Paramyxoviridae** iniciam a infecção através das vias respiratórias. A replicação dos patógenos respiratórios limita-se ao epitélio respiratório, enquanto o sarampo e a caxumba disseminam-se por todo o organismo, provocando doença generalizada.

O vírus da rubéola, apesar de classificado como togavírus em virtude de suas propriedades químicas e físicas (ver Cap. 29), pode ser considerado com os paramixovírus em termos epidemiológicos.

PROPRIEDADES DOS PARAMIXOVÍRUS

As principais propriedades dos paramixovírus são mostradas no Quadro 40.1.

Estrutura e composição

A morfologia dos **Paramyxoviridae** é pleomórfica, com partículas de 150 nm ou mais de diâmetro, chegando ocasionalmente a 700 nm. A Figura 40.1 mostra uma partícula típica. O envelope dos paramixovírus parece frágil, tornando as partículas virais lábeis a condições de armazenamento e sujeitas a deformação em micrografias eletrônicas.

O genoma viral consiste em RNA de fita simples linear, de sentido negativo, não segmentado, com cerca de 15 kb de tamanho (Fig. 40.2). Como o genoma não é segmentado, não há qualquer oportunidade de rearranjo genético frequente. Em consequência, todos os membros do grupo dos paramixovírus são antigenicamente estáveis.

A maior parte dos paramixovírus contém seis proteínas estruturais. Três proteínas são complexadas com o RNA viral — a nucleoproteína (N), que forma o nucleocapsídeo helicoidal (com 13 ou 18 nm de diâmetro) e representa a principal proteína interna, e duas outras grandes proteínas (designadas por P e

L), provavelmente envolvidas na atividade da polimerase viral que atua na transcrição e na replicação do RNA.

Três proteínas participam na formação do envelope viral. A proteína da matriz (M) localiza-se sob o envelope viral; exhibe afinidade tanto pela N quanto pelas glicoproteínas da superfície viral e é importante na organização do virion. O nucleocapsídeo é circundado por um envelope lipídico repleto de espículas de 8 a 12 nm, constituído de duas glicoproteínas transmembrana diferentes. As atividades dessas lipoproteínas de superfície ajudam a diferenciar os vários gêneros da família **Paramyxoviridae** (Quadro 40.2). A glicoproteína maior (HN ou G) pode apresentar ou não atividades de hemaglutinação e de neuraminidase, sendo responsável pela fixação do vírus à célula hospedeira. É organizada em forma de tetrâmero no virion maduro. A outra glicoproteína (F) atua como mediador para a fusão da membrana e as atividades de hemolisina. Os pneumovírus e metapneumovírus parecem conter duas grandes proteínas de envelope (M2 – 1 e SH).

Classificação

A família **Paramyxoviridae** é dividida em duas subfamílias e sete gêneros, seis dos quais contêm patógenos humanos (Quadro 40.2). Os membros são, em sua maioria, monotípicos

QUADRO 40.1 Propriedades importantes dos paramixovírus

Virion: esférico, pleomórfico, com 150 nm ou mais de diâmetro (nucleocapsídeo helicoidal de 13 a 18 nm)
Composição: RNA (1%), proteínas (73%), lipídeos (20%), carboidratos (6%)
Genoma: RNA de fita simples, linear, não segmentado, de sentido negativo, não infeccioso, com cerca de 15 kb
Proteínas: 6 a 8 proteínas estruturais
Envelope: contém a glicoproteína viral (G, H ou HN) (que às vezes apresenta atividade de hemaglutinina ou neuraminidase) e glicoproteína de fusão (F); muito frágil
Replicação: citoplasma; partículas brotam da membrana plasmática
Características marcantes: antigenicamente estável as partículas são lábeis, porém altamente infecciosas

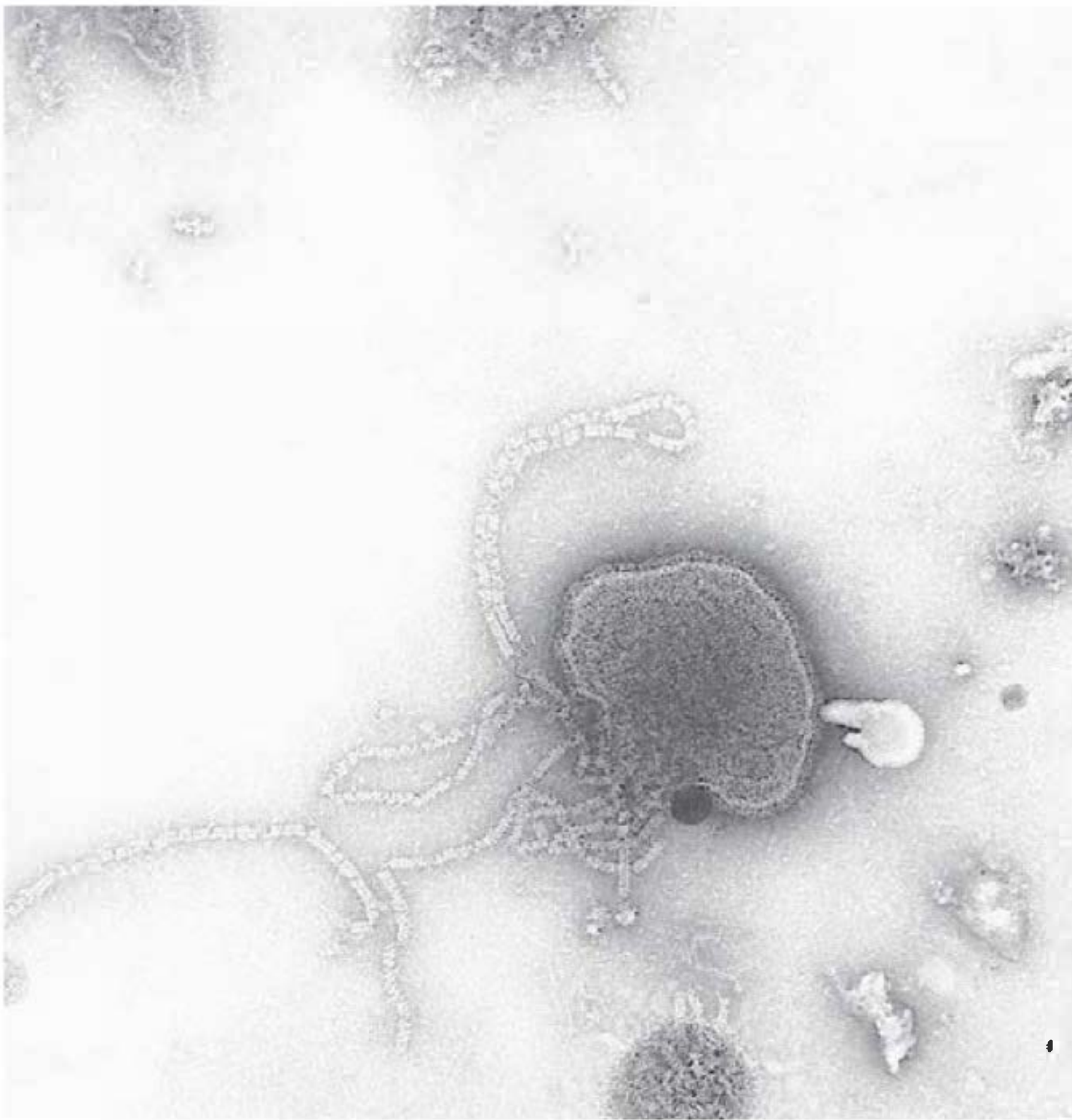


FIGURA 40.1 Ultraestrutura do vírus *parainfluenza* tipo 1. O virion sofreu ruptura parcial, mostrando o nucleocapsídeo. Podem-se observar projeções de superfície ao longo da borda da partícula. (Cortesia de FA Murphy e EL Palmer.)

(i. e., consistem em um único sorotipo), sendo todos antigenicamente estáveis.

O gênero *Respirovirus* contém dois sorotipos dos vírus *parainfluenza* humanos, enquanto o gênero *Rubulavirus* abrange dois outros vírus *parainfluenza*, bem como o vírus da caxumba. Alguns vírus animais estão relacionados com as cepas humanas. O vírus Sendai dos camundongos, o primeiro vírus *parainfluenza*, isolado e atualmente reconhecido como causa de infecção comum em colônias de camundongos, é um subtipo do vírus humano tipo 1. O símio vírus 5 da *parainfluenza* (PIV5), um contaminante comum de células primárias de macaco, é igual ao vírus *parainfluenza* canina tipo 2, enquanto o vírus da febre do gado bovino e do gado ovino é um subtipo do tipo 3. O vírus da doença de Newcastle, o protótipo do vírus *parainfluenza* de aves do gênero *Avulavirus*, também está relacionado com os vírus humanos.

Os membros de um determinado gênero compartilham determinantes antigênicos. Embora os vírus possam ser distinguidos antigenicamente mediante o uso de reagentes bem definidos, a hiperimunização estimula a formação de anticorpos de reação cruzada, que reagem contra os quatro vírus *parainfluenza*, o da caxumba e o da doença de Newcastle. Essas respostas humorais heterotípicas, que incluem anticorpos dirigidos contra proteínas tanto internas quanto superficiais do vírus, são comumente observadas em indivíduos de idade mais avançada. Tal fenômeno dificulta a determinação do tipo infectante mais provável pelo diagnóstico sorológico. Os membros dos gêneros

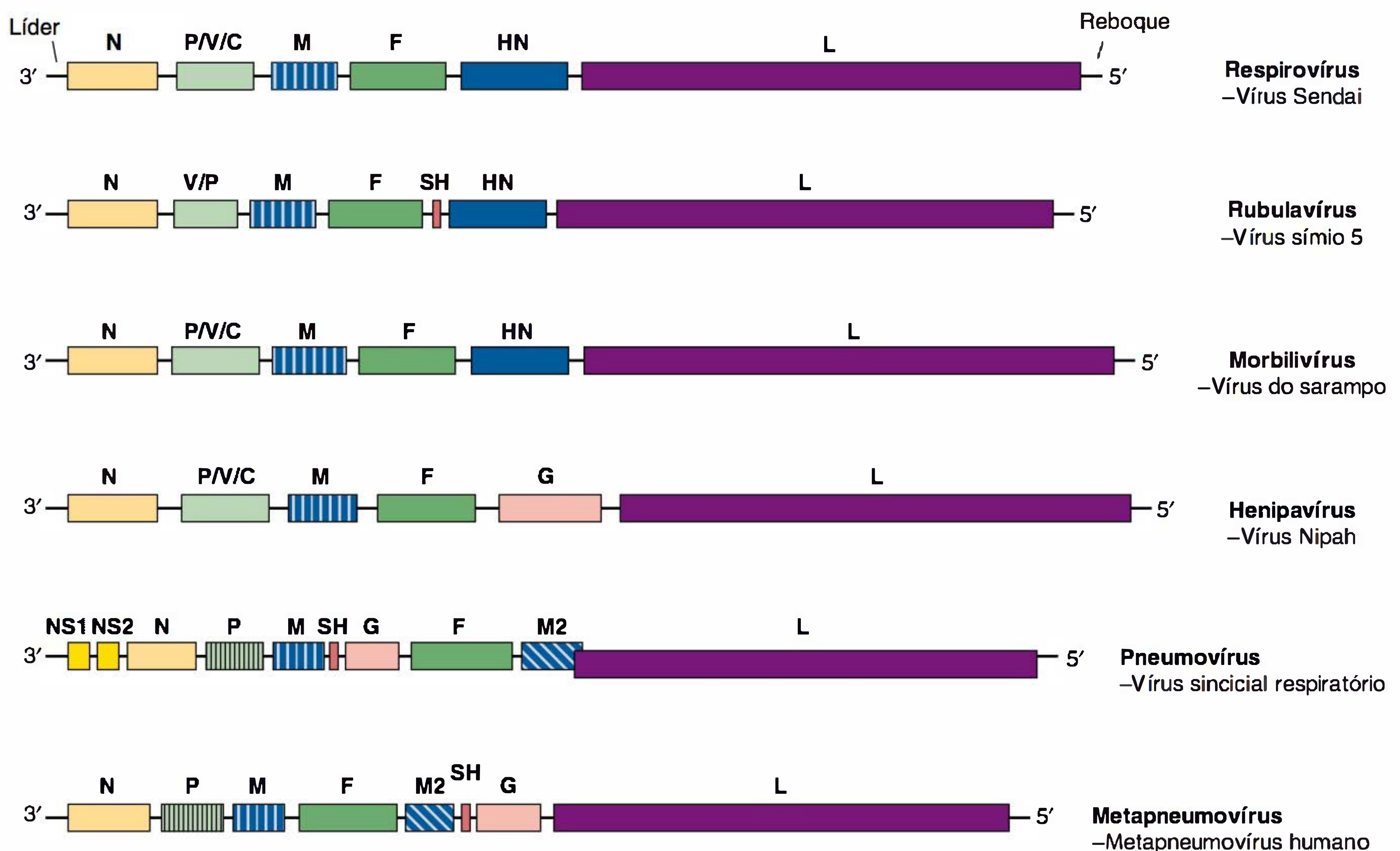


FIGURA 40.2 Mapa genético de membros representativos do gênero da família *Paramyxoviridae*. O tamanho dos genes (boxes) está indicado aproximadamente de acordo com a escala. (Direitos autorais de GD Parks and RA Lamb, 2006.)

QUADRO 40.2 Características dos gêneros das subfamílias da família Paramyxoviridae

Propriedade	Paramyxovirinae				Pneumovirinae	
	<i>Respirovírus</i>	<i>Rubulavírus</i>	<i>Morbilivírus</i>	<i>Henipavírus</i> ^a	<i>Pneumovírus</i>	<i>Metapneumovírus</i>
Vírus humanos	<i>Parainfluenza</i> 1, 3	Caxumba, <i>parainfluenza</i> 2, 4a, 4b	Sarampo	Hendra, Nipah	Vírus sincicial respiratório	Metapneumovírus humano
Sorotipos	1 de cada	1 de cada	1	?	2	Diversos
Diâmetro do nucleocapsídeo (nm)	18	18	18	18	13	13
Fusão de membrana (proteína F)	+	+	+	+	+	+
Hemolisina ^b	+	+	+	?	0	0
Hemaglutinina ^c	+	+	+	0	0	0
Hemadsorção	+	+	+	0	0	0
Neuraminidase ^c	+	+	0	0	0	0
Inclusões	C	C	N, C	C	C	?

^a Paramixovírus zoonóticos.

^b Atividade de hemolisina desempenhada pela glicoproteína F.

^c Atividades de hemaglutinação e neuraminidase desempenhadas pela glicoproteína HN dos respirovírus e rubulavírus; a glicoproteína H do morbilivírus perde a atividade de neuraminidase; a glicoproteína G dos outros paramixovírus perde ambas as atividades.

C, citoplasma; N, núcleo.

Respirovirus e *Rubulavirus* têm atividades de hemaglutinina e de neuraminidase, ambas desempenhadas pela glicoproteína HN, bem como propriedades de fusão da membrana e de hemolisina, que constituem funções da proteína F.

O gênero *Morbilivirus* compreende o vírus do sarampo nos seres humanos, bem como o vírus da cinomose canina, o vírus da peste bovina e os morbilivírus aquáticos que infectam mamíferos marinhos. Tais vírus estão antigenicamente relacionados entre si, mas não com membros dos outros gêneros. A proteína F é altamente conservada entre os morbilivírus, enquanto as proteínas HN/G exibem maior variabilidade. O vírus do sarampo tem atividade de hemaglutinina, mas carece de atividade de neuraminidase. O vírus do sarampo induz a formação de inclusões intranucleares, o que não ocorre com os outros paramixovírus.

O gênero *Henipavirus* contém paramixovírus zoonóticos capazes de infectar e causar doença em seres humanos. Os vírus Hendra e Nipah, presentes em morcegos frugívoros, são membros deste gênero. Esses vírus não apresentam atividade neuraminidase.

Os vírus sinciciais respiratórios (*respiratory syncytial viruses* [VSR]) dos seres humanos e do gado bovino, bem como o vírus da pneumonia dos camundongos pertencem ao gênero *Pneumovirus*. Existem duas cepas antigenicamente distintas do VSR em seres humanos, subgrupos A e B. A glicoproteína de superfície maior dos pneumovírus carece das atividades de hemaglutinina e de neuraminidase características dos respirovírus e dos rubulavírus, de modo que foi denominada proteína G. A proteína F do VSR exibe atividade de fusão da membrana, mas carece de atividade de hemolisina. Os novos patógenos

respiratórios de seres humanos são classificados no gênero *Metapneumovirus*.

Replicação dos paramixovírus

A Figura 40.4 ilustra o ciclo típico de replicação dos paramixovírus.

A. Fixação, penetração e desnudamento do vírus

Os paramixovírus fixam-se às células hospedeiras através da glicoproteína hemaglutinina (proteínas HN, H ou G). No caso do vírus do sarampo, o receptor é a molécula CD46 ou da molécula CD150 de membrana. Em seguida, o envelope do virion funde-se com a membrana celular através da ação da glicoproteína de fusão F_1 , produto de clivagem. A proteína F_1 sofre um complexo rearranjo durante o processo viral de fusão com a membrana celular. Se o precursor F_0 não for clivado, não haverá atividade de fusão; nessa circunstância, não ocorrerá penetração do virion, e a partícula viral será incapaz de iniciar a infecção. A fusão por F_1 ocorre a pH neutro do ambiente extracelular, permitindo a liberação do nucleocapsídeo viral diretamente na célula. Por conseguinte, os paramixovírus são capazes de evitar a internalização através dos endossomos.

B. Transcrição, tradução e replicação do RNA

Os paramixovírus contêm um genoma RNA de fita negativa, não segmentado. As transcrições de RNA mensageiros são efetuadas no citoplasma da célula pela RNA-polimerase viral.

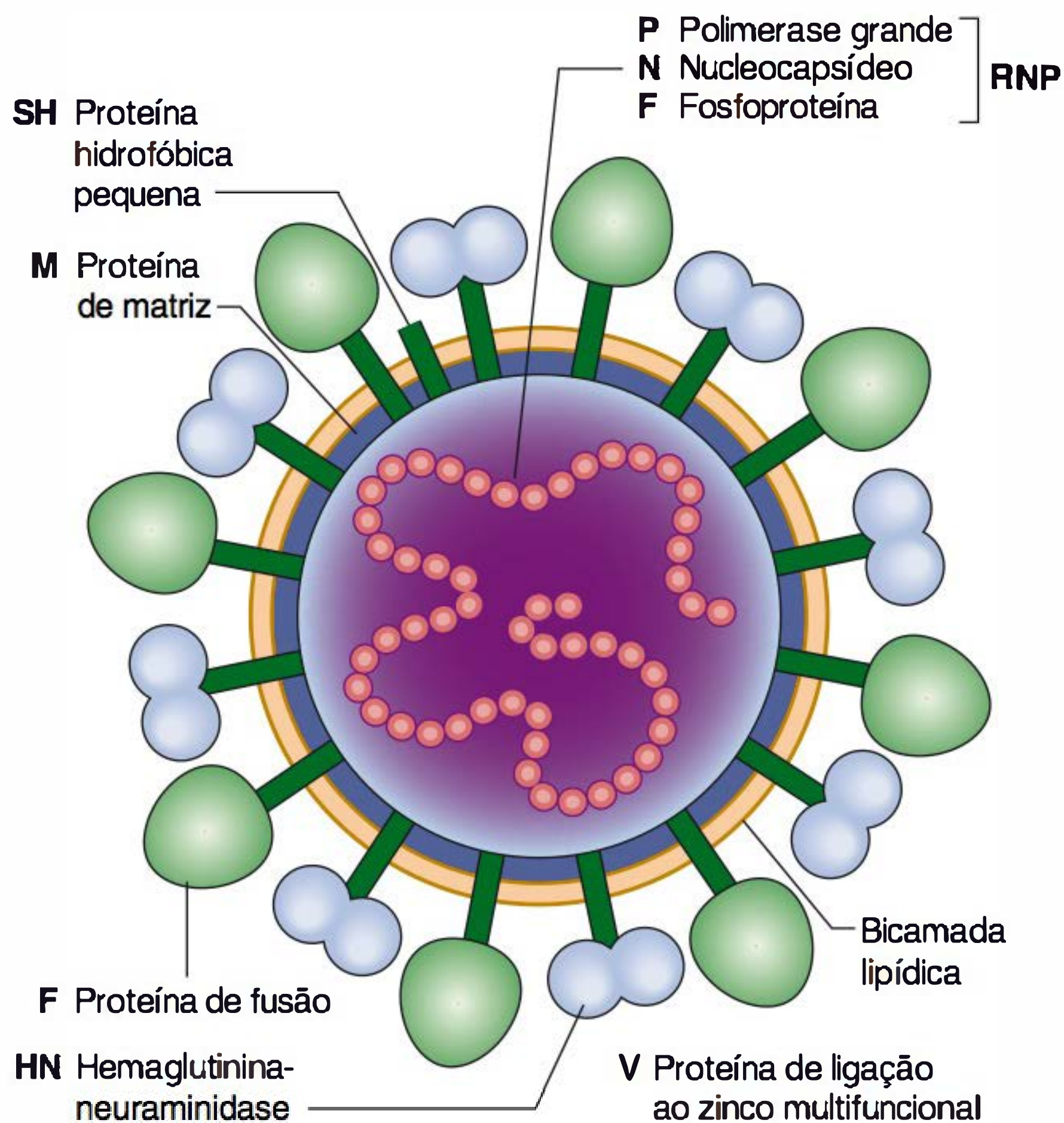


FIGURA 40.3 Diagrama esquemático de um paramixovírus que mostra os principais componentes (não desenhados de acordo com a escala). A matriz viral (M) está subjacente à bicamada lipídica. Inseridas na membrana viral estão a glicoproteína de fixação com atividade de hemaglutinina-neuraminidase (HN) e a glicoproteína de fusão (F). No interior do vírus, encontra-se o RNA do virion de fita negativa, encerrado na proteína do nucleocapsídeo (N). Associadas ao nucleocapsídeo estão as proteínas P e F; esse complexo em seu conjunto apresenta atividade de RNA-transcriptase dependente do RNA. A proteína V é encontrada somente em virions de rubulavírus. (Direitos autorais de GD Parks and RA Lamb, 2006.)

Não há necessidade de modelos exógenos, e, por conseguinte, o processo não depende das funções do núcleo da célula. Os RNAm são muito menores que o genoma, e cada um deles representa um único gene. As sequências reguladoras da transcrição nos limites do gene assinalam o início e o término da transcrição. A posição de um gene com relação à extremidade 3' do genoma correlaciona-se com a eficiência da transcrição. A classe mais abundante de transcrições produzidas por uma célula infectada provém do gene NP, situado mais próximo da extremidade 3' do genoma, enquanto a menos abundante é a do gene L, localizado na extremidade 5' (Fig. 40.2).

As proteínas virais são sintetizadas no citoplasma, e a quantidade de cada produto gênico corresponde ao nível de transcrições de RNAm a partir desse gene. As glicoproteínas virais são sintetizadas e glicosiladas na via secretora.

O complexo proteico da polimerase viral (proteínas P e L) também é responsável pela replicação do genoma viral. Para a síntese bem-sucedida de um modelo intermediário antígenômico de fita positiva, o complexo da polimerase deve descartar os sinais de terminação dispersos nos limites dos genes. Em seguida, todo o genoma completo da progênie é copiado a partir do modelo antígenômico.

O genoma não segmentado dos paramixovírus anula a possibilidade de qualquer recombinação de segmentos

gênicos (*i. e.*, rearranjo genético) tão importante na história natural dos vírus *influenza*. As proteínas de superfície HN/H/G e F dos paramixovírus exibem variação antigênica mínima durante longos períodos. É surpreendente que não sofram mudança antigênica em consequência de mutações introduzidas durante a replicação, visto que as RNA-polimerases são propensas a erros. Uma possível explicação é que quase todos os aminoácidos nas estruturas primárias das glicoproteínas dos paramixovírus podem estar envolvidos em papéis estruturais ou funcionais, dando pouca oportunidade à ocorrência de substituições que não diminuiriam acentuadamente a viabilidade do vírus.

C. Maturação

O vírus amadurece por brotamento a partir da superfície celular. Os nucleocapsídeos da progênie são formados no citoplasma e migram para a superfície celular. Ligam-se a locais na membrana plasmática repletos de espículas das glicoproteínas virais HN/H/G e F. A proteína M é essencial para a formação de partículas, provavelmente ao atuar na ligação do envelope viral ao nucleocapsídeo. Durante o brotamento, a maioria das proteínas da célula hospedeira é excluída da membrana.

A atividade neuraminidase da proteína HN dos vírus *parainfluenza* e do vírus da caxumba funciona evitando a autoagregação das partículas virais. Outros paramixovírus carecem de atividade de neuraminidase (Quadro 40.2).

Na presença de proteases adequadas na célula hospedeira, as proteínas F₀ na proteína plasmática serão ativadas por clivagem. Em seguida, a proteína de fusão ativada induz a fusão de membranas celulares adjacentes com a consequente formação de grandes sincícios (Fig. 40.5). A formação de sincício é uma resposta comum à infecção por paramixovírus. Verifica-se a formação regular de inclusões citoplasmáticas acidofílicas (Fig. 40.5). Acredita-se que as inclusões podem refletir locais de síntese viral, e foi constatado que elas contêm nucleocapsídeos e proteínas virais. O vírus do sarampo também produz inclusões intranucleares (Fig. 40.5).

INFECÇÕES POR VÍRUS PARAINFLUENZA

Os vírus *parainfluenza* são ubiqüitários, provocando doenças respiratórias comuns em indivíduos de todas as idades. Constituem os principais patógenos de doença grave das vias respiratórias em lactentes e crianças de pouca idade. Apenas o VSR, e talvez o metapneumovírus humano, provoca mais casos de doença respiratória grave em crianças. Reinfecções com o vírus *parainfluenza* são comuns.

Patogênese e patologia

A replicação do vírus *parainfluenza* em hospedeiros imunocompetentes parece limitar-se ao epitélio respiratório. A viremia, se é que ocorre, mostra-se rara. A infecção pode acometer apenas o nariz e a garganta, resultando em uma síndrome de "resfriado comum" inócua. Entretanto, a infecção pode ser mais extensa e, particularmente no caso dos tipos 1 e 2, acometer a laringe, bem como a parte superior da traqueia, resultando

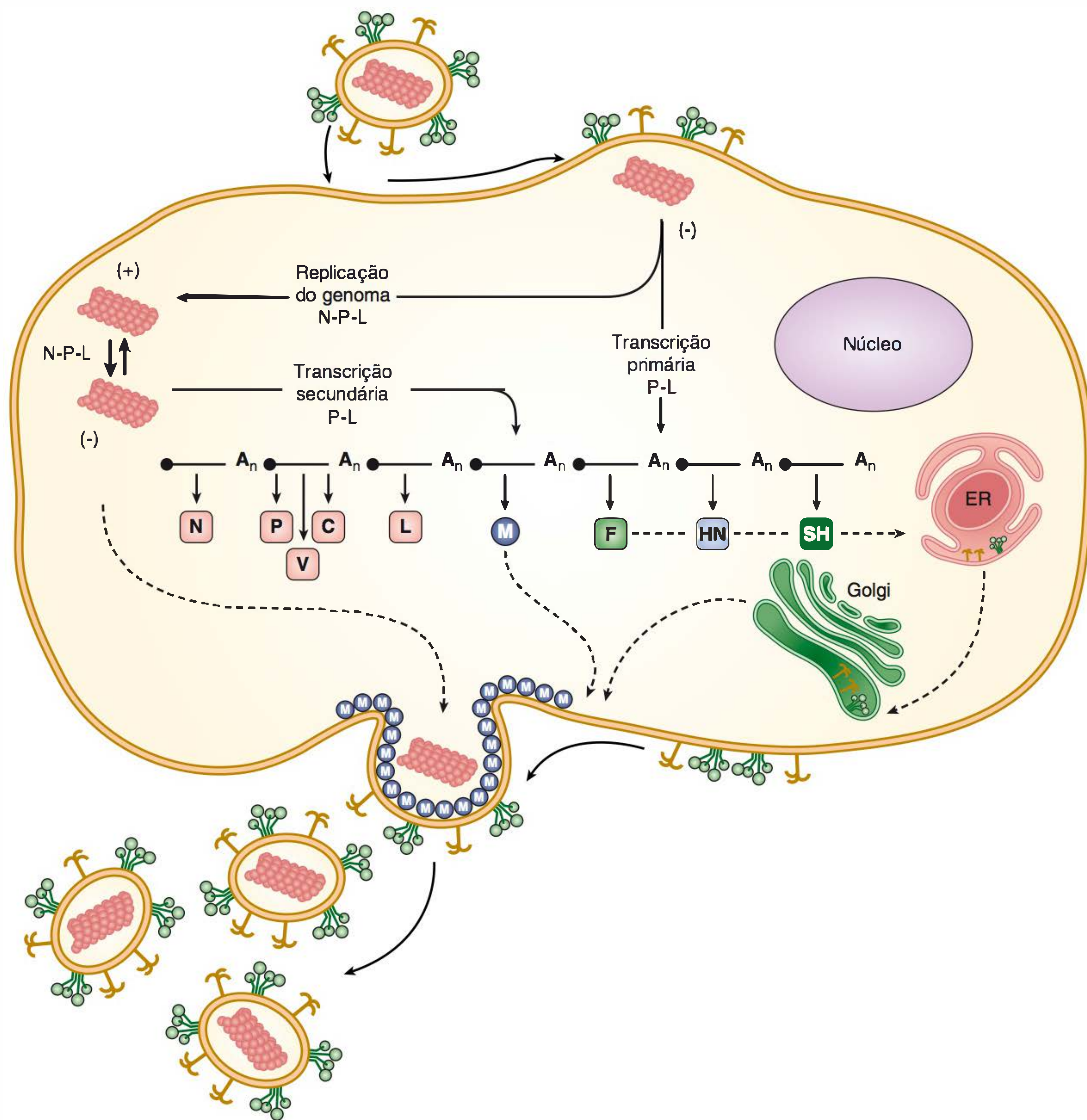


FIGURA 40.4 Ciclo vital de paramixovírus. A partícula viral infectante funde-se com a membrana plasmática e libera o nucleocapsídeo viral no citoplasma. As linhas cheias representam a transcrição e replicação do genoma. As linhas grossas indicam transporte das proteínas virais recém-sintetizadas para a membrana plasmática. A progênie de virions é liberada da célula por um processo de brotamento. O ciclo completo de replicação do paramixovírus ocorre no citoplasma celular. (Direitos autorais de GD Parks and RA Lamb, 2006.)

em crupe (laringotraqueobronquite), que se caracteriza por obstrução respiratória decorrente de edema da laringe e das estruturas relacionadas. A infecção pode propagar-se mais profundamente até a parte inferior da traqueia e os brônquios, culminando em pneumonia ou bronquiolite, particularmente pelo vírus tipo 3, mas a uma frequência menor do que a observada para o VSR.

A presença do vírus *parainfluenza* ocorre durante cerca de 1 semana após o início da doença, podendo algumas crianças excretar o vírus alguns dias antes do aparecimento da doença. O tipo 3 pode ser excretado até 4 semanas após o início

da doença primária. A proliferação persistente entre crianças facilita a disseminação da infecção. A disseminação viral prolongada pode ocorrer em crianças com o sistema imunológico comprometido e em adultos com doença pulmonar crônica.

Os fatores que determinam a gravidade da doença pelo vírus *parainfluenza* não estão bem esclarecidos, mas incluem propriedades tanto dos vírus quanto do hospedeiro, como suscetibilidade da proteína à clivagem por diferentes proteases, produção de uma protease apropriada pelas células do hospedeiro, estado imunológico do paciente e hiper-reatividade das vias respiratórias.

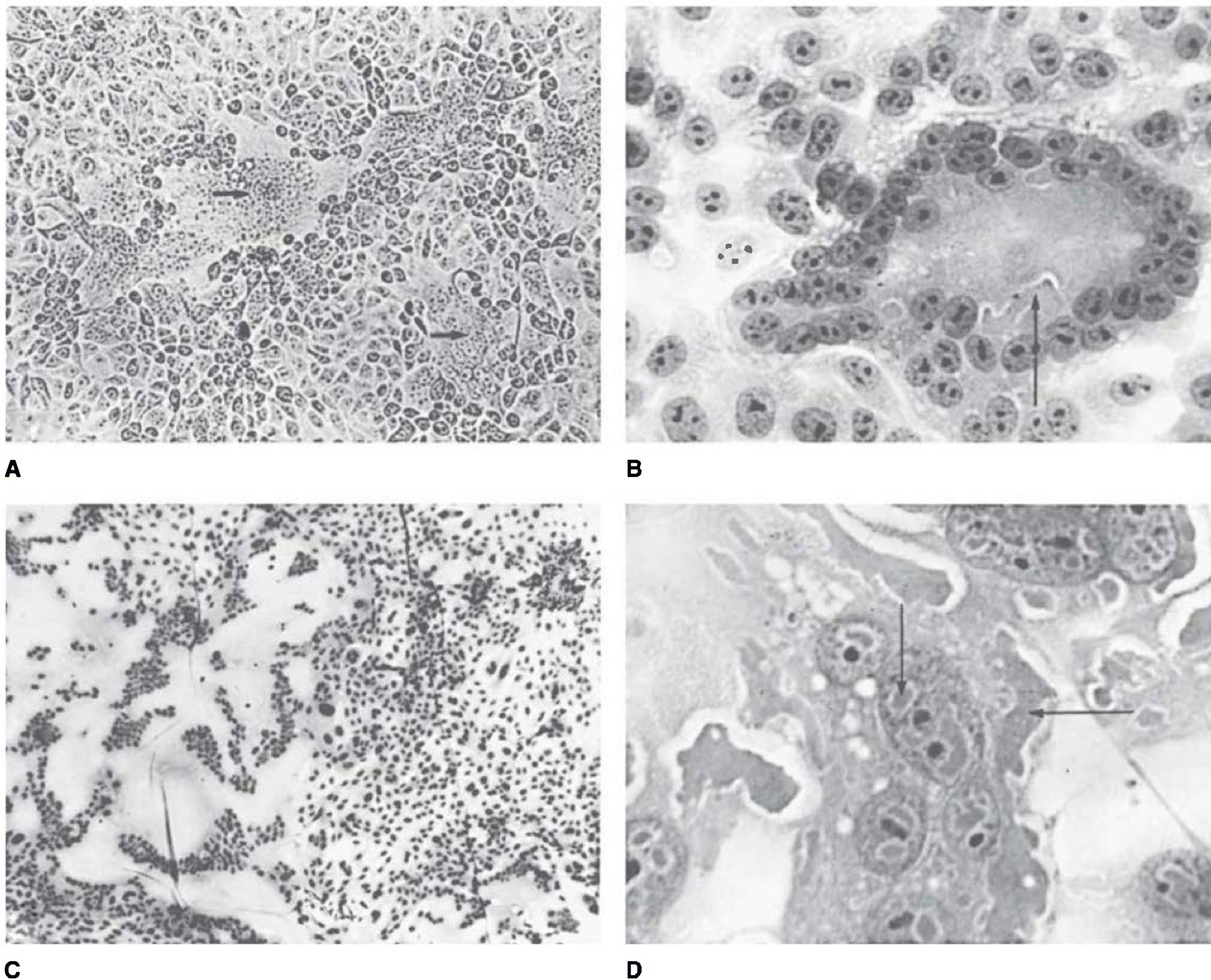


FIGURA 40.5 Formação sincicial induzida por paramixovírus. (A) Vírus sincicial respiratório em células MA104 (não coradas; ampliada 100 vezes). Os sincícios (setas) resultam da fusão das membranas plasmáticas; os núcleos acumulam-se no centro. (B) Vírus sincicial respiratório em células HEp-2 (coloração por H&E; ampliada 400 vezes). O sincício contém inúmeros núcleos e inclusões citoplasmáticas acidofílicas (setas). (C) Vírus do sarampo em células renais humanas (coloração por H&E; ampliada 30 vezes). O enorme sincício contém centenas de núcleos. (D) Vírus do sarampo em células renais humanas (coloração por H&E; ampliada 400 vezes). A célula gigante multinuclear contém inclusões nucleares acidofílicas (seta vertical) e inclusões citoplasmáticas (seta horizontal). (Utilizada, com autorização, de I Jack.)

A produção de anticorpos IgE específicos do vírus durante a infecção primária é associada a doença grave. O mecanismo pode envolver a liberação de mediadores de inflamação que alteram as funções das vias respiratórias.

Manifestações clínicas

No Quadro 30.4, mostramos a importância relativa dos vírus *parainfluenza* como causa de doenças respiratórias em diferentes grupos etários. Sua presença nas infecções do trato respiratório inferior em crianças é mostrada na Figura 40.6.

As infecções primárias em crianças de pouca idade resultam, em geral, em rinite e faringite, frequentemente com febre e certo grau de bronquite. Todavia, as crianças com infecções primárias causadas por vírus *influenza* tipos 1, 2 ou 3 podem apresentar doença grave, que varia desde laringotraqueíte e crupe (particularmente no caso dos vírus tipos 1 e 2) até bronquiolite e pneumonia (sobretudo com o vírus tipo 3). Doença grave associada ao vírus tipo 3 é observada principalmente em lactentes com menos de 6 meses de vida, enquanto o crupe ou a laringotraqueobronquite têm maior probabilidade de ocorrer em crianças de mais idade, entre os 6 e os 18 meses. Mais de

50% das infecções iniciais com o vírus *parainfluenza* tipos 1, 2 e 3 resultam em doença febril. Estima-se que somente 2 a 3% desenvolvam crupe. O vírus *parainfluenza* tipo 4 não provoca doença grave mesmo na primeira infecção.

A complicação mais comum das infecções pelo vírus *parainfluenza* é otite média.

Crianças e adultos imunocomprometidos são suscetíveis a infecções graves. As taxas de mortalidade das infecções pelo vírus *parainfluenza* em pacientes que sofreram transplante de medula óssea variam de 10 a 20%.

O vírus da doença de Newcastle é um paramixovírus de aves que produz pneumoencefalite em pintos e “*influenza*” em aves mais velhas. Em seres humanos, pode provocar inflamação da conjuntiva. A recuperação é completa em 10 a 14 dias. Nos seres humanos, a infecção constitui uma doença ocupacional limitada a pessoas que manipulam aves infectadas.

Imunidade

Os vírus *parainfluenza* tipos 1, 2 e 3 são sorotipos distintos que perdem de maneira significativa a neutralização cruzada (Quadro 40.2). Praticamente todos os lactentes apresentam

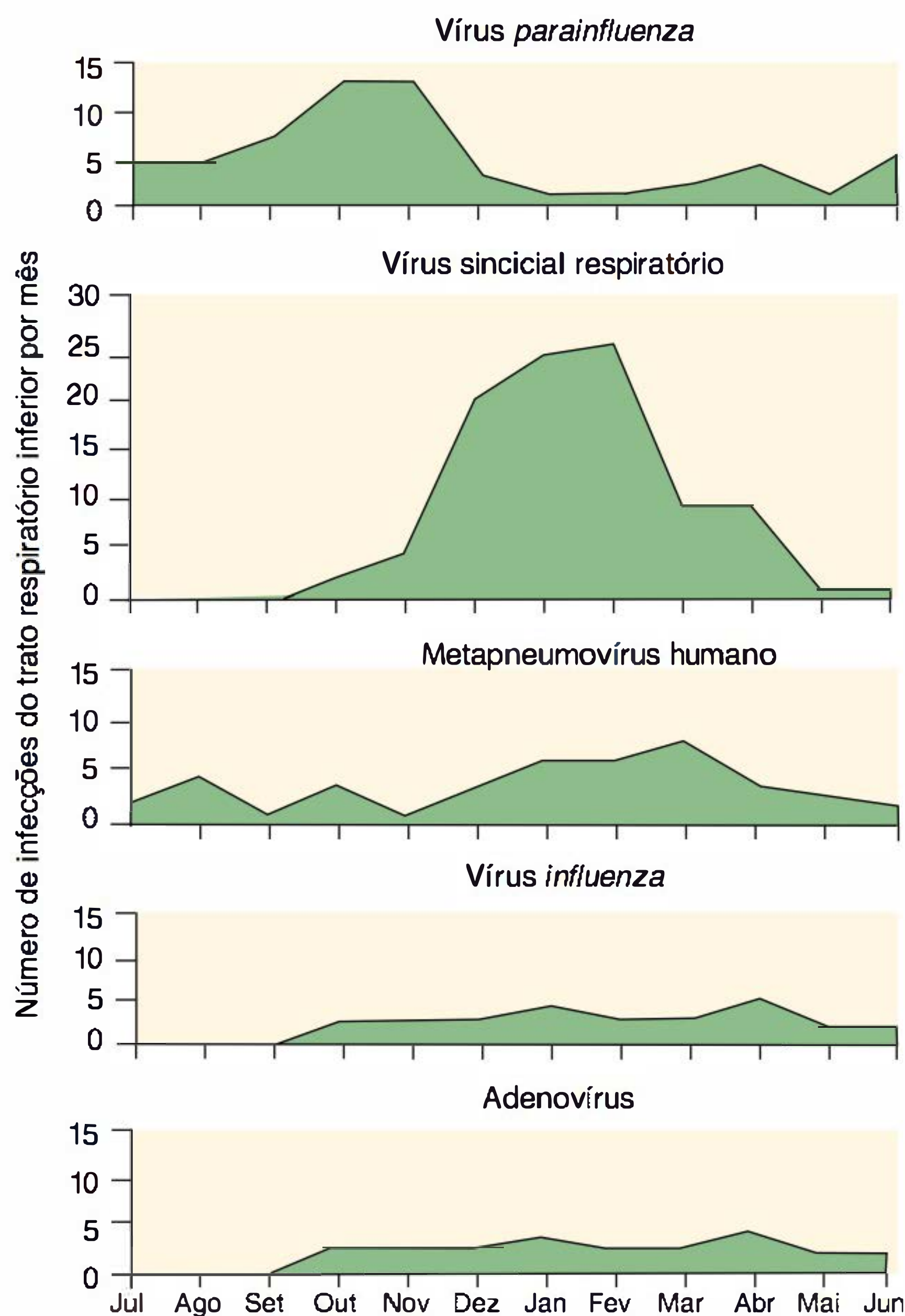


FIGURA 40.6 Padrões de infecções do trato respiratório inferior em crianças em geral e lactentes com paramixovírus, bem como outros vírus. Dados de 25 anos de vigilância* (1976 a 2001), envolvendo 2.009 crianças do nascimento até os 5 anos de idade. (Reproduzida, com autorização, de Williams JV, Harris PA, Tollefson SJ, et al.: Human metapneumovirus and lower respiratory tract disease in otherwise healthy infants and children. *N Engl J Med* 2004;350:443-450. 2004 Massachusetts Medical Society.)

*N. de R.T. Dados referentes aos EUA.

anticorpos maternos dirigidos contra os vírus no soro; todavia, esses anticorpos não impedem a infecção nem a doença. A reinfecção de crianças de mais idade e adultos também ocorre na presença de anticorpos produzidos durante uma infecção anterior. Entretanto, esses anticorpos modificam a doença, pois as referidas reinfecções manifestam-se em geral apenas em forma de infecções afebris das vias respiratórias superiores (resfriados).

A infecção natural estimula o aparecimento de anticorpos IgA nas secreções nasais, bem como resistência concomitante à reinfecção. Os anticorpos IgA secretores são os mais importantes para conferir proteção contra a reinfecção; todavia, desaparecem em poucos meses. Por conseguinte, as reinfecções são comuns mesmo em adultos.

Os anticorpos séricos são feitos contra as proteínas de superfície virais HN e F, mas seu papel na determinação da resistência é desconhecido. Quando ocorrem reinfecções sucessivas, a resposta humoral torna-se menos específica devido aos determinantes antigênicos compartilhados pelos vírus

parainfluenza e pelo vírus da caxumba, o que dificulta o diagnóstico do paramixovírus específico associado a determinada infecção por ensaios sorológicos.

Diagnóstico laboratorial

Os testes de amplificação do ácido nucleico são os métodos de diagnóstico de escolha, pois apresentam boa sensibilidade, especificidade e rapidez, sendo capazes de detectar uma grande gama de vírus. Métodos de detecção de antígenos também são úteis para diagnóstico rápido. A resposta imunológica à infecção inicial pelo vírus *parainfluenza* é tipo-específica. Entretanto, com infecções repetidas, a resposta torna-se menos específica, e as reações cruzadas estendem-se mesmo ao vírus da caxumba. O diagnóstico definitivo baseia-se no isolamento do vírus a partir de amostras apropriadas.

A. Detecção do ácido nucleico

A reação em cadeia da polimerase após transcrição reversa (RT-PCR) pode ser usada para detecção do RNA viral, a partir de lavado nasofaríngeo ou nasal e *swab* de orofaringe. Contudo, esses testes não estão disponíveis em todos os laboratórios. Análises de sequenciamento são úteis em estudos de epidemiologia molecular das infecções, pelo vírus *parainfluenza*.

B. Detecção do antígeno

Com frequência, efetua-se a identificação direta dos antígenos virais em amostras. Os antígenos podem ser detectados em células esfoliadas da nasofaringe por testes de imunofluorescência direta ou indireta. Esses métodos são rápidos e simples de serem realizados, porém são menos sensíveis. O uso de reagentes imunológicos altamente específicos é essencial para identificação de sorotipos específicos. Em alguns locais, esses são os únicos métodos de diagnóstico disponíveis.

C. Isolamento e identificação do vírus

Os métodos rápidos de cultura de células podem detectar um número de vírus respiratórios capazes de serem cultiváveis *in vitro*. Porém, são mais lentos em fornecer resultados, do que os testes de detecção do ácido nucleico, ou de antígenos e não são capazes de detectar facilmente infecções mistas. Os lavados nasais constituem boas amostras para isolamento do vírus. Uma linhagem celular contínua de rim de macaco, LLC-MK₂, é apropriada para isolamento do vírus *parainfluenza*. A inoculação imediata de amostras em culturas de células é importante para o isolamento bem-sucedido do vírus, uma vez que a infeciosidade viral declinará rapidamente se as amostras forem conservadas.

Para o rápido estabelecimento do diagnóstico, as amostras devem ser inoculadas em células em crescimento sobre lamínulas em frascos (*shell vials*) e incubadas. Após 1 a 3 dias, as células devem ser fixadas e testadas por imunofluorescência.

Os vírus *parainfluenza* crescem lentamente, exercendo pouquíssimos efeitos citopáticos. Outra maneira de se detectar a presença do vírus consiste em proceder à hemadsorção, utilizando eritrócitos de cobaia. Conforme a quantidade de vírus podem ser necessários 10 dias ou mais de incubação a fim de

que as culturas se tornem positivas para hemadsorção positiva. A cultura é necessária, caso o isolamento seja necessário para fins de pesquisa.

D. Sorologia

O diagnóstico sorológico baseia-se em amostras de soro pareadas. É possível medir as respostas humorais utilizando testes de neutralização, inibição da hemaglutinação ou Elisa. A elevação nos títulos de 4 vezes indica infecção por vírus *parainfluenza*, bem como o surgimento de anticorpos IgM específicos. Entretanto, devido ao problema dos antígenos compartilhados, é impossível confiar no tipo viral específico envolvido.

Epidemiologia

Os vírus *parainfluenza* constituem a principal causa de doença das vias respiratórias inferiores em crianças de pouca idade (Fig. 40.6); exibem ampla distribuição geográfica. O tipo 3 é o mais prevalente, sendo cerca de 66% das crianças infectadas durante o primeiro ano de vida, e praticamente todas apresentando anticorpos dirigidos contra o vírus tipo 3 em torno de 2 anos de idade. As infecções com os tipos 1 e 2 ocorrem a taxas baixas, alcançando prevalências em torno de 75 e 60%, respectivamente, aos 5 anos de idade.

O tipo 3 é endêmico, com alguma elevação na primavera, enquanto os tipos 1 e 2 tendem a causar epidemias durante o outono ou o inverno, geralmente em ciclos de 2 anos.

As reinfecções são comuns durante a infância e, em adultos, resultam em doenças leves das vias respiratórias superiores. Sessenta e sete por cento das crianças são reinfetadas com o vírus *parainfluenza* tipo 3 durante o segundo ano de vida. As reinfecções podem exigir a hospitalização dos adultos com doenças pulmonares crônicas (p. ex., asma).

Os vírus *parainfluenza* são transmitidos por contato direto entre pessoas ou por contato com aerossóis. O tipo 1 foi isolado de amostras de ar coletado das proximidades de pacientes infectados. A infecção pode ocorrer pela boca e pelos olhos.

Em geral, os vírus *parainfluenza* são introduzidos em um grupo de crianças em idade pré-escolar e, em seguida, propagam-se rapidamente de uma pessoa para outra. O período de incubação parece ser de 5 a 6 dias. Em geral, o vírus tipo 3 infecta particularmente todos os indivíduos suscetíveis de uma população semifechada, como família ou berçário, em um curto período. Os vírus *parainfluenza* representam causas problemáticas de infecção em enfermarias pediátricas em hospitais. Outras situações de alto risco incluem creches e escolas.

Tratamento e prevenção

São necessárias precauções com o isolamento para administrar os surtos hospitalares dos vírus *parainfluenza*. As normas consistem em restrição de visitas, isolamento dos pacientes infectados e lavagem das mãos pelos agentes de saúde.

O antiviral ribavirina foi usado com algum benefício no tratamento de pacientes imunocomprometidos com doença do trato respiratório inferior.

Não existe vacina disponível.

INFECÇÕES PELO VÍRUS SINCIAL RESPIRATÓRIO (VSR)

O VSR constitui a causa mais importante de doença das vias respiratórias inferiores em lactentes e crianças de pouca idade, superando geralmente os outros patógenos microbianos como causa da bronquiolite e pneumonia em lactentes com menos de 1 ano de idade. Estima-se que esse vírus seja responsável por cerca de 25% dos casos de hospitalização de crianças, devido a doença respiratória, nos EUA.

Patogênese e patologia

A replicação do VSR ocorre inicialmente nas células epiteliais da nasofaringe. O vírus pode disseminar-se para as vias respiratórias inferiores e causar bronquiolite e pneumonia. Podem-se detectar antígenos virais no trato respiratório superior e nas células epiteliais. Raramente ocorre viremia.

O período de incubação entre a exposição e o início da doença é de 3 a 5 dias. A disseminação do vírus pode persistir por 1 a 3 semanas em crianças, enquanto em adultos ocorre por apenas 1 a 2 dias. Altos títulos virais estão presentes nas secreções do trato respiratório superior de crianças. O tamanho do inóculo é um determinante importante para o sucesso da infecção em adultos (bem como em crianças).

A integridade do sistema imunológico parece importante para a resolução da infecção, visto que os pacientes com comprometimento da imunidade celular podem tornar-se persistentemente infectados pelo VSR, eliminando-o durante alguns meses.

Apesar de as vias respiratórias de lactentes recém-nascidos serem estreitas e sofrerem obstrução mais rápida em consequência de inflamação e edema, apenas um subgrupo de lactentes desenvolve doença grave pelo VSR. Tem sido relatado que a suscetibilidade à bronquiolite está ligada geneticamente ao polimorfismo nos genes da imunidade inata.

Manifestações clínicas

O espectro da doença respiratória causada pelo VSR varia de infecção inaparente ou resfriado comum, e pneumonia em crianças, até bronquiolite em lactentes muito jovens. A bronquiolite é uma síndrome clínica distinta associada a esses vírus. Cerca de 33% das infecções primárias pelo VSR envolvem comprometimento das vias respiratórias inferiores de forma grave o suficiente para requerer atenção médica. A criança pode apresentar sibilos. Quase 2% dos lactentes infectados requerem internação, resultando em uma estimativa de 75.000 a 125.000 hospitalizações por ano, nos EUA, com um pico de ocorrência aos 2 a 3 meses de vida. Tem sido relatado uma elevada carga viral nas secreções respiratórias, como indicativo de hospitalização prolongada.

A evolução dos sintomas pode ser muito rápida, culminando em morte. Com a disponibilidade das modernas unidades de tratamento intensivo pediátricas, a taxa de mortalidade em lactentes normais é baixa (cerca de 1% dos pacientes hospitalizados). Entretanto, se a infecção pelo VSR se sobrepuser a alguma doença preexistente, como cardiopatia congênita, a taxa de mortalidade poderá ser elevada.

É comum a ocorrência de reinfecção tanto em crianças quanto em adultos, embora tenda a ser sintomática em geral

a doença limita-se às vias respiratórias superiores, lembrando um resfriado em indivíduos saudáveis.

As infecções pelo VSR respondem por cerca de 33% das infecções respiratórias em pacientes com transplante de medula óssea. Desenvolve-se pneumonia em cerca de 50% dos adultos e crianças imunocomprometidos, especialmente se a infecção ocorrer no período inicial do pós-transplante. As taxas de mortalidade relatadas variam de 20 a 80%.

As infecções em idosos podem causar sintomas similares aos da *influenza*. Pode ocorrer pneumonia. Estima-se que a prevalência do vírus sincicial respiratório, em unidades de tratamento de longa duração, apresentem taxas de infecção de 5 a 10%, pneumonia em 10 a 20% dos infectados e taxas de mortalidade de 2 a 5%.

Crianças que sofreram bronquiolite e pneumonia pelo VSR quando lactentes e, aparentemente, se recuperaram por completo muitas vezes apresentam anormalidades da função pulmonar durante vários anos. Todavia, não foi constatada qualquer relação de causa e efeito entre as infecções pelo VSR e as anormalidades em longo prazo. É possível que certos indivíduos tenham alguns traços fisiológicos subjacentes que os predisponham a infecções graves pelo vírus sincicial respiratório e a anormalidades pulmonares crônicas.

O VSR constitui um importante agente etiológico de otite média. Estima-se que 30 a 50% dos episódios ocorridos durante o inverno em crianças podem ser devidos a infecção pelo VSR.

Imunidade

Acredita-se que os níveis elevados de anticorpos neutralizantes transmitidos da mãe para o feto e que permanecem durante os primeiros meses de vida sejam de suma importância na imunidade protetora contra doenças do trato respiratório inferior. A doença grave pelo VSR surge em lactentes de 2 a 4 meses, quando ocorre o declínio dos níveis de anticorpos maternos. Entretanto, a infecção primária e reinfeção podem ocorrer na presença de anticorpos virais. Os anticorpos séricos neutralizantes parecem estar fortemente relacionados com imunidade contra doença do trato respiratório inferior, mas não do trato respiratório superior.

O VSR não constitui um indutor eficaz do interferon, diferentemente das infecções causadas pelos vírus *influenza* e *parainfluenza*, em que os níveis de interferon mostram-se elevados e correlacionam-se com o desaparecimento do vírus.

Verifica-se a produção de anticorpos, tanto séricos quanto secretores, em resposta à infecção pelo VSR. A infecção primária por um subgrupo induz anticorpos cruzados contra os vírus de outro subgrupo (Quadro 40.2). Os lactentes apresentam resposta mais baixa de anticorpos IgG e IgA secretores ao vírus sincicial respiratório do que as crianças maiores. Não está claro se a IgA secretora das secreções nasais está envolvida na proteção contra a reinfeção e se a imunidade celular é importante na recuperação da infecção.

Foi observada associação entre os anticorpos IgE específicos do vírus com a ocorrência de bronquiolite.

É evidente que a imunidade é apenas parcialmente eficaz, sendo frequentemente sobrepujada em condições naturais; as reinfeções são comuns, sendo, porém, menor a gravidade da doença subsequente.

Diagnóstico laboratorial

Os métodos descritos para o diagnóstico do vírus *parainfluenza* também são aplicáveis para o VSR. A detecção do VSR é uma forte evidência de que o vírus está envolvido na infecção corrente, uma vez que é raro de ser encontrado em indivíduos saudáveis. A detecção do RNA viral ou de antígenos virais em secreções respiratórias é um procedimento de escolha para o diagnóstico das infecções. Uma elevada quantidade de partículas virais está presente em lavados nasais de crianças (10^3 a 10^8 unidades formadoras de placa/mL)*. Os testes de detecção de ácido nucleico são os métodos preferenciais, sobretudo, em amostras clínicas de indivíduos adultos, que apresentam uma quantidade baixa de partículas virais. Tais testes também são úteis na subtipagem do VSR e para ensaios de variação genética em casos de surtos. A detecção de antígenos virais não é muito sensível para amostras de indivíduos adultos. O vírus sincicial respiratório pode ser isolado de secreções nasais, sendo extremamente lábil. As amostras devem ser inoculadas imediatamente em cultura de células; o congelamento das amostras clínicas pode resultar em perda completa da infecciosidade. As linhagens celulares heteroploides humanas HeLa e HEp-2 são as mais sensíveis para isolamento do vírus. Em geral, a presença do vírus sincicial respiratório pode ser reconhecida pelo desenvolvimento de células gigantes e sincícios nas culturas inoculadas (Fig. 40.5). Pode ser necessário um período de até 10 dias para o aparecimento dos efeitos citopáticos. O isolamento do VSR pode ser mais rápido com o uso de *shell vials*, como descrito para o vírus *parainfluenza*. Após 24 a 48 horas, as células são submetidas à imunofluorescência ou a RT-PCR. O VSR difere dos outros paramixovírus, visto que não apresenta hemaglutinina; por conseguinte, os métodos diagnósticos não podem utilizar testes de hemaglutinação, nem de hemadsorção. Os anticorpos séricos podem ser detectados por uma variedade de métodos. Embora a dosagem dos níveis séricos de anticorpos seja importante para os estudos epidemiológicos, ela desempenha pequeno papel nas decisões clínicas.

Epidemiologia

O VSR exibe distribuição mundial, sendo reconhecido como principal patógeno pediátrico das vias respiratórias (Fig. 40.6). Cerca de 70% das crianças são infectadas com 1 ano e quase todas o são com até 2 anos de idade. Bronquiolite ou pneumonia graves têm maior probabilidade de afetar lactentes entre 6 semanas e 6 meses de vida, com incidência máxima aos 2 meses. O vírus pode ser isolado da maioria dos lactentes com

* N. de R.T. O efeito citopático pode ser usado para quantificar partículas infecciosas virais, pelo ensaio de formação de placas. As células são crescidas em uma superfície plana até formarem uma monocamada de células. A monocamada é, então, infectada com o vírus. O meio de cultura líquido é substituído por um meio semissólido, de forma que qualquer partícula viral produzida como resultado de uma infecção não possa ultrapassar os limites do local de sua produção. Uma placa é produzida quando uma partícula viral infecta uma célula, a replica, e depois a mata. As células que a rodeiam são infectadas pelo vírus recém replicado e, também, são mortas. Este processo se repete várias vezes. As células são então coradas com um corante que cora apenas células vivas. As células mortas na placa não se coram e aparecem como áreas descoradas em um fundo de cor. Cada placa é resultado de uma infecção de uma célula por um vírus, seguido da replicação e espalhamento daquele vírus. Entretanto, vírus que não matam células, não produzem placas.

menos de 6 meses de vida que sofrem de bronquiolite; todavia, quase nunca é isolado de lactentes saudáveis. As infecções pelo subgrupo A parecem causar doença mais grave do que as causadas pelo subgrupo B. O vírus sincicial respiratório é a causa mais comum de pneumonia viral em crianças de até 5 anos, mas também causa pneumonia em idosos e pessoas imunocomprometidas. A infecção pelo vírus sincicial respiratório em lactentes e crianças de mais idade resulta em infecção das vias respiratórias mais leve que a observada em lactentes com menos de 6 meses de vida.

O VSR dissemina-se por gotículas (aerossóis) e por contato direto. Embora seja muito lábil, o vírus pode sobreviver em superfícies por até 6 horas. A principal porta de entrada no hospedeiro é através do nariz e dos olhos.

A reinfecção é frequente (apesar da presença de anticorpos específicos), porém os sintomas resultantes são os de infecção leve das vias respiratórias superiores (resfriado). Em famílias com caso identificado de infecção pelo VSR, é comum haver a propagação do vírus para irmãos e adultos.

O VSR propaga-se extensamente em crianças a cada ano durante o inverno. Embora o vírus persista durante todo o verão, os surtos tendem a ter seu pico em janeiro ou fevereiro, no Hemisfério Norte. Nas áreas tropicais, as epidemias causadas pelo vírus sincicial respiratório podem coincidir com as estações chuvosas.

O VSR provoca infecções hospitalares em berçários e enfermarias pediátricas. A transmissão ocorre primariamente através dos membros da equipe médica.

O VSR também pode causar doença sintomática em adultos jovens saudáveis em condições de superpovoamento (recrutas militares em bases de treinamento). Em um estudo realizado em 2000, o vírus sincicial respiratório foi identificado em 11% de recrutas com sintomas respiratórios, em comparação com a identificação de adenovírus (48%), vírus *influenza* (11%) e *parainfluenza* 3 (3%) em recrutas sintomáticos.

Tratamento e prevenção

O tratamento das infecções graves pelo VSR depende basicamente dos cuidados de suporte (p. ex., remoção das secreções, administração de oxigênio). O antiviral ribavirina foi aprovado para tratamento das doenças respiratórias do trato inferior devido ao vírus sincicial respiratório, especialmente em crianças com alto risco de doença grave. O fármaco é administrado em aerossol por 3 a 6 dias. A ribavirina oral não tem utilidade para esses casos.

A administração de imunoglobulinas com títulos elevados de anticorpos contra o VSR proporciona benefício marginal. Anticorpos monoclonais humanizados antivirais estão disponíveis.

Muito empenho tem sido dedicado a pesquisas que procuram desenvolver uma vacina com o VSR. No final dos anos 1960, uma vacina do vírus inativado por formalina foi testada. Os pacientes vacinados desenvolveram altos títulos de anticorpos séricos não neutralizantes, mas quando crianças imunizadas tiveram uma infecção subsequente pelo VSR selvagem; sofreram doença do trato respiratório inferior muito mais grave do que a das crianças do grupo de controle. Tem sido sugerido que o tratamento com formalina destrói os epítopos protetores e/ou que, devido a perda da estimulação dos

receptores tipo Toll (*Toll-like receptors*), a vacina induz somente anticorpos de baixa avididade, que não são protetores. Não existe vacina no momento.

O VSR apresenta um problema especial no desenvolvimento de vacinas. A população-alvo (recém-nascidos) deve ser imunizada logo após o nascimento para se garantir proteção no momento em que o risco de infecção pelo VSR é maior, pois produzir resposta imunológica protetora em idade precoce é difícil na presença de anticorpos maternos. Uma estratégia que está sendo testada é a imunização materna com uma vacina. O objetivo é assegurar a transferência de níveis de anticorpos neutralizantes específicos do vírus para as crianças, os quais poderiam persistir por 3 a 5 meses, período de maior vulnerabilidade dos recém-nascidos a doença grave pelo VSR.

As medidas de controle necessárias, quando ocorrem surtos hospitalares, são as mesmas descritas anteriormente para o vírus *parainfluenza* (isolamento, lavagem das mãos e restrição de visitas).

INFECÇÕES PELO METAPNEUMOVÍRUS HUMANO

O metapneumovírus humano é um patógeno do trato respiratório descoberto em 2001, tendo sido detectado por meio de uma abordagem molecular em amostras clínicas de crianças com doença respiratória, mas com resultados negativos para diferentes vírus respiratórios. O metapneumovírus humano é capaz de causar uma ampla variedade de doenças respiratórias, desde sintomas brandos do trato respiratório superior, até doença grave do trato respiratório inferior, em todas as faixas etárias. Em geral, os sintomas são similares aos causados pelo VSR.

Patogênese e patologia

O metapneumovírus humano infecta somente seres humanos, e é semelhante ao metapneumovírus aviário, que causa rinotraqueíte em galinhas. Ele é composto por dois subgrupos e por pelo menos quatro linhagens genéticas. Essas linhagens virais estão distribuídas globalmente e podem circular ao mesmo tempo em uma região. Parece também que a linhagem predominante pode variar por localização geográfica e de ano para ano.

O período de incubação após infecção é de 4 a 9 dias. A replicação é limitada a células epiteliais respiratórias do hospedeiro infectado. O receptor de superfície celular, para o metapneumovírus humano, parece ser a integrina $\alpha\beta_1$. Os efeitos citopáticos induzidos por esse vírus em células de linhagem contínua, tais como células renais de macaco (LLC-MK2) são semelhantes aos provocados pelo VSR.

Manifestações clínicas

O metapneumovírus humano está associado a uma variedade de sintomas no trato respiratório. Esses sintomas não podem ser distinguidos daqueles induzidos pelo VSR. Crianças em geral apresentam rinorreia, tosse, febre e podem desenvolver otite média aguda. Infecção do trato respiratório inferior pode ocorrer, incluindo bronquite, pneumonia e exacerbação de

sintomas associados à asma. Os casos de bronquites parecem ser menos frequentes do que os dos associados ao VSR.

Os grupos de risco incluem, além das crianças, idosos e indivíduos imunossuprimidos. Crianças hospitalizadas e infectadas podem apresentar infecções crônicas. Infecções graves ocorrem em indivíduos imunossuprimidos, tais como crianças e adultos com neoplasias, ou em transplantados. Por outro lado, indivíduos adultos saudáveis tendem a desenvolver sintomas semelhantes a de um resfriado ou gripe, em resposta a infecções pelo metapneumovírus. Infecções assintomáticas são mais comuns do que as provocadas pelo vírus *influenza* ou pelo VSR.

Imunidade

A prevalência de anticorpos contra o metapneumovírus humano aumenta em crianças a partir de 6 meses de idade e chega a quase 100% aos 5 a 10 anos de idade. Apesar dos níveis elevados de anticorpos em adultos, reinfecções são comuns. É igualmente provável que haja uma imunidade cruzada limitada entre os diferentes sorotipos e que a proteção mediada por esses anticorpos não seja suficiente para a prevenção da infecção.

Diagnóstico laboratorial

Os espécimes clínicos ideais para a detecção do metapneumovírus humano são o *swab* e o aspirado nasofaríngeo. Os ensaios de RT-PCR são os métodos de escolha. A detecção dos antígenos virais por imunofluorescência, em amostras respiratórias de crianças, é mais sensível do que em amostras de adultos. A detecção de anticorpos no soro de indivíduos infectados é útil apenas em estudos de pesquisa.

Epidemiologia

Os metapneumovírus são vírus ubiqüitários e apresentam distribuição global. A infecção ocorre em todas as faixas etárias, porém com predominância em crianças. Parece que as infecções pelo metapneumovírus humano em crianças pequenas são menos comuns do que as causadas pelo VSR, porém mais frequentes do que as causadas pelo vírus *parainfluenza* (Fig. 40.6). A maioria das infecções ocorre no final do inverno e início da primavera, nos EUA. A idade média das crianças hospitalizadas infectadas pelo metapneumovírus é maior (6 a 12 meses) do que a média das infectadas pelo VSR (2 a 3 meses). Diferentes sorotipos de metapneumovírus humano podem circular simultaneamente com as amostras predominantes, variando pela localização e ao longo do tempo.

Tratamento e prevenção

Não há terapia específica ou vacina disponível contra infecções pelo metapneumovírus.

INFECÇÕES PELO VÍRUS DA CAXUMBA

A caxumba é uma doença contagiosa aguda, caracterizada por aumento não supurativo de uma ou de ambas as glândulas

salivares. O vírus da caxumba causa em geral uma doença leve de infância, mas é comum ocorrerem complicações em adultos, como meningite e orquite. Mais de 33% de todas as infecções pelo vírus da caxumba são assintomáticas.

Patogênese e patologia

Os seres humanos são os únicos hospedeiros naturais do vírus da caxumba. Ocorre replicação primária nas células epiteliais do nariz e das vias respiratórias superiores. Em seguida, a viremia dissemina o vírus até as glândulas salivares e outros sistemas orgânicos importantes. O comprometimento da glândula parótida não constitui uma etapa obrigatória do processo infeccioso.

O período de incubação pode variar de 2 a 4 semanas, sendo, porém, tipicamente de cerca de 14 a 18 dias. O vírus é eliminado pela saliva cerca de 3 dias antes até 9 dias depois do início do edema das glândulas salivares. Aproximadamente 33% dos indivíduos infectados não apresentam sintomas óbvios (infecções inaparentes), mas mostram-se igualmente capazes de transmitir a infecção. É difícil controlar a transmissão da caxumba devido aos períodos variáveis de incubação, à presença do vírus na saliva antes do aparecimento dos sintomas clínicos e ao grande número de casos assintomáticos, porém infecciosos.

A caxumba é uma doença viral sistêmica com propensão a replicar-se em células epiteliais em vários órgãos viscerais. O vírus frequentemente infecta os rins, podendo ser detectado na urina da maioria dos pacientes. A eliminação do vírus na urina pode persistir por até 14 dias após o aparecimento dos sintomas clínicos. O sistema nervoso central também é comumente infectado, podendo ser afetado na ausência de parotidite.

Manifestações clínicas

As manifestações clínicas da caxumba refletem a patogênese da infecção. Pelo menos 33% de todas as infecções pelo vírus da caxumba são subclínicas, inclusive a maior parte das infecções em crianças de até 2 anos de idade. A manifestação mais característica dos casos sintomáticos consiste em edema das glândulas salivares, que ocorre em cerca de 50% dos pacientes.

Existe um período prodromico de mal-estar e anorexia, seguido de rápido aumento das glândulas parótidas, bem como de outras glândulas salivares. O edema pode limitar-se a uma glândula parótida, ou pode ocorrer aumento de uma glândula alguns dias antes de a outra tornar-se maior. O aumento glandular está associado à dor.

Envolvimento do sistema nervoso central é comum (10 a 30% dos casos). A caxumba causa meningite asséptica, sendo mais comum no sexo masculino do que no feminino. Em geral, ocorre meningoencefalite 5 a 7 dias após a inflamação das glândulas salivares, mas até 50% dos pacientes não apresentam evidências clínicas de parotidite. Meningite é relatada em até 15% dos casos, e encefalite em menos de 0,3%. Em geral, os casos de meningite e meningoencefalite pelo vírus da caxumba sofrem resolução sem deixar sequelas, embora ocorra surdez unilateral em cerca de 5:100.000 casos. A taxa de mortalidade da encefalite pelo vírus da caxumba é de cerca de 1%.

Os testículos e os ovários podem ser acometidos, em particular depois da puberdade. Vinte a 50% dos indivíduos do

sexo masculino infectados pelo vírus da caxumba desenvolvem orquite (frequentemente unilateral). Devido à falta de elasticidade da túnica albugínea, que não permite a ocorrência de edema do testículo inflamado, a complicação é extremamente dolorosa. Pode ocorrer atrofia testicular em consequência de necrose por compressão, mas raramente o processo resulta em esterilidade. A ooforite por caxumba ocorre em cerca de 5% das mulheres. Pancreatite é relatada em aproximadamente 4% dos casos.

Imunidade

A imunidade é permanente após uma única infecção. Existe apenas um tipo antigênico de vírus da caxumba, que não exhibe variação antigênica significativa (Quadro 40.2).

Após a infecção natural, verifica-se o desenvolvimento no soro de anticorpos dirigidos contra a glicoproteína HN, glicoproteína F e proteína interna do nucleocapsídeo. Os anticorpos contra a proteína NP aparecem mais cedo (3 a 7 dias após o surgimento dos sintomas clínicos), porém são transitórios e em geral desaparecem em 6 meses. Os anticorpos contra o antígeno HN surgem mais lentamente (cerca de 4 semanas após o início), mas persistem por vários anos. Além disso, anticorpos contra o antígeno HN correlacionam-se bem com a imunidade. Acredita-se que mesmo infecções subclínicas possam resultar em imunidade permanente. Verifica-se também o desenvolvimento de resposta imunológica celular. O interferon é induzido em uma fase precoce da infecção pelo vírus da caxumba. Em indivíduos imunes, os anticorpos IgA secretados na nasofaringe exibem atividade neutralizante.

A imunidade passiva é transferida da mãe para o filho; por conseguinte, é raro observar caxumba em lactentes com menos de 6 meses de vida.

Diagnóstico laboratorial

O diagnóstico de casos típicos em geral pode ser feito com base nas manifestações clínicas. Entretanto, outros agentes infecciosos, fármacos e outras condições podem causar sintomas semelhantes.

Nos casos em que não há parotidite, os exames laboratoriais podem ser úteis para estabelecer o diagnóstico. Os testes incluem o isolamento do vírus, detecção de ácido nucleico viral por RT-PCR, isolamento do agente viral e sorologia.

A. Detecção de ácidos nucleicos

A RT-PCR é um método muito sensível, que pode detectar sequências genômicas do vírus da caxumba em amostras clínicas. O teste pode detectar o vírus em muitas amostras clínicas que foram negativas para o isolamento do vírus. Os ensaios de RT-PCR podem identificar linhagens virais e fornecer informações úteis em estudos epidemiológicos.

B. Isolamento e identificação do vírus

As amostras clínicas mais apropriadas ao isolamento do vírus consistem em saliva, líquido cerebrospinal e urina, obtidos nos primeiros dias após o início da doença. O vírus pode ser isolado da urina durante até 2 semanas.

Células renais de macacos são preferidas para isolamento do vírus. As amostras devem ser inoculadas pouco depois da coleta, uma vez que o vírus da caxumba é termolábil. Para o rápido estabelecimento do diagnóstico, a imunofluorescência com antissoro específico para o vírus da caxumba pode detectar antígenos apenas 2 a 3 dias após a inoculação das culturas de células em frascos.

Nos sistemas tradicionais de cultura, os efeitos citopáticos típicos do vírus da caxumba consistem em arredondamento das células e formação de células gigantes. Como nem todos os vírus primários isolados exibem a formação típica de sincícios, pode-se recorrer ao teste de hemadsorção para demonstrar a presença de um agente hemadsorvente 1 a 2 semanas após a inoculação.

C. Sorologia

A simples detecção de anticorpos contra caxumba não é um diagnóstico adequado da infecção. Entretanto, uma elevação dos títulos de anticorpos pode ser demonstrada por meio de amostras pareadas de soro: a constatação de elevação de 4 vezes ou mais nos títulos de anticorpos constitui evidência de infecção pelo vírus da caxumba. Em geral, efetua-se o ensaio Elisa ou o teste de inibição da hemaglutinação. Os anticorpos contra a proteína HN são neutralizantes.

O Elisa pode ser indicado para detectar anticorpos IgM específicos contra o vírus da caxumba ou anticorpos IgG também específicos contra esse vírus. A IgM dirigida contra o vírus da caxumba é encontrada regularmente no estágio inicial da doença e raramente persiste por mais de 60 dias. Por conseguinte, a demonstração de IgM específica contra o vírus da caxumba, em soro obtido no estágio inicial da doença, sugere fortemente infecção recente. Os anticorpos heterotípicos induzidos por infecções causadas pelo vírus *parainfluenza* não exibem reação cruzada, no ensaio Elisa, à IgM contra o vírus da caxumba.

Epidemiologia

A caxumba ocorre de forma endêmica em todo o mundo. Aparecem casos durante todo o ano, em climas quentes, bem como picos no inverno e na primavera em climas temperados. Ocorrem surtos em locais em que a aglomeração de pessoas favorece a disseminação do vírus. A caxumba é primariamente uma infecção de crianças. A doença atinge incidência máxima em crianças de 5 a 9 anos de idade, mas podem ocorrer epidemias em acampamentos de militares. Em crianças com menos de 5 anos de idade, a caxumba costuma provocar infecção das vias respiratórias superiores sem parotidite.

A caxumba é muito contagiosa, e a maioria dos indivíduos suscetíveis em uma casa irá contrair a infecção do membro infectado. O vírus é transmitido por contato direto, por perdigotos transportados pelo ar ou por fômites contaminados com saliva ou urina. É necessário haver contato mais íntimo para a transmissão da caxumba do que para a transmissão do sarampo ou da varicela.

As infecções pelo vírus da caxumba não são aparentes em cerca de 33% dos casos. Durante uma infecção inaparente, o paciente pode transmitir o vírus para outras pessoas. Os indivíduos com caxumba subclínica adquirem imunidade.

A taxa de mortalidade global da caxumba é baixa (1 morte por 10.000 casos nos EUA, causadas principalmente por encefalites).

A incidência de caxumba e das complicações associadas vem declinando acentuadamente desde a introdução da vacina com vírus vivo. Em 1967, ano em que a vacina foi licenciada, houve cerca de 200.000 casos de caxumba (900 pacientes com encefalite) nos EUA. Em 2001 a 2003, ocorreram pouco menos de 300 casos de caxumba por ano.

Em 2006, ocorreu um surto de caxumba nos EUA que resultou em mais de 5.700 casos. Seis Estados do Meio-Oeste relataram 84% dos casos. Em 2009, um surto de caxumba ocorreu nos Estados de Nova York e Nova Jersey, em que 88% dos afetados eram vacinados. O gene SH do vírus da caxumba é variável e permite sua classificação em 14 genótipos. O vírus que causou surtos entre 2006 e 2009, nos EUA, foi identificado como pertencente ao genótipo G. Um grande surto epidêmico que ocorreu em 2004, no Reino Unido, acometendo mais de 56.000 indivíduos, também foi associado ao genótipo G.

Tratamento, prevenção e controle

Não existe uma terapia específica para a caxumba.

A imunização por meio da vacina com vírus da caxumba vivo atenuado constitui a melhor abordagem para se reduzir as taxas de morbidade e mortalidade associadas à caxumba. As tentativas de minimizar a propagação do vírus durante um surto, mediante procedimentos de isolamento, são inúteis devido à elevada incidência de casos assintomáticos e ao grau de eliminação do vírus antes do aparecimento dos sintomas clínicos; entretanto, os estudantes e agentes de saúde que contraem caxumba devem ser afastados do seu meio até 5 dias após o início da parotidite.

Uma vacina eficaz com vírus vivo atenuado, preparada em cultura de células de embrião de galinha, foi licenciada nos EUA em 1967. A vacina da caxumba está disponível em combinação com as vacinas com vírus vivos da rubéola (MR) ou sarampo e rubéola (MMR). As vacinas combinadas com vírus vivos produzem anticorpos contra cada um dos vírus em cerca de 78 a 95% das pessoas vacinadas. Não ocorre aumento do risco de meningite asséptica após a vacinação com MMR. Outras vacinas de vírus atenuado contra caxumba foram desenvolvidas no Japão, na Rússia e na Suíça.

Duas doses da vacina MMR são recomendadas para o início do período escolar. Devido a uma epidemia de caxumba em 2006, foram publicadas recomendações atualizadas de vacinação para prevenção da transmissão de caxumba em grupos de alto risco de infecção. Devem ser administradas duas doses da vacina para os agentes de saúde nascidos antes de 1957 sem evidências de imunidade contra caxumba, e uma segunda dose da vacina deve ser considerada para quem recebeu somente a primeira dose.

INFECÇÕES PELO VÍRUS DO SARAMPO

O sarampo é uma doença altamente infecciosa e aguda, caracterizada por febre, sintomas respiratórios e exantema maculopapular. As complicações são comuns, podendo ser muito graves. Mas, a introdução de uma vacina eficaz com vírus vivo reduziu radicalmente a incidência desta doença nos EUA;

todavia, o sarampo continua sendo uma importante causa de mortalidade entre crianças de pouca idade em muitos países em desenvolvimento.

Patogênese e patologia

Os seres humanos são os únicos hospedeiros naturais do vírus do sarampo, embora inúmeras outras espécies, inclusive macacos, cães e camundongos, possam ser infectadas experimentalmente. A Figura 40.7 mostra a história natural da infecção pelo vírus do sarampo.

O vírus tem acesso ao corpo humano através das vias respiratórias, onde se multiplica localmente. Em seguida, a infecção dissemina-se para o tecido linfóide regional, onde mais tarde ocorre multiplicação. A viremia primária dissemina o vírus, que se replica no sistema reticuloendotelial. Por fim, a viremia secundária dissemina o vírus para as superfícies epiteliais do corpo, como a pele, as vias respiratórias e a conjuntiva, em que ocorre replicação focal. O vírus do sarampo pode sofrer replicação em determinados linfócitos, o que favorece sua disseminação pelo organismo. São observadas células gigantes multinucleares com inclusões intranucleares nos tecidos linfóides de todo o corpo (linfonodos, tonsilas, apêndice). Os eventos descritos ocorrem durante o período de incubação, que tipicamente dura 8 a 15 dias, podendo perdurar por até 3 semanas em adultos.

Indivíduos são contagiosos durante a fase prodrômica (2 a 4 dias) e nos primeiros 2 a 5 dias de exantema, o vírus é encontrado na lágrima, nas secreções nasais e da garganta, na urina e no sangue. A erupção maculopapular característica surge em torno do 14º dia, quando os anticorpos circulantes tornam-se detectáveis, a viremia desaparece e a febre regride. O exantema resulta da interação das células T imunes com as células infectadas pelos vírus nos pequenos vasos sanguíneos, e dura cerca de 1 semana. (Em pacientes com deficiência da imunidade celular, não ocorre exantema.)

O comprometimento do sistema nervoso central é comum no sarampo (Fig. 40.8). Verifica-se o desenvolvimento de encefalite sintomática em cerca de 1:1.000 casos. Como o vírus infeccioso é raramente isolado do cérebro, foi sugerido que o mecanismo responsável por essa complicação consiste em reação autoimune. Diferentemente, pode-se verificar o desenvolvimento de encefalite progressiva com corpos de inclusão em pacientes que apresentam deficiência da imunidade celular. O vírus em replicação ativa é encontrado no cérebro, nessa forma habitualmente fatal da doença.

A panencefalite esclerosante subaguda (PEES) constitui uma complicação tardia e rara do sarampo. Essa doença fatal surge alguns anos após a infecção inicial pelo vírus do sarampo e é provocada pelo vírus que permanece no organismo após a infecção aguda. São encontradas grandes quantidades de antígenos do vírus do sarampo no interior dos corpúsculos de inclusão nas células cerebrais infectadas, embora ocorram poucas partículas virais maduras. A replicação viral encontra-se defeituosa devido à falta de geração de um ou mais produtos gênicos virais, frequentemente a proteína da matriz.

Manifestações clínicas

As infecções em hospedeiros não imunes são quase sempre assintomáticas. O sarampo apresenta um período de incubação

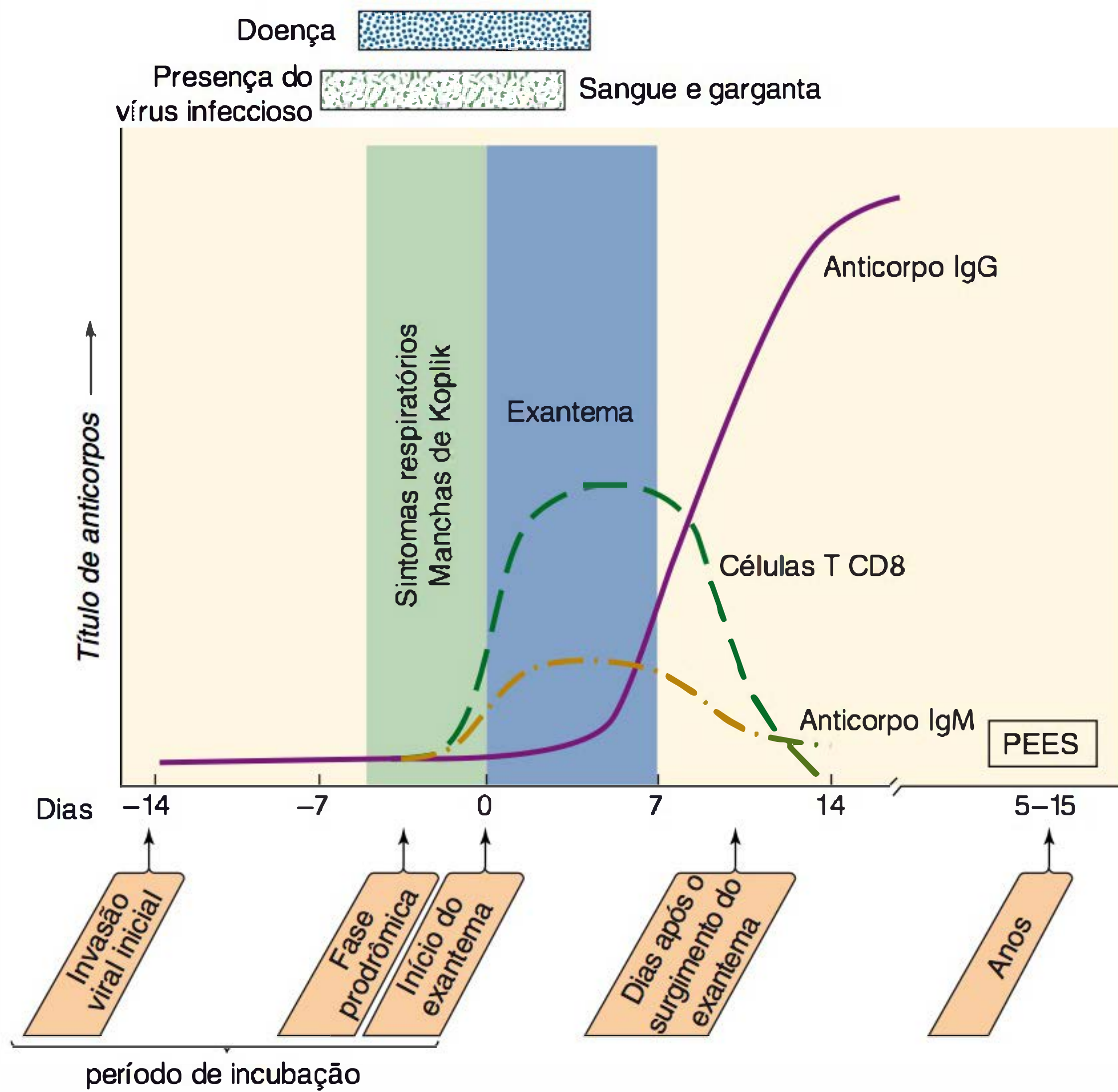


FIGURA 40.7 História natural da infecção do sarampo. A replicação viral começa no epitélio respiratório e propaga-se para os monócitos-macrófagos, células endoteliais e epiteliais no sangue, baço, linfonodos, pulmões, timo, fígado e pele, bem como para a superfície mucosa do trato gastrintestinal, vias respiratórias e trato geniturinário. A resposta imunológica específica ao vírus é detectável quando aparece o exantema. A eliminação do vírus coincide aproximadamente com o desaparecimento do exantema. (PEES, panencefalite esclerosante subaguda).

de 8 a 15 dias, a partir da exposição até o aparecimento das lesões cutâneas eruptivas.

A fase prodrômica caracteriza-se por febre, espirros, tosse, rinorreia, congestão dos olhos, manchas de Koplik e linfopenia. A tosse e a coriza refletem uma intensa reação inflamatória que envolve a mucosa do trato respiratório. A conjuntivite está comumente associada à fotofobia. As manchas de Koplik — patognomônicas do sarampo — consistem em pequenas ulcerações brancoazuladas na mucosa oral oposta aos molares inferiores. Essas manchas contêm células gigantes e antígenos virais, surgindo 2 dias antes do exantema. A febre e a tosse

persistem até o aparecimento do exantema, e em seguida desaparecem em 1 a 2 dias. O exantema, que começa na cabeça e depois se dissemina progressivamente para o tórax, o tronco e os membros, aparece em forma de discretas maculopápulas de coloração rosada que coalescem para formar manchas que se tornam acastanhadas em 5 a 10 dias. A erupção cutânea desaparece com a descamação. Os sintomas são mais pronunciados quando o exantema encontra-se em sua fase máxima, porém desaparecem rapidamente depois dessa fase.

O sarampo modificado ocorre em pessoas parcialmente imunes, como lactentes com anticorpos maternos residuais.

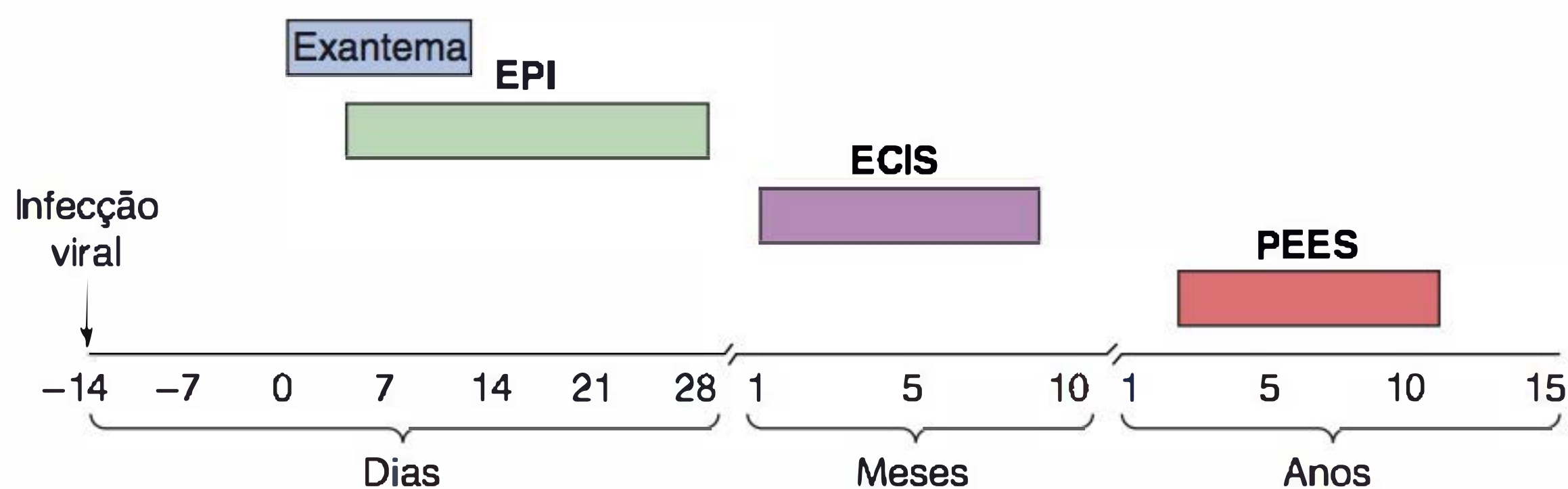


FIGURA 40.8 Evolução neurológica das complicações neurológicas do sarampo. EPI, encefalomielite pós-infecciosa; ECIS, encefalite por corpúsculos de inclusão do sarampo; PEES, panencefalite esclerosante subaguda. Ocorre encefalite em cerca de 1 a cada 1.000 casos de sarampo, enquanto a PEES é uma complicação tardia rara que se desenvolve em cerca de 1 a cada 300.000 casos. (Adaptada, com autorização, de Griffin DE, Bellini WJ: Measles virus. In Fields BN, Knipe DM, Howley PM [editors-in-chief]. *Fields Virology*, 3rd ed. Lippincot-Raven, 1996.)

O período de incubação é prolongado, os sintomas prodrômicos mostram-se diminuídos, as manchas de Koplik em geral estão ausentes, e o exantema é discreto.

A complicação mais comum do sarampo é otite média (5 a 9% dos casos).

A pneumonia, causada por infecções bacterianas secundárias, é a complicação com risco de vida mais comum do sarampo. Ocorre em menos de 10% dos casos em países desenvolvidos, porém é muito mais frequente (20 a 80%) nos países em desenvolvimento. As complicações pulmonares respondem por mais de 90% dos casos de sarampo relacionados com morte. Pneumonia desenvolve-se em 3 a 15% dos adultos com sarampo, mas a maior parte dos casos é decorrente mais ao próprio vírus do que à bactéria. Casos fatais são raros.

A pneumonia por células gigantes é uma complicação grave em crianças e adultos com deficiências na imunidade mediada por células. Acredita-se que decorra de uma replicação viral desenfreada e tenha alta taxa de mortalidade.

As complicações que afetam o sistema nervoso central são as mais graves. Cerca de 50% das crianças com sarampo comum apresentam alterações eletroencefalográficas. Ocorre encefalite aguda em cerca de 1:1.000 casos. Não existe correlação aparente entre a gravidade do sarampo e o aparecimento das complicações neurológicas. A encefalomielite pós-infecciosa (encefalomielite aguda disseminada) é uma doença autoimune associada a resposta imunológica à proteína básica da mielina. A taxa de mortalidade na encefalite associada ao sarampo é de cerca de 10 a 20%. A maior parte dos que sobrevivem apresenta sequelas neurológicas.

A PEES, que constitui a complicação tardia e rara da infecção pelo vírus do sarampo, ocorre com uma incidência de cerca de 1:100.000 casos. A doença começa de modo insidioso 5 a 15 anos após um caso de sarampo; caracteriza-se por deterioração mental progressiva, movimentos involuntários, rigidez muscular e coma. É invariavelmente fatal 1 a 3 anos após o início. Os pacientes com PEES exibem títulos elevados de anticorpos contra o vírus do sarampo no líquido cefalorraquiano e no soro, bem como vírus do sarampo defeituosos nas células cerebrais. Com o uso disseminado da vacina contra o sarampo, a panencefalite esclerosante subaguda tornou-se menos comum.

Imunidade

Existe apenas um tipo antigênico de vírus do sarampo (Quadro 40.2). A infecção confere imunidade permanente. A maioria dos chamados segundos ataques representa erros no diagnóstico da primeira ou da segunda doença.

A presença de anticorpos humorais indica imunidade. A imunidade protetora é atribuída a anticorpos neutralizantes contra a proteína H. Entretanto, a imunidade celular parece ser essencial para a eliminação do vírus e a proteção prolongada. Os pacientes com deficiência de imunoglobulinas recuperam-se do sarampo e resistem à reinfeção, enquanto os que apresentam imunodeficiências celulares respondem de modo muito precário quando contraem infecções pelo vírus do sarampo. O papel da imunidade das mucosas na resistência a infecções não é claro.

A resposta imunológica ao sarampo está envolvida na patogênese da doença. A inflamação local causa os sintomas prodrômicos, e a imunidade específica mediada por células desempenha importante papel no desenvolvimento do exantema.

As infecções por sarampo causam imunossupressão — de maior importância no ramo do sistema imunológico mediado por células —, mas é identificada em todos os componentes. Esta é a causa de infecções secundárias graves e que podem persistir por meses após a infecção por sarampo.

Diagnóstico Laboratorial

O sarampo típico é diagnosticado com segurança em bases clínicas. O diagnóstico laboratorial pode ser necessário para os casos de sarampo modificado ou atípico.

A. Detecção dos antígenos e ácido nucleico

Os antígenos do sarampo podem ser detectados diretamente em células epiteliais de secreções respiratórias, da nasofaringe, das conjuntivas e na urina.

A detecção do RNA viral por RT-PCR é um método sensível que pode ser aplicado a uma variedade de amostras clínicas para o diagnóstico de sarampo.

B. Isolamento e identificação do vírus

Swabs da nasofaringe e das conjuntivas, amostras de sangue, de secreções respiratórias e de urina, obtidas do paciente durante o período febril, constituem fontes apropriadas ao isolamento do vírus. Células renais de macacos ou de seres humanos, ou uma linhagem celular linfoblastoide (B95-a) também são ideais para isolamento do vírus. O vírus do sarampo cresce lentamente, sendo necessários 7 a 10 dias para o aparecimento de efeitos citopáticos típicos (células gigantes multinucleares contendo corpos de inclusão intranucleares e intracitoplasmáticos) (Figura 40.5). Entretanto, com o uso de cultura em frascos, os testes podem ser concluídos em 2 a 3 dias, empregando-se anticorpos com coloração fluorescente para detecção dos antígenos do sarampo nas culturas inoculadas. Contudo, o isolamento do vírus é tecnicamente difícil.

C. Sorologia

A confirmação sorológica da infecção pelo vírus do sarampo depende de uma elevação de 4 vezes nos títulos de anticorpos entre os soros das fases aguda e convalescente, ou da demonstração de anticorpos IgM específicos contra o vírus do sarampo em uma única amostra de soro coletada entre a primeira e a segunda semanas após o aparecimento do exantema. O ensaio Elisa e os testes de inibição da hemaglutinação e ensaios de neutralização podem ser utilizados para determinar os anticorpos contra o vírus do sarampo, mas o Elisa é o método mais prático.

Amostras de sangue seco em papel e fluidos orais parecem uma alternativa útil para o soro na detecção de anticorpos contra o sarampo em áreas em que as amostras de soro são difíceis de serem coletadas e manuseadas.

A maior parte da resposta imunológica é dirigida contra a nucleoproteína viral. Os pacientes com PEES exibem uma resposta humoral exagerada, com títulos 10 a 100 vezes superiores aos observados em soro típico da fase convalescente.

Epidemiologia

As principais características epidemiológicas do sarampo são que o vírus é altamente contagioso, existe um único sorotipo,

não há reservatório animal, as infecções inaparentes são raras, e a infecção confere imunidade permanente. A prevalência e a incidência etária do sarampo estão relacionadas com a densidade populacional, fatores econômicos e ambientais, assim como com o uso de uma vacina de vírus vivo eficaz.

A transmissão ocorre predominantemente por via respiratória (por inalação de perdigotos de secreções infectadas). Fômites não parecem exercer papel significativo na transmissão. A transmissão hematogênica transplacentária pode ocorrer quando o sarampo ocorre durante a gravidez.

É preciso um suprimento contínuo de indivíduos suscetíveis para a persistência do vírus em determinada comunidade. É necessária uma população de quase 500.000 pessoas para manter o sarampo como doença endêmica. Em comunidades menores, o vírus desaparece até ser reintroduzido por fontes externas após o acúmulo de um número expressivo de indivíduos não imunes.

O sarampo é endêmico no mundo inteiro. Em geral, as epidemias ocorrem de modo regular a cada 2 a 3 anos. O estado de imunidade da população constitui um fator determinante, e a doença surge quando existe um acúmulo de crianças suscetíveis. A gravidade de uma epidemia depende do número de indivíduos suscetíveis. Quando a doença é introduzida em comunidades isoladas nas quais não era endêmica, verifica-se o rápido aparecimento de epidemia, com taxas de acometimento de quase 100%. Todos os grupos etários desenvolvem sarampo clínico, e a taxa de mortalidade pode atingir 25%.

Nos países industrializados, o sarampo acomete crianças de 5 a 10 anos de idade, ao passo que, nos países em desenvolvimento, o vírus infecta comumente crianças com menos de 5 anos. O sarampo raramente provoca a morte de pessoas saudáveis em países desenvolvidos. Entretanto, nas crianças desnutridas de países em desenvolvimento, onde não se dispõe de assistência médica adequada, o sarampo constitui uma importante causa de mortalidade infantil. Quadros mais graves de sarampo, resultando em morte, são observados em indivíduos com distúrbios imunológicos, tais como infecção em estado avançado pelo vírus da imunodeficiência adquirida (HIV). A Organização Mundial de Saúde (OMS) estimou que em 2005 houve 30 a 40 milhões de casos e 530.000 mortes por sarampo no mundo. O sarampo é uma das maiores causas de mortalidade entre crianças de até 5 anos de idade, e mortes por sarampo ocorrem de maneira desproporcional na África e no Sudeste Asiático.

A OMS e a Unicef estabeleceram em 2005 um plano de redução da mortalidade por sarampo por meio de campanhas de imunização e melhor cuidado clínico dos casos. Estima-se que entre 2000 e 2008 o número de casos de mortes por sarampo foi reduzido em mais de 75%.

Nos países de clima temperado, são observados casos de sarampo durante todo o ano. As epidemias tendem a ocorrer no fim do inverno e início da primavera.

Ocorreram 540 casos de sarampo nos EUA, de 1997 a 2001, dos quais 67% eram importados (pessoas infectadas fora do país). Em um período de 8 anos (1996 a 2004), 117 passageiros com sarampo vindos do exterior (viagem por avião) foram considerados infectados pelo vírus. Apesar da natureza altamente infecciosa do vírus, somente quatro casos de disseminação secundária foram identificados.

No ano 2000, o sarampo foi declarado erradicado nos EUA. Contudo, entre 2001 e 2010, 692 casos foram registrados, dos

quais 604 (87%) foram relacionados com 292 casos importados. Os outros casos de sarampo ocorreram entre crianças em idade escolar não vacinadas. Para se manter a eliminação da transmissão do sarampo, as taxas de cobertura vacinal precisam ser superiores a 90%.

Tratamento, prevenção e controle

Nos países em desenvolvimento, o tratamento com vitamina A tem reduzido as taxas de mortalidade e morbidade. O vírus do sarampo também é suscetível *in vitro* à inibição pela ribavirina, porém nenhum estudo clínico comprovou a eficácia desse fármaco no tratamento do sarampo ou de suas complicações.

Existe uma vacina altamente eficaz e segura com vírus vivo atenuado do sarampo, disponível desde 1963. A vacina contra sarampo está disponível em forma monovalente, em combinação com a vacina atenuada contra a rubéola (MR); associada à vacina contra rubéola e caxumba (MMR), ou associada à vacina atenuada contra varicela (MMRV). As vacinas contra o sarampo são derivadas da amostra Edmonston e conferem proteção contra todas as variantes selvagens do vírus do sarampo. Todavia, o sarampo não foi eliminado devido a não vacinação de algumas crianças e a casos infrequentes de falha da vacina.

Ocorrem reações clínicas discretas (febre ou exantema leve) em 2 a 5% das pessoas vacinadas, mas a excreção do vírus é mínima ou inexistente e não há transmissão. Verifica-se imunossupressão como no sarampo, mas de forma transitória e clinicamente insignificante. Os títulos de anticorpos tendem a ser menores do que após a infecção natural, porém estudos mostram que os anticorpos induzidos pela vacinação persistem por até 33 anos, indicando que a imunidade é provavelmente permanente.

Recomenda-se que todas as crianças, agentes de saúde e viajantes internacionais sejam vacinados. As contra-indicações à vacinação incluem gravidez, alergia a ovos ou neomicina, imunocomprometimento (exceto devido a infecção pelo vírus da imunodeficiência humana) e administração recente de imunoglobulina.

O uso da vacina com vírus mortos de sarampo foi suspenso em 1970, visto que certas pessoas vacinadas ficaram sensibilizadas e desenvolveram sarampo atípico grave quando infectadas pelo vírus selvagem.

A quarentena não é uma medida efetiva de controle, pois a transmissão do sarampo ocorre durante a fase prodrômica.

Rinderpest (peste bovina)

A rinderpest é a mais devastadora doença causada pelo vírus rinderpest (vírus relacionado com o do sarampo) que acomete os bovinos. Em 2010, o vírus rinderpest foi declarado erradicado mundialmente após um esforço global iniciado em 1994, representando a primeira doença animal (e a segunda na história da humanidade após a varíola) a ser erradicada. Esse feito foi realizado por meio de programas de vacinação e de monitoração em longo prazo dos rebanhos bovinos e da vida selvagem.

INFECÇÕES PELOS VÍRUS NIPAH E HENDRA

Dois paramixovírus zoonóticos que representam um novo gênero (*Henipavirus*) foram identificados no fim dos anos

1990 em surtos da doença na Australásia (Quadro 40.2). Um surto de encefalite grave na Malásia, em 1998 e 1999, foi causado pelo vírus Nipah. Constatou-se elevada taxa de mortalidade (> 35%) entre mais de 250 casos, e os poucos sobreviventes apresentaram déficits neurológicos permanentes. Aparentemente, as infecções foram causadas por transmissão viral direta de porcos para seres humanos. Alguns pacientes (<10%) podem desenvolver encefalite de início tardio meses a alguns anos após uma infecção inicial pelo vírus Nipah. O vírus Hendra — um vírus equino — é responsável pela morte de muitos cavalos e por poucos casos fatais em seres humanos na Austrália. Um surto equino em 2008 resultou em dois casos em seres humanos de encefalite pelo vírus Hendra, sendo um fatal, além de uma taxa de 10% de contaminação entre veterinários expostos a cavalos infectados.

Ambos os vírus são uma preocupação de saúde pública devido a sua alta mortalidade, grande variedade de hospedeiros e habilidade de pular barreiras entre espécies, sendo classificados como patógenos de nível de biossegurança 4. Não existem vacinas disponíveis e terapias específicas.

INFECÇÕES PELO VÍRUS DA RUBÉOLA (SARAMPO ALEMÃO)

A rubéola (sarampo alemão ou sarampo de 3 dias) é uma doença febril aguda, caracterizada por exantema e linfadenopatia, que acomete crianças e adultos jovens. Trata-se da forma mais leve de exantemas virais comuns. Entretanto, a ocorrência da infecção no início da gravidez pode resultar em graves

anormalidades do feto, inclusive malformações congênitas e retardamento mental. As consequências da rubéola *in utero* são descritas como síndrome de rubéola congênita.

Classificação

O vírus da rubéola, um membro da família **Togaviridae**, é o único membro do gênero *Rubivirus*. Embora suas características morfológicas e suas propriedades físico-químicas o incluam no grupo dos togavírus, o vírus da rubéola não é transmitido por artrópodes. A estrutura e a replicação dos togavírus são descritas no Capítulo 38.

Existe uma diversidade de sequência significativa entre os vírus de rubéola isolados. Eles estão correntemente classificados em dois grupos (clades) distantes entre si e nove genótipos.

Para maior clareza de apresentação, a rubéola pós-natal e a rubéola congênita são descritas em separado.

RUBÉOLA PÓS-NATAL

Patogênese e patologia

As infecções neonatais, infantis e de adultos afetam a mucosa das vias respiratórias superiores. A rubéola apresenta um período de incubação de aproximadamente 12 dias ou mais. A replicação inicial do vírus provavelmente ocorre nas vias respiratórias, seguida de multiplicação nos linfonodos cervicais. A viremia, que surge depois de 7 a 9 dias, permanece até o desenvolvimento dos anticorpos, em torno de 13 a 15 dias. A produção de anticorpos coincide com o aparecimento do

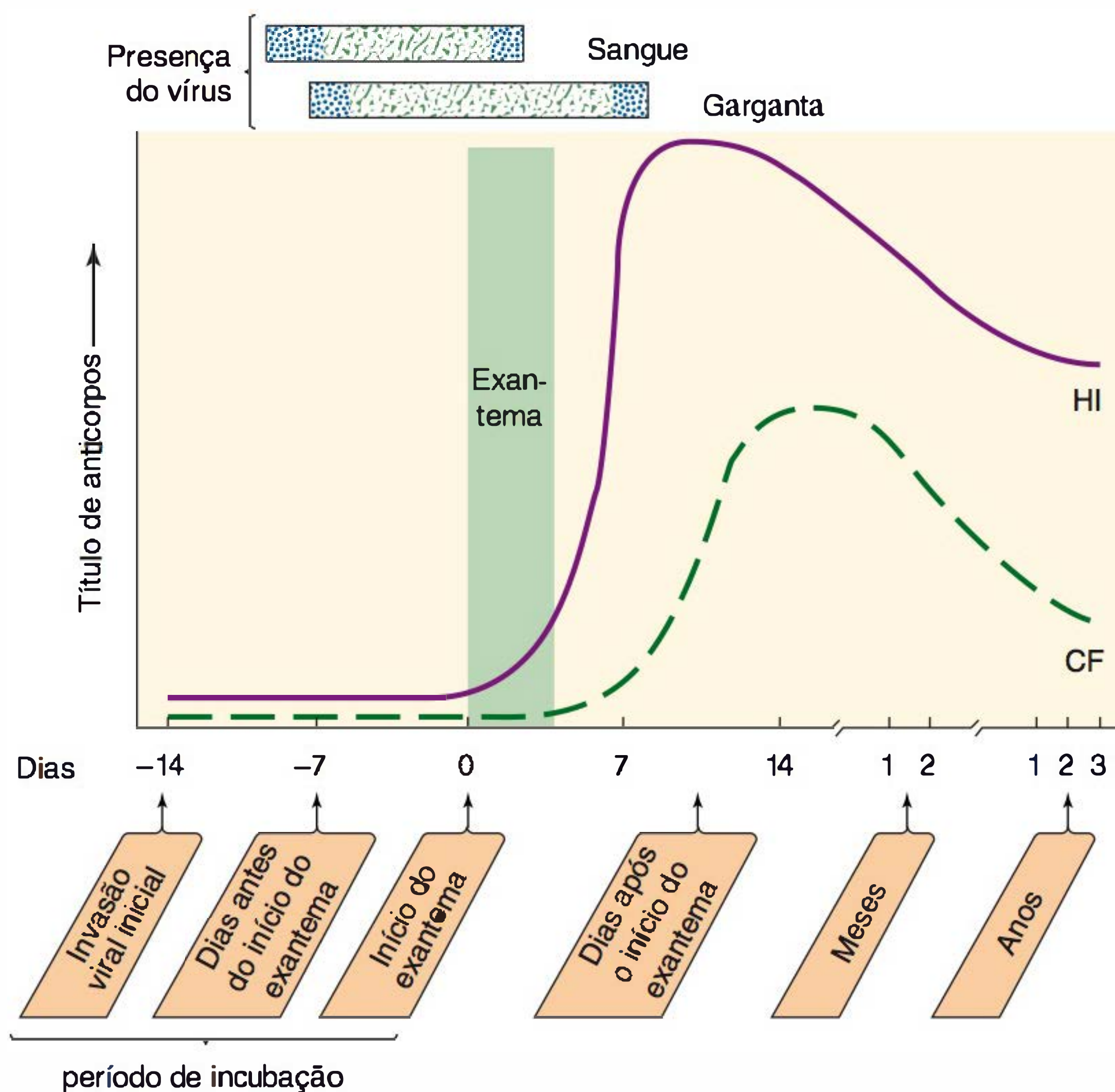


FIGURA 40.9 História natural da infecção primária pelo vírus da rubéola: produção do vírus e respostas humorais.

exantema, sugerindo uma base imunológica para a erupção. Após o aparecimento do exantema, o vírus permanece detectável apenas na nasofaringe, onde pode persistir por várias semanas (Fig. 40.9). Em 20 a 50% dos casos, a infecção primária é subclínica.

Manifestações clínicas

Em geral, a rubéola começa com mal-estar, febre baixa e erupção morbiliforme que aparece no mesmo dia. O exantema surge no rosto, estende-se pelo tronco e pelos membros e raramente dura mais de 3 dias. Não existe característica do exantema que seja patognomônica da rubéola. A não ser que ocorra epidemia, é difícil estabelecer o diagnóstico da doença devido à semelhança do exantema produzido por outros vírus (p. ex., enterovírus).

É comum observar a ocorrência de artralgia e artrite transitórias em adultos, especialmente em mulheres. Apesar de certas semelhanças, a artrite da rubéola não tem relação etiológica com a artrite reumatoide. As complicações, raras, consistem em púrpura trombocitopênica e encefalite.

Imunidade

Os anticorpos contra a rubéola aparecem no soro dos pacientes à medida que o exantema desaparece, com a rápida elevação dos títulos de anticorpos no decorrer de 1 a 3 semanas depois. Grande parte dos anticorpos iniciais consiste em anticorpos IgM que, em geral, não persistem por mais de 6 semanas após a doença. Os anticorpos IgM contra o vírus da rubéola, detectados em uma única amostra de soro obtida 2 semanas após o exantema, fornecem uma prova de infecção recente pelo vírus da rubéola. Em geral, os anticorpos IgG contra o vírus da rubéola persistem por toda a vida.

Um episódio da doença confere imunidade permanente, visto que existe apenas um tipo antigênico do vírus. Devido à natureza indefinida do exantema, uma história de “rubéola” não constitui indicador confiável de imunidade. As mães imunes conferem anticorpos aos filhos, que ficam protegidos durante 4 a 6 meses.

Diagnóstico laboratorial

O diagnóstico clínico de rubéola não é confiável, visto que muitas infecções virais produzem sintomas semelhantes aos da rubéola. O diagnóstico definitivo baseia-se em exames laboratoriais específicos (isolamento do vírus, detecção do RNA viral ou evidência de soroconversão).

A. Detecção de ácidos nucleicos

A RT-PCR pode ser empregada para detectar o ácido nucleico do vírus da rubéola, diretamente, a partir de amostras clínicas ou em culturas de células usadas para isolamento do vírus. A tipagem molecular pode identificar subtipos e genótipos virais e é útil em estudos de vigilância. *Swabs* de garganta são amostras apropriadas para tipagem molecular.

B. Isolamento e identificação do vírus

Swabs de nasofaringe e garganta, obtidos 6 dias antes e depois do aparecimento de exantema, são uma boa fonte do vírus da

rubéola. Várias linhagens celulares de macaco ou coelhos podem ser usadas. O vírus da rubéola produz um efeito citopático bastante insignificante na maioria das linhagens celulares. Com a utilização de células cultivadas em frascos, os antígenos virais podem ser detectados por imunofluorescência 3 a 4 dias após a inoculação.

C. Sorologia

O teste de inibição da hemaglutinação constitui uma prova sorológica-padrão para rubéola. Entretanto, é necessário tratar previamente o soro para remover inibidores inespecíficos antes da realização do teste. O ensaio Elisa é preferido, pois não há necessidade de tratamento prévio do soro, podendo ser adaptado à detecção da IgM específica.

A detecção da IgG constitui uma evidência de imunidade, visto que existe apenas um sorotipo do vírus da rubéola. Para se confirmar com precisão uma infecção recente pelo vírus da rubéola (de suma importância no caso de uma gestante), é preciso demonstrar uma elevação dos títulos de anticorpos entre duas amostras de soro coletadas a um intervalo de pelo menos 10 dias, ou detectar a presença de IgM específica contra o vírus da rubéola em uma única amostra.

O teste sorológico acurado para os anticorpos contra o vírus da rubéola é tão importante que já existem vários *kits* diagnósticos disponíveis comercialmente em vários formatos. A maioria dos indivíduos não consegue avaliar com precisão seu estado de imunidade contra a rubéola, visto que as infecções subclínicas são comuns e as erupções induzidas por outros vírus podem ser confundidas com as da rubéola.

Epidemiologia

A rubéola tem distribuição mundial. A infecção é observada durante todo o ano, com incidência máxima na primavera. Ocorrem epidemias a intervalos de 6 a 10 anos, com pandemias explosivas a cada 20 a 25 anos. A infecção é transmitida por via respiratória, porém a rubéola não é tão contagiosa quanto o sarampo.

Uma epidemia em nível mundial de rubéola ocorreu em 1962 a 1965. Houve mais de 12 milhões de casos nos EUA, resultando em 2.000 casos de encefalite, mais de 11.000 mortes fetais, 2.000 mortes neonatais e 20.000 crianças nascidas com síndrome congênita da rubéola. O impacto econômico dessa epidemia nos EUA foi estimado em 1,5 bilhão de dólares. O uso da vacina eliminou os casos de rubéola endêmica e epidêmica nos EUA em 2005. Um programa está sendo desenvolvido para eliminar a rubéola e a síndrome de rubéola congênita das Américas Central e do Sul.

Tratamento, prevenção e controle

A rubéola é uma doença autolimitada branda que não necessita de tratamento específico.

Comprovada por exames laboratoriais nos primeiros 3 a 4 meses de gravidez, a rubéola está quase sempre associada a infecção fetal. A imunoglobulina intravenosa (IGIV) administrada à mãe não protege o feto contra a infecção pelo vírus da rubéola, visto que, em geral, não é administrada suficientemente cedo para evitar a viremia.

Desde 1969, dispõe-se de vacinas com vírus vivo atenuado da rubéola. A vacina está disponível em forma de antígeno único ou combinado com vacina contra o sarampo e a caxumba. A principal finalidade da vacinação contra a rubéola é prevenir infecções de rubéola congênita. O vírus da vacina multiplica-se no organismo, sendo eliminado em pequenas quantidades, mas não se propagando para pessoas que têm contato com o indivíduo vacinado. As crianças vacinadas não representam ameaça para as mães suscetíveis e grávidas. Diferentemente, as crianças não imunizadas podem levar para casa o vírus selvagem e transmiti-lo aos familiares suscetíveis. A vacina induz imunidade permanente em pelo menos 95% dos receptores.

A vacina é segura e tem poucos efeitos colaterais em crianças. Em adultos, o único efeito colateral significativo consiste no aparecimento de artralgia transitória em cerca de um quarto das mulheres vacinadas.

Nos EUA, a vacinação diminuiu a incidência de rubéola de cerca de 70.000 casos em 1969 para menos de 10 em 2004, casos que ocorreram predominantemente entre pessoas nascidas fora dos EUA. O vírus foi posteriormente declarado eliminado do país. Estudos de custo-benefício realizados em países desenvolvidos e em países em desenvolvimento mostram que os benefícios da vacinação contra a rubéola superam os custos.

SÍNDROME DA RUBÉOLA CONGÊNITA

Patogênese e patologia

A viremia materna associada à infecção pelo vírus da rubéola durante a gravidez pode resultar em infecção da placenta e do feto. Apesar de o vírus não destruir as células, a taxa de crescimento das células infectadas encontra-se reduzida, resultando em menor número de células nos órgãos acometidos por ocasião do nascimento. A infecção pode ocasionar distúrbio e hipoplasia no desenvolvimento do órgão, com consequentes anomalias estruturais no recém-nascido.

O momento da infecção fetal é que determina a extensão do efeito teratogênico. Em geral, quanto mais precoce for a infecção durante a gravidez, maior será a lesão do feto. A infecção durante o primeiro trimestre de gravidez resulta em anormalidades do lactente em cerca de 85% dos casos, enquanto se observam defeitos detectáveis em cerca de 16% dos lactentes que adquiriram a infecção durante o segundo trimestre. É raro haver defeitos congênitos quando a infecção materna ocorre depois de 20 semanas de gestação.

Infecções maternas inaparentes também podem causar essas anomalias. A infecção pelo vírus da rubéola também pode resultar em morte fetal e aborto espontâneo.

A infecção intrauterina pelo vírus da rubéola está associada à persistência crônica do vírus no recém-nascido. Por ocasião do nascimento, o vírus é facilmente detectado em secreções da faringe, em vários órgãos, no líquido cefalorraquidiano, na urina e em *swabs* retais. A excreção do vírus pode persistir por 12 a 18 meses após o nascimento, porém o nível de eliminação diminui gradualmente com a idade.

Manifestações clínicas

O vírus da rubéola foi isolado de inúmeros órgãos e tipos celulares diferentes de lactentes infectados *in utero*, e a lesão

induzida pelo vírus da rubéola dissemina-se de modo semelhante.

As manifestações clínicas da síndrome da rubéola congênita podem ser agrupadas em três grandes categorias: (1) efeitos transitórios em lactentes, (2) manifestações permanentes que podem ser evidentes por ocasião do nascimento ou que são reconhecidas durante o primeiro ano de vida, e (3) anormalidades de desenvolvimento que aparecem e progridem durante a infância e a adolescência.

A tríade clássica da rubéola congênita consiste em cataratas, anormalidades cardíacas e surdez. Os lactentes também podem apresentar sintomas transitórios de atraso do crescimento, exantema, hepatoesplenomegalia, icterícia e meningoencefalite.

O comprometimento do sistema nervoso central é mais global. A manifestação de desenvolvimento mais comum da rubéola congênita consiste em retardamento mental moderado a profundo. Em crianças em idade pré-escolar, surgem problemas de equilíbrio e da capacidade motora. Os lactentes gravemente acometidos podem exigir internação.

A panencefalite progressiva da rubéola, uma complicação rara que surge na segunda década de vida em crianças com rubéola congênita, consiste em grave deterioração neurológica que progride inevitavelmente para a morte.

Imunidade

Normalmente, o anticorpo materno contra o vírus da rubéola, em forma de IgG, é transferido para o lactente e desaparece gradualmente no decorrer de 6 meses. A demonstração de anticorpos da classe IgM contra o vírus da rubéola em lactentes é diagnóstica de rubéola congênita. Como os anticorpos IgM não atravessam a placenta, sua presença indica que foram sintetizados pelo lactente *in utero*. As crianças com rubéola congênita apresentam comprometimento da imunidade celular específica para o vírus da rubéola.

Tratamento, prevenção e controle

Não existe tratamento específico para a rubéola congênita. Pode-se fazer a prevenção pela imunização das crianças com a vacina contra a rubéola para assegurar a imunização das mulheres em idade fértil.

RESUMO DO CAPÍTULO

- Os paramixovírus compreendem uma grande família, formada por seis gêneros, que incluem os vírus *parainfluenza*, o metapneumovírus humano, o sincicial respiratório (doenças respiratórias); da caxumba e do sarampo, o Hendra e o Nipah (encefalites zoonóticas).
- Os paramixovírus são vírus envelopados de RNA de sentido negativo e não segmentado. Todos são antigenicamente estáveis.
- Os paramixovírus são transmitidos pelo contato direto ou por aerossóis e a infecção se inicia através do trato respiratório.
- Todo o ciclo da replicação viral ocorre no citoplasma da célula hospedeira.

- O vírus sincicial respiratório é a principal causa de infecções virais do trato respiratório inferior, em lactentes e crianças. Bronquiolite e pneumonia ocorrem de forma frequente, em lactentes entre 6 semanas e 6 meses de vida. Idosos também são suscetíveis.
- O metapneumovírus humano é um novo patógeno respiratório, acometendo crianças, idosos e indivíduos imunossuprimidos. A infecção apresenta sintomatologia clínica semelhante a observada pelo VSR.
- O vírus *parainfluenza* causa infecção respiratória em todas as idades, com manifestações mais graves em lactentes e em crianças pequenas.
- A detecção do RNA e dos antígenos virais são os métodos de escolha para o diagnóstico das infecções virais respiratórias.
- A ribavirina é o fármaco de escolha para o tratamento das infecções respiratórias provocadas pelo VSR, em lactentes e crianças.
- Reinfecções são comuns com os vírus respiratórios.
- A caxumba é uma doença sistêmica e cerca de 50% das infecções causam comprometimento das glândulas salivares. Muitas infecções podem ser assintomáticas.
- O sarampo é uma doença extremamente contagiosa que provoca *rash* cutâneo. Complicações mais graves incluem pneumonia e encefalite. Infecções assintomáticas são raras.
- Tanto o vírus da caxumba quanto o vírus do sarampo apresentam um único sorotipo. A infecção confere imunidade protetora prolongada.
- Não há vacinas disponíveis para o vírus *parainfluenza*, VSR e metapneumovírus humano, apenas para os vírus da caxumba e do sarampo.
- Os vírus Hendra e Nipah são paramixovírus animais que são capazes de infectar humanos, provocando encefalites com taxa de mortalidade elevada. Não há tratamento específico para essas zoonoses.
- A rubéola (sarampo alemão) é classificada como um toga-vírus, porém não é transmitida por artrópodes. É um vírus exantêmico de virulência moderada.
- As infecções pelo vírus da rubéola, na fase inicial da gestação, podem resultar em graves complicações fetais, incluindo morte. As crianças nascidas com rubéola congênita apresentam uma série de problemas físicos e anomalias desenvolvimentais.
- A rubéola e a rubéola congênita podem ser evitadas por vacinação infantil. Assim, na fase adulta, as gestantes estariam protegidas.

QUESTÕES DE REVISÃO

1. Um garoto de 4 anos de idade desenvolve doença febril aguda. O pediatra diagnostica caxumba. Que órgão exibe sinais de caxumba com maior frequência?
 - (A) Pulmões
 - (B) Ovário
 - (C) Glândulas parótidas
 - (D) Pele
 - (E) Testículos
2. Os paramixovírus são a mais importante causa das infecções respiratórias em crianças e lactentes. Qual das seguintes alternativas é característica dos paramixovírus?
 - (A) O genoma é RNA de sentido negativo
 - (B) O envelope contém uma glicoproteína com atividade de fusão
 - (C) Os paramixovírus não sofrem rearranjo genético
 - (D) O ciclo de replicação ocorre no citoplasma em células suscetíveis
 - (E) O genoma é segmentado
3. Uma criança de 2 meses de vida desenvolveu uma doença respiratória que o pediatra diagnosticou como bronquiolite, cuja causa mais provável é o:
 - (A) Vírus *parainfluenza* tipo 4
 - (B) Vírus sincicial respiratório
 - (C) Vírus *influenza*
 - (D) Metapneumovírus humano
 - (E) Vírus do sarampo
4. Diversos paramixovírus podem causar pneumonia em crianças ou lactentes. Para qual dos seguintes paramixovírus existe uma vacina eficaz disponível que pode prevenir pneumonia?
 - (A) Vírus *parainfluenza* tipo 1
 - (B) Vírus do sarampo
 - (C) Vírus sincicial respiratório
 - (D) Vírus da caxumba
 - (E) Metapneumovírus
5. Uma mulher de 27 anos de idade, com 2 meses de gravidez, desenvolve febre, mal-estar e artralgia. Um exantema maculopapular fino surge em sua face, no tronco e nas extremidades. É diagnosticada rubéola, e há uma preocupação de que o feto possa estar infectado, resultando em síndrome da rubéola congênita. Qual das seguintes afirmações sobre esta síndrome é a correta?
 - (A) A doença pode ser prevenida por vacinação contra o sarampo em crianças em idade escolar
 - (B) Ocorrem anormalidades congênitas quando uma mulher grávida não imune é infectada em qualquer momento durante a gravidez
 - (C) A surdez é um defeito comum associado a síndrome da rubéola congênita
 - (D) Somente raras linhagens do vírus da rubéola são teratogênicas
 - (E) Nenhuma das opções anteriores
6. Uma criança de 5 anos de idade apresenta febre baixa, coriza, conjuntivite e manchas de Koplik. O médico pode concluir que:
 - (A) A criança provavelmente não foi vacinada com a vacina MMR
 - (B) A mãe da criança, se engravidar novamente, corre o risco de infectar-se e o feto desenvolver anomalias congênitas, inclusive retardamento mental
 - (C) A criança logo terá um exantema na face que irá durar 2 a 3 dias
 - (D) A criança deve ser imediatamente tratada com o antiviral ribavirina para minimizar a possibilidade de desenvolver encefalite aguda
7. Os vírus *parainfluenza* são ubiqüitários, e causam doenças respiratórias em pessoas de todas as idades. Entretanto, reinfecções pelo vírus *parainfluenza* são comuns, pois:
 - (A) Existem muitos tipos antigênicos do vírus *parainfluenza*, e a exposição a novas linhagens resulta em novas infecções
 - (B) As infecções no trato respiratório não estimulam resposta imunológica sistêmica
 - (C) Ocorre limitada replicação viral que não consegue estimular a produção de anticorpos
 - (D) O anticorpo IgA secretor no nariz tem meia-vida curta, desaparecendo poucos meses após a infecção

8. Uma criança de 20 meses de vida teve uma doença caracterizada por febre, irritabilidade, conjuntivite e exantema (*brick-red*), inicialmente na face, mas que depois se disseminou pelo corpo. Com 9 anos de idade, o garoto teve um início gradual de deterioração neurológica grave e generalizada. Foi diagnosticada panencefalite esclerosante subaguda (PEES). Qual das seguintes afirmativas sobre a PEES é correta?
- (A) O vírus varicela-zóster defectivo está presente nas células cerebrais
 - (B) São encontrados altos títulos de anticorpos antissarampo no líquido cefalorraquidiano
 - (C) A incidência da doença vem aumentando desde a introdução da vacina MMR
 - (D) Ocorre deterioração cerebral rápida e progressiva
 - (E) A doença é uma rara complicação tardia da rubéola
9. Qual dos seguintes paramixovírus possui uma glicoproteína de superfície HN sem atividade de hemaglutinina?
- (A) Vírus do sarampo
 - (B) Vírus da caxumba
 - (C) Vírus *parainfluenza* tipo 1
 - (D) Vírus sincicial respiratório
 - (E) Vírus da rubéola
10. Uma criança de 3 anos de idade desenvolve infecção respiratória viral aguda que requer hospitalização. Considera-se a terapia com ribavirina. A ribavirina foi aprovada para o tratamento de qual das seguintes situações?
- (A) Doenças do trato respiratório inferior decorrentes de infecção pelo vírus sincicial respiratório em lactentes
 - (B) Síndrome da rubéola congênita
 - (C) Meningite asséptica devida a infecção por caxumba
 - (D) Pneumonia causada pelo vírus do sarampo em adultos
 - (E) Encefalite relacionada com o vírus Nipah
 - (F) Todas as opções anteriores
11. Os testes de RT-PCR são úteis no diagnóstico de infecções por paramixovírus. Qual das seguintes afirmativas sobre RT-PCR não está correta?
- (A) É um teste mais sensível que o isolamento viral
 - (B) Pode identificar linhagens virais
 - (C) É um teste mais rápido do que a detecção de antígeno
 - (D) Pode fornecer dados sobre variação genética para estudos de epidemiologia molecular
 - (E) É um teste mais específico para vírus *parainfluenza* do que a sorologia
12. Todas as seguintes afirmações sobre a vacina contra o sarampo estão corretas, *exceto*:
- (A) A vacina contém o vírus atenuado
 - (B) A vacina não é indicada para administração simultânea com a vacina contra a caxumba, devido à resposta imune não ser capaz de responder a dois tipos virais ao mesmo tempo
 - (C) O vírus da vacina contém apenas um único sorotipo
 - (D) A vacina não é indicada para administração antes dos 15 meses de vida, devido aos anticorpos maternos que podem prevenir a resposta imune do lactente
13. Todas as seguintes afirmações sobre a rubéola estão corretas, *exceto*:
- (A) As complicações congênitas ocorrem primariamente, quando a gestante é infectada durante o primeiro trimestre de gestação.
 - (B) Mulheres que nunca tiveram rubéola, mesmo assim, devem ter anticorpos neutralizantes no soro
 - (C) Em crianças de 6 anos de idade, a rubéola é uma infecção branda e autolimitada com poucas complicações
 - (D) O aciclovir é efetivo no tratamento da síndrome da rubéola congênita
14. Todas as seguintes afirmações sobre a vacina contra a rubéola estão corretas, *exceto*:
- (A) A vacina previne a reinfeção, assim, limitando a disseminação do vírus
 - (B) O imunógeno da vacina consiste no vírus da rubéola inativado
 - (C) A vacina induz a produção de anticorpos, que previne a disseminação do vírus por neutralização, durante o estágio de viremia
 - (D) A incidência de ambas as formas da rubéola (infantil e congênita) tem diminuído acentuadamente, após o advento da vacina
15. Todas as seguintes afirmações sobre a caxumba estão corretas, *exceto*:
- (A) O vírus da caxumba é um paramixovírus de RNA de fita simples
 - (B) A meningite é uma complicação da caxumba
 - (C) A orquite em crianças, antes da adolescência, pode resultar em esterilidade
 - (D) Durante a infecção, o vírus se dissemina através da circulação sanguínea (viremia) para vários órgãos internos
16. Todas as seguintes afirmações sobre a panencefalite esclerosante subaguda estão corretas, *exceto*:
- (A) A imunossupressão é um fator predisponente
 - (B) Os agregados do nucleocapsídeo helicoidal são encontrados nas células infectadas
 - (C) O elevado título de anticorpos contra o vírus do sarampo é observado no líquido cefalorraquidiano
 - (D) Ocorre a deteriorização progressiva e lenta do sistema nervoso central
17. Qual das seguintes evidências melhor corrobora para o diagnóstico da caxumba aguda?
- (A) Um resultado positivo para o teste cutâneo
 - (B) O aumento de quatro vezes no título de anticorpos contra o vírus da caxumba
 - (C) O histórico de exposição da criança ao vírus
 - (D) Orquite no homem adulto
18. Qual das seguintes afirmações sobre a caxumba está correta?
- (A) Embora as glândulas salivares sejam o sítio alvo preferencial, os testículos, os ovários e o pâncreas podem ser infectados
 - (B) Em consequência da falta de uma vacina contra a caxumba, a imunidade passiva é a única forma de prevenção da doença
 - (C) O diagnóstico clínico é a única forma de identificação da caxumba, uma vez que o vírus não é cultivável e os testes sorológicos são inespecíficos
 - (D) Um segundo episódio de caxumba pode ocorrer devido à existência de dois sorotipos diferentes do vírus, que não induzem imunidade cruzada
19. Qual das seguintes afirmações é mais verdadeira para o sarampo do que para o sarampo alemão?
- (A) As manchas de Koplik estão presentes
 - (B) Causa morte prematura
 - (C) Causa somente infecções brandas
 - (D) Os seres humanos são os únicos hospedeiros naturais
 - (E) Vacinas atenuadas estão disponíveis para a prevenção

Respostas

- | | | | |
|------|-------|-------|-------|
| 1. C | 6. A | 11. C | 16. A |
| 2. E | 7. D | 12. B | 17. B |
| 3. B | 8. B | 13. D | 18. A |
| 4. B | 9. D | 14. B | 19. A |
| 5. C | 10. A | 15. C | |

REFERÊNCIAS

- Calisher CH, Holmes KV, Dominguez SR, et al.: Bats prove to be rich reservoirs for emerging viruses. *Microbe* 2008;3:521.
- Delgado MF, Coviello S, Monsalvo AC, et al.: Lack of antibody affinity maturation due to poor Toll-like receptor stimulation leads to enhanced respiratory syncytial virus disease. *Nat Med* 2009;15:34.
- Eaton BT, Broder CC, Middleton D, Wang LF: Hendra and Nipah viruses: Different and dangerous. *Nat Rev Microbiol* 2006;4:23.
- Ginocchio CC, McAdam AJ: Current best practices for respiratory virus testing. *J Clin Microbiol* 2011;49:S44.
- Henrickson KJ: Parainfluenza viruses. *Clin Microbiol Rev* 2003; 16: 242.
- Lamb RA, Parks GD: Paramyxoviridae: The viruses and their replication. In Knipe DM, Howley PM (editors-in-chief). *Fields Virology*, 5th ed. Lippincott Williams & Wilkins, 2007.
- Mahony JB: Detection of respiratory viruses by molecular methods. *Clin Microbiol Rev* 2008;21:716.
- Measles vaccines: WHO position paper. *World Health Org Wkly Epidemiol Rec* 2009;84:349.
- Mumps virus vaccines: WHO position paper. *World Health Org Wkly Epidemiol Rec* 2007;82:51.
- Papenburg J, Boivin G: The distinguishing features of human metapneumovirus and respiratory syncytial virus. *Rev Med Virol* 2010; 20:245.
- Rubella vaccines: WHO position paper. *World Health Org Wkly Epidemiol Rec* 2011;86:301.
- Schildgen V, van den Hoogen B, Fouchier R, et al.: Human metapneumovirus: Lessons learned over the first decade. *Clin Microbiol Rev* 2011;24:734.
- Tregoning JS, Schwarze J: Respiratory viral infections in infants: Causes, clinical symptoms, virology, and immunology. *Clin Microbiol Rev* 2010;23:74.

Coronavírus

Os coronavírus são grandes vírus de RNA dotados de envelope. Os coronavírus humanos provocam resfriado comum, infecções do trato respiratório inferior e, também, têm sido implicados na gastroenterite de lactentes. Um novo coronavírus foi identificado como causador de um surto mundial da síndrome respiratória aguda grave (*severe acute respiratory syndrome* [SARS]) em 2003. Os coronavírus de animais causam doenças de importância econômica em animais domésticos. Os coronavírus de animais inferiores estabelecem infecções persistentes em seus hospedeiros naturais. Devido à dificuldade de efetuar culturas, os vírus humanos são pouco caracterizados.

PROPRIEDADES DOS CORONAVÍRUS

As propriedades importantes dos coronavírus estão apresentadas no Quadro 41.1.

Estrutura e composição

Os coronavírus são partículas de 120 a 160 nm com envelope, que contém um genoma não segmentado de RNA de fita simples de sentido positivo (27 a 32 kb), constituindo o maior genoma conhecido entre os vírus de RNA. Os genomas são poliadenilados na extremidade 3'. O RNA do genoma isolado

é infeccioso. O nucleocapsídeo helicoidal tem 9 a 11 nm de diâmetro. Existem projeções em forma de clava ou pétala, de 20 nm de comprimento, amplamente espaçadas sobre a superfície externa do envelope, lembrando uma coroa solar (Fig. 41.1). As proteínas estruturais do vírus incluem uma proteína do nucleocapsídeo (N) fosforilada de 50 a 60 kDa, uma glicoproteína de membrana (M) de 20 a 35 kDa, que atua como proteína de matriz mergulhada na dupla camada lipídica do envelope, interagindo com o nucleocapsídeo, e a glicoproteína da espícula (S, de *spike*; 180 a 220 kDa), que forma os peplômeros em forma de pétala. Alguns vírus, inclusive o coronavírus humano OC43 (HCoV-OC43), contêm uma terceira glicoproteína (HE; 65 kDa), que provoca hemaglutinação e exibe atividade de acetilesterase.

As organizações do genoma dos coronavírus representativos são apresentadas na Figura 41.2. A sequência dos genes das proteínas codificadas por todos os coronavírus é Pol-S-E-M-N-3'. Várias estruturas de leitura aberta que codificam proteínas não estruturais e a proteína HE diferem quanto ao número e à sequência dos genes entre os coronavírus. Os vírus SARS contêm um número comparativamente grande de genes intercalados para proteínas não estruturais na extremidade 3' do genoma.

Classificação

Coronaviridae é uma das duas famílias, juntamente com Ateriviridae, pertencentes a ordem Nidovirales. As características utilizadas para classificar os Coronaviridae consistem em morfologia das partículas, estratégia singular de replicação do RNA, organização do genoma e homologia da sequência dos nucleotídeos. Existem duas subfamílias (Coronavirinae e Torovirinae) e cinco gêneros (*Alphacoronavirus*, *Betacoronavirus*, *Gammacoronavirus*, *Bafinivirus* e *Torovirus*) na família Coronaviridae. Os dois primeiros e o último gênero apresentam vírus que provocam infecções humanas. Os torovírus são disseminados nos ungulados e parecem estar associados à ocorrência de diarreia.

Parece haver pelo menos dois sorogrupos de coronavírus humanos, representados pelas cepas 229E e OC43. O novo coronavírus isolado em 2003 de pacientes com a síndrome respiratória aguda grave (SARS) encontra-se no mesmo grupo que o HCoV-OC43. Os coronavírus de animais domésticos, roedores e morcegos estão incluídos nesses dois grupos. Existe um terceiro grupo antigênico distinto que contém o vírus da bronquite infecciosa de galinhas. Parece existir uma significativa heterogeneidade antigênica entre as cepas virais dentro de um importante grupo antigênico (*i. e.*, 229E-símile). Ocorrem

QUADRO 41.1 Propriedades importantes dos coronavírus

Virion: esférico, com 120 a 160 nm de diâmetro, nucleocapsídeo helicoidal
Genoma: RNA de fita simples, linear, não segmentado, de sentido positivo, com 27 a 32 kb, revestido e poliadenilado, infeccioso
Proteínas: duas glicoproteínas e uma fosfoproteína. Alguns vírus contêm uma terceira glicoproteína (hemaglutinina esterase)
Envelope: contém espículas grandes, amplamente espaçadas, em forma de clava ou pétalas
Replicação: citoplasma; as partículas maturam por brotamento no retículo endoplasmático e no aparelho de Golgi
Características marcantes: Provocam resfriados e SARS Exibem alta frequência de recombinação Crescimento difícil em cultura de células

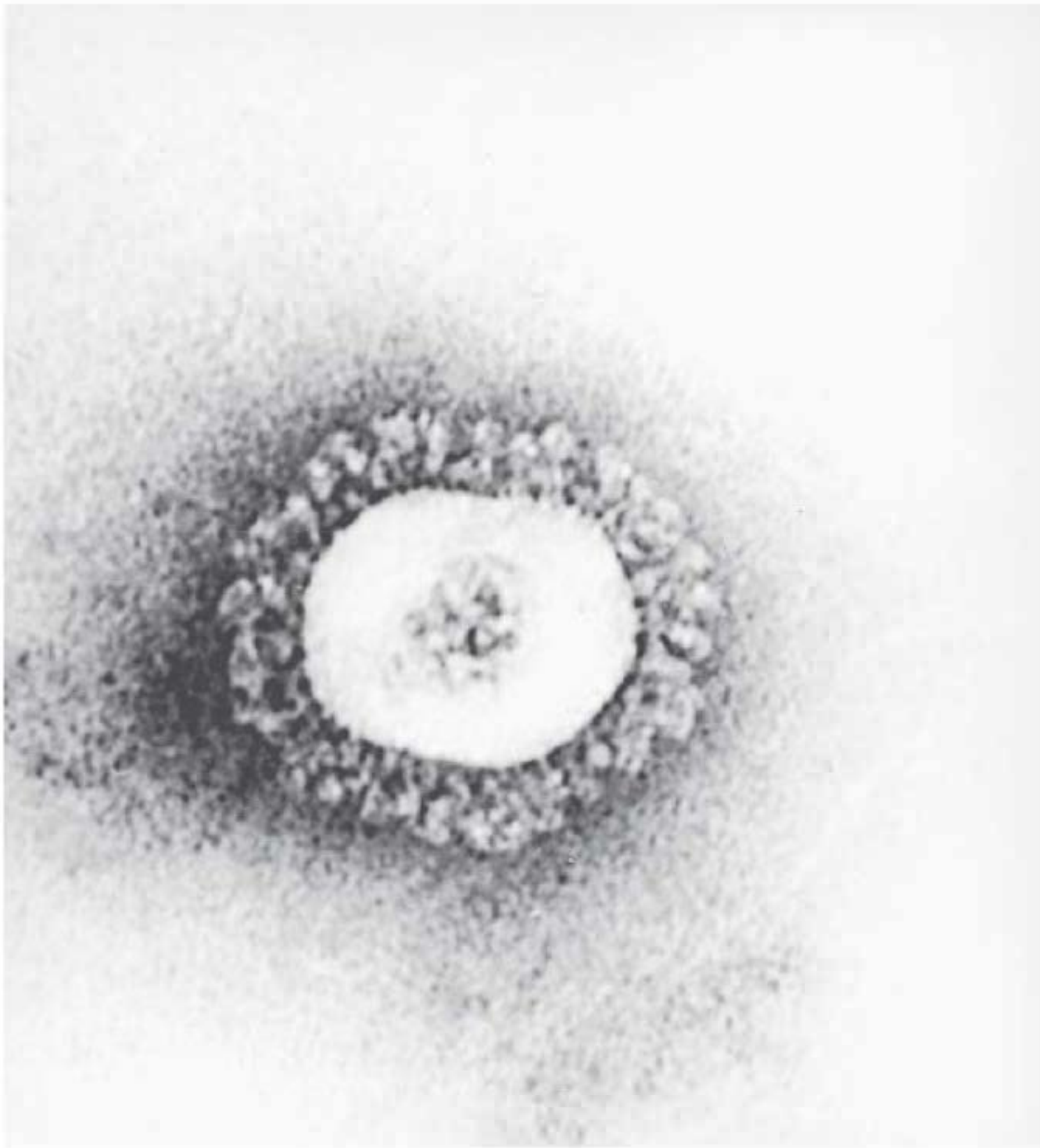


FIGURA 41.1 Coronavírus humano OC43. Observar as grandes espículas características e amplamente espaçadas que formam uma "coroa" ao redor do virion (ampliada 297.000 vezes). (Cortesia de FA Murphy e EL Palmer.)

reações cruzadas entre algumas cepas humanas e de animais. Determinadas cepas apresentam hemaglutininas.

Esses vírus também podem ser colocados nos mesmos grupos com base na análise da sequência genômica.

Replicação dos coronavírus

Como os coronavírus humanos não crescem adequadamente em cultura de células, os detalhes acerca de sua replicação provêm de estudos com o vírus da hepatite murina, estreitamente relacionado com a cepa humana OC43 (Fig. 41.3). O ciclo de replicação ocorre no citoplasma das células.

O vírus fixa-se a receptores nas células-alvo por meio das espículas de glicoproteína existentes no envelope viral (através

de S ou HE). O receptor do coronavírus humano 229E é a aminopeptidase N, enquanto o receptor funcional do vírus da SARS é a enzima conversora da angiotensina 2. Várias isoformas da família da glicoproteína relacionada com o antígeno carcinoembrionário atuam como receptores do coronavírus de camundongo. Em seguida, a partícula é internalizada provavelmente por endocitose absorptiva. A glicoproteína S pode causar a fusão do envelope viral com a membrana celular.

O primeiro evento após o desnudamento consiste na tradução do RNA do genoma viral para produzir uma RNA-polimerase dependente do RNA e específica do vírus. A polimerase viral transcreve todo o comprimento do RNA complementar (fita negativa) que serve como modelo para um conjunto de 5 a 7 RNAm subgenômicos. Apenas a sequência gênica terminal 5' de cada RNAm é traduzida. As cópias de comprimento total do RNA genômico também são transcritas a partir do RNA complementar. Como cada RNAm subgenômico é traduzido em um único polipeptídeo, os precursores poliproteicos não são comuns nas infecções por coronavírus, embora o RNA genômico codifique uma grande poliproteína, processada para produzir a RNA-polimerase viral.

As moléculas do RNA genômico recém-sintetizadas interagem no citoplasma com a proteína do nucleocapsídeo para formar nucleocapsídeos helicoidais. Existe um local de ligação preferido para a proteína N no RNA líder. Os nucleocapsídeos derivam através da membrana do retículo endoplasmático rugoso e do aparelho de Golgi, em áreas que contêm as glicoproteínas virais. Em seguida, os virions maduros podem ser transportados em vesículas até a periferia celular para abandonar a célula, ou podem aguardar até que a célula morra para serem liberados.

Aparentemente, os virions não são formados por brotamento na membrana plasmática. Pode-se observar um grande número de partículas no exterior das células infectadas, presumivelmente adsorvidas a essas células após a liberação do virion. Certos coronavírus induzem a fusão celular, mediada pela glicoproteína S e que exige pH de 6,5 ou mais. Alguns coronavírus estabelecem infecções persistentes das células em vez de serem citocidas.

Os coronavírus exibem alta frequência de mutação durante cada ciclo de replicação, incluindo a produção de alta incidência de mutações por deleção. Também, sofrem alta frequência de recombinação, durante a replicação, o que é incomum para um vírus de RNA com genoma não segmentado, e podem contribuir para a evolução de novas cepas virais.

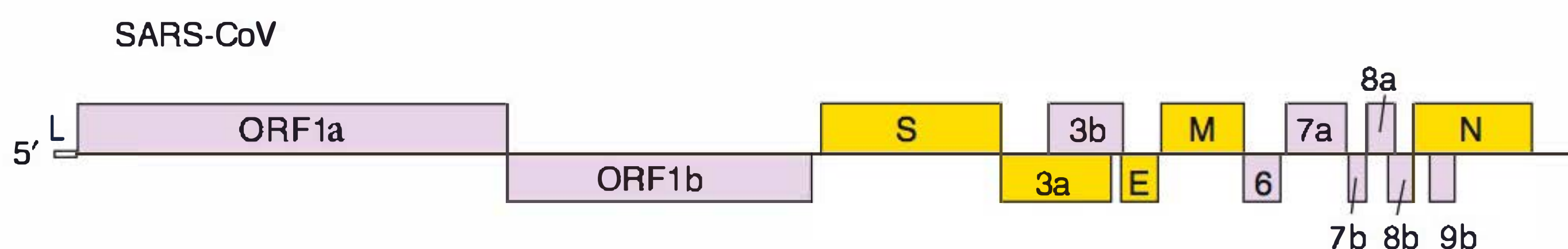


FIGURA 41.2 Organização genômica dos coronavírus. O genoma do coronavírus SARS (SARS-CoV) possui cerca de 29,7 kb. Os boxes de fundo amarelo representam as estruturas de leitura abertas (ORF) que codificam para proteínas estruturais; outros boxes codificam proteínas não estruturais. As ORF separadas dentro de cada gene são traduzidas a partir de uma fita simples de RNAm. S, espícula; E, envelope; M, membrana *trans*; N, nucleocapsídeo. Os produtos de clivagem da ORF1 são denominados nsp1-16 incluindo: uma fosfatase, cisteína proteinases, RNA-polimerase, uma helicase e uma endoribonuclease (Adaptada, com autorização, de Lai MMC, Perlman S, Anderson LJ: Coronaviridae. In: Knipe DM, Howley PM (editors-in-chief). *Fields Virology*, 5th ed. Lippincott Williams and Wilkins, 2007.)

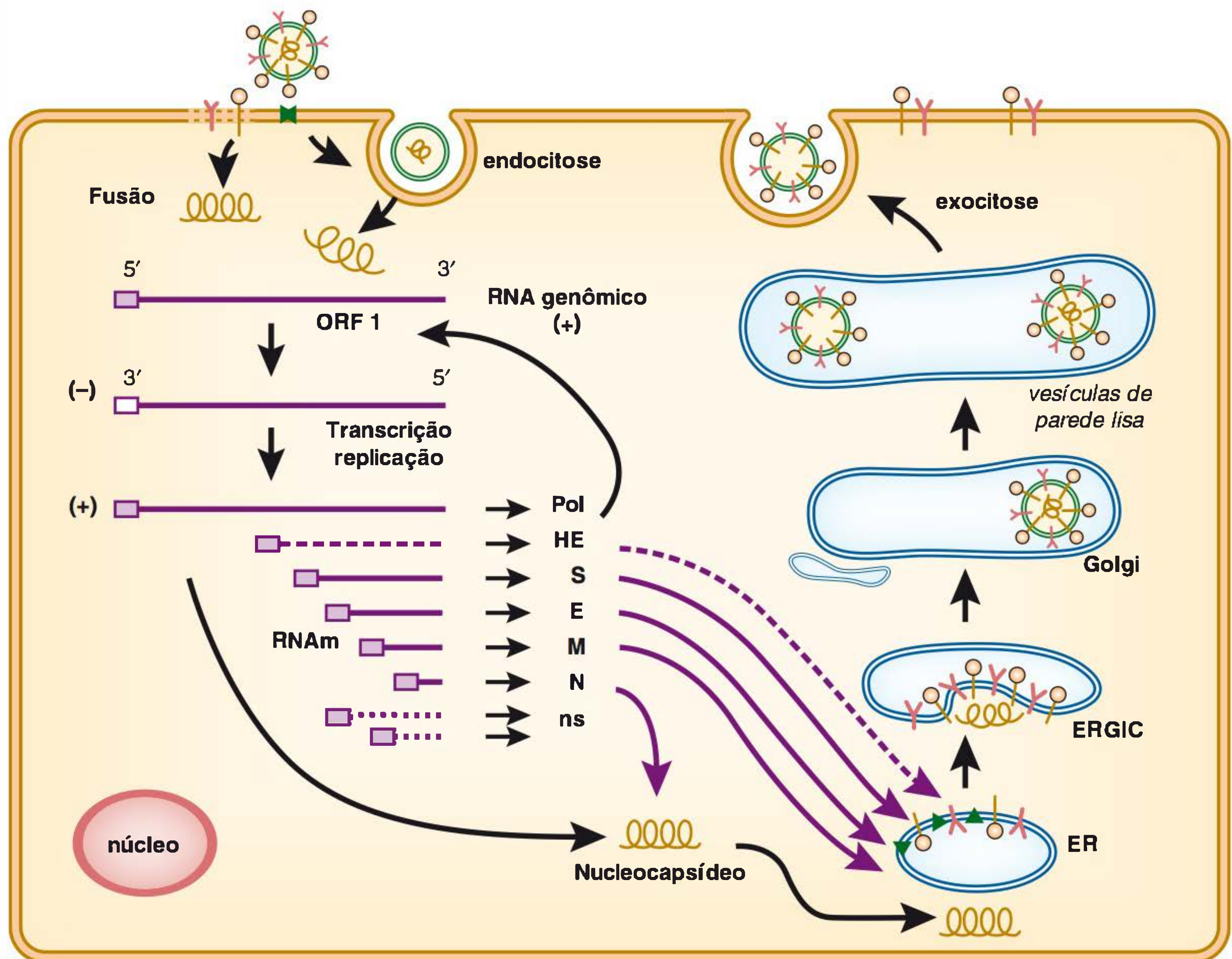


FIGURA 41.3 Ciclo de replicação de coronavírus. Os virions ligam-se às glicoproteínas específicas de receptor ou glucanas, via proteína da espícula. A penetração e o desnudamento ocorrem por fusão mediada por proteínas S do envelope viral com a membrana plasmática ou com a membrana do endossomo. O gene 1 do RNA genômico viral é traduzido em uma poliproteína, que é processado para produzir o complexo replicase-transcriptase. O RNA genômico é usado como um molde para sintetizar RNA de fita negativa, que são usados para sintetizar o genoma RNA em toda a sua extensão e o RNAm subgenômico. Cada RNAm é traduzido para produzir somente a proteína codificada pela extremidade 5' do RNAm, inclusive as proteínas não estruturais. A proteína N e o RNA genômico recém-sintetizado organizam-se para formar nucleocapsídeos helicoidais. A glicoproteína de membrana M é inserida no retículo endoplasmático (ER) e ancorada no aparelho de Golgi. O nucleocapsídeo (N mais o RNA genômico) liga-se à proteína M no compartimento de brotamento (ERGIC). As proteínas E e M interagem para desencadear o brotamento de partículas virais, envolvendo o nucleocapsídeo. As glicoproteínas HE e S são glicosiladas e trimerizadas, associadas à proteína M, e são incorporadas às partículas do vírus em maturação. Os virions são liberados por fusão de vesículas semelhante à exocitose com a membrana plasmática. Os virions podem permanecer adsorvidos nas membranas plasmáticas das células infectadas. O ciclo completo da replicação de coronavírus ocorre no citoplasma. (Reproduzida, com autorização, de Lai MMC, Perlman S, Anderson LJ: Coronaviridae. In Knipe DM, Howley PM [editors-in-chief]. *Fields Virology*, 5th ed. Lippincott Williams and Wilkins, 2007.)

INFEÇÕES POR CORONAVÍRUS EM SERES HUMANOS

Patogênese

Os coronavírus tendem a ser altamente espécie-específicos. A maioria dos coronavírus de animais conhecidos exibe tropismo pelas células epiteliais das vias respiratórias ou do trato gastrointestinal. O coronavírus SARS, também, infecta as células epiteliais que revestem os ductos das glândulas salivares. As infecções pelos coronavírus podem ser disseminadas, como a hepatite murina, ou ser localizada. Em seres humanos, as infecções, em geral, se mantêm no trato respiratório superior.

Diferentemente, a epidemia de SARS em 2003 foi caracterizada por uma doença respiratória grave, incluindo pneumonia e falência respiratória progressiva. O vírus também pode ser detectado em outros órgãos, inclusive rins, fígado e intestino delgado, e nas fezes. O vírus da SARS provavelmente originou-se de um hospedeiro não humano, mais provavelmente morcegos, e foi transmitido para o homem. Os morcegos chineses são os reservatórios naturais de coronavírus semelhantes ao vírus da SARS. Nas regiões rurais do sudeste da China, onde o surto se iniciou, pessoas, porcos e aves domésticas viviam em condições muito próximas e tinham o hábito de usar espécies selvagens na alimentação e na medicina tradicional — condições que promovem o surgimento de novas linhagens virais.

Suspeita-se de que os coronavírus causam gastroenterites em seres humanos. Existem vários modelos animais de coronavírus entéricos, inclusive o vírus da gastroenterite suína transmissível (TGEV). A doença, que acomete animais novos, caracteriza-se por destruição das células epiteliais e perda da capacidade de absorção. É interessante assinalar que um novo coronavírus respiratório porcino (PRCV) apareceu na Europa nos anos 1980, e causou epizoonose disseminada em porcos. A análise sequencial mostrou que o PRCV originou-se do TGEV em decorrência de grande deleção na glicoproteína S1.

Manifestações clínicas

Os coronavírus humanos provocam “resfriados” em geral afebris em adultos. Os sintomas assemelham-se aos causados pelos rinovírus, incluindo secreção nasal e mal-estar. O período de incubação estende-se por 2 a 5 dias, e em geral os sintomas duram cerca de 1 semana. É raro haver comprometimento das vias respiratórias inferiores, embora a pneumonia em recrutas militares tenha sido atribuída à infecção por coronavírus. As crianças asmáticas podem sofrer crises de sibilos, e a doença pulmonar crônica em adultos pode exacerbar os sintomas respiratórios.

Os coronavírus da SARS causam doença respiratória grave. O período médio de incubação é de cerca de 6 dias. Os sintomas iniciais comuns consistem em febre, mal-estar, tremor, cefaleia, fraqueza, tosse e dor de garganta, seguidos, poucos dias depois, de dificuldade de respirar. Muitos pacientes apresentam radiografias de pulmão alteradas. Alguns casos progridem rapidamente para sofrimento respiratório agudo, necessitando de suporte ventilatório. A morte por falência respiratória progressiva ocorre em quase 10% dos casos, com taxas mais altas entre idosos. O SARS induz intensa síntese e liberação de diferentes citocinas e quimiocinas, pelas células do sistema imunológico na circulação periférica, por cerca de duas semanas.

As características clínicas das enterites associadas aos coronavírus ainda não foram claramente descritas, parecendo semelhantes às infecções por rotavírus.

Imunidade

A exemplo de outros vírus respiratórios, ocorre imunidade, embora não seja absoluta. A imunidade contra o antígeno existente na projeção superficial do vírus é provavelmente mais importante para a proteção. A resistência à reinfeção pode durar alguns anos, mas é comum a ocorrência de reinfeções por cepas semelhantes.

A maioria dos pacientes (> 95%) com SARS desenvolve resposta humoral aos antígenos virais detectáveis por testes de imunofluorescência ou Elisa.

Diagnóstico laboratorial

A. Detecção dos antígenos e ácidos nucleicos

Os antígenos dos coronavírus em células de secreções respiratórias poderão ser detectados por meio do teste Elisa se houver disponibilidade de antissoro de boa qualidade. Os coronavírus entéricos podem ser detectados pelo exame de amostras de fezes à microscopia eletrônica. Os testes de reação em cadeia

da polimerase (PCR) são úteis para detecção do ácido nucleico de coronavírus em secreções respiratórias e amostras de fezes. O RNA dos vírus da SARS é detectável no plasma pela PCR, sendo a viremia mais facilmente detectável entre o quarto e o oitavo dias de infecção.

B. Isolamento e identificação do vírus

O isolamento dos coronavírus em cultura de células tem sido difícil. Entretanto, o vírus da SARS foi isolado de amostras de orofaringe por meio de cultura de células Vero de rins de macaco.

C. Sorologia

Devido à dificuldade de isolamento do vírus, o diagnóstico sorológico com base no exame de amostras de soro das fases aguda e convalescente constitui a única maneira prática de se confirmar infecção por coronavírus. Pode-se utilizar testes de Elisa, imunofluorescência indireta e hemaglutinação. O diagnóstico sorológico das infecções pela cepa 229E é possível mediante um teste de hemaglutinação passiva, em que os eritrócitos recobertos com antígeno de coronavírus são aglutinados por soros que contêm anticorpos.

Epidemiologia

Estima-se que os coronavírus causem 15 a 30% dos resfriados. A incidência de infecções por coronavírus varia bastante de um ano para outro, sendo, em um estudo de 3 anos, de 1 a 35%.

Os anticorpos dirigidos contra os coronavírus respiratórios aparecem na infância, aumentam com a idade e são encontrados em mais de 90% dos adultos. Parece que a reinfeção com sintomas pode ocorrer após 1 ano. Contudo, anticorpos circulantes específicos contra o SARS são incomuns em humanos.

Os coronavírus normalmente são associados a doença respiratória aguda em idosos, juntamente com o rinovírus, o vírus *influenza* e o vírus sincicial respiratório. A frequência das infecções por coronavírus é estimada em quase metade da frequência das infecções causadas pelo rinovírus e equivalente aos dos dois outros vírus anteriormente citados.

Foi demonstrado que o vírus da SARS pode estar no ar em enfermarias, sugerindo que pode ocorrer transmissão pelas vias respiratórias. A contaminação por SARS é frequente em superfícies, tais como mesas auxiliares de leitos (fômites).

Um surto de SARS surgiu no sul da China no final de 2002, prolongando-se até meados de 2003, resultando em cerca de 8.000 casos em 29 países, com um total de 800 mortes (taxa de fatalidade de 9,6%). Em quase todos os casos, houve história de contato próximo com pacientes com SARS, ou viagem recente para áreas em que foi relatada a ocorrência de SARS. As viagens aéreas internacionais permitiram a disseminação da SARS pelo mundo com uma velocidade não esperada. A experiência com a SARS mostrou que, em um mundo globalizado, um surto de doença infecciosa em qualquer lugar do globo pode colocar os outros países em risco.

Curiosamente, poucas pessoas foram identificadas como “superdisseminadoras”, tendo cada uma delas infectado mais de dez contatos. Superdisseminadores foram descritos para outras doenças, tais como rubéola, infecção pelo vírus Ebola e tuberculose, e provavelmente isso reflete uma determinada plêiade de hospedeiro, além de fatores ambientais e virais.

Pouco se sabe acerca da epidemiologia das infecções por coronavírus entéricos.

Tratamento, prevenção e controle

Não existem um tratamento aprovado nem vacina para infecções por coronavírus. Inibidores de proteases usados no tratamento das infecções pelo vírus da imunodeficiência adquirida (p. ex., lopinavir) apresentam atividade *in vitro* contra o SARS. Vacinas contra o SARS estão em desenvolvimento.

As medidas de controle que foram eficazes para bloquear a disseminação da SARS incluíram o isolamento dos pacientes, quarentena dos que haviam sido expostos e restrições de viagens, bem como o uso de luvas, máscaras, óculos e respiradores pelos agentes de saúde.

RESUMO DO CAPÍTULO

- Os coronavírus são vírus envelopados, apresentando um dos maiores genomas entre os vírus de RNA de fita simples e de sentido positivo.
- Os coronavírus tendem a ser extremamente espécie-específicos. Contudo, um coronavírus não humano causou um dos maiores surtos globais de síndrome respiratória aguda severa (SARS), em 2003.
- Os coronavírus humanos tipicamente causam o resfriado comum, porém o SARS causa doença respiratória grave, com alta taxa de mortalidade.
- Os coronavírus são distribuídos globalmente, com exceção do vírus SARS.
- Não há tratamento ou vacinas disponíveis para os coronavírus.

QUESTÕES DE REVISÃO

1. Uma senhora de 63 anos de idade apresentou febre, cefaleia, mal-estar, mialgia e tosse. Estamos no início do inverno, estação dos vírus respiratórios, e o médico não sabe que vírus está presente na comunidade. Qual dos seguintes vírus não é uma causa da doença respiratória aguda?
 - (A) Vírus *influenza*
 - (B) Adenovírus
 - (C) Vírus sincicial respiratório
 - (D) Coronavírus
 - (E) Rotavírus
2. Com base na análise das sequências do genoma e testes sorológicos, a origem mais provável do coronavírus da SARS é a:
 - (A) Recombinação entre um coronavírus animal e um humano, que criou um novo vírus
 - (B) Passagem de um coronavírus animal para o homem
 - (C) Mutação de um coronavírus humano que resultou em aumento da virulência
 - (D) Aquisição de genes de células humanas por um coronavírus humano via recombinação que possibilitou a evasão viral da resposta imunológica do hospedeiro
3. A epidemia de SARS ocorrida em 2002 a 2003 resultou em muitos casos e mortes. Qual a rota primária de transmissão dos coronavírus humanos?
 - (A) Orofecal
 - (B) Respiratória
 - (C) Sangue
 - (D) Perinatal — da mãe para o filho
 - (E) Via sexual

4. As infecções por coronavírus em seres humanos geralmente causam uma síndrome gripal comum. Entretanto, um surto recente de SARS foi caracterizado por pneumonia e falência respiratória progressiva. A prevenção ou o tratamento dessas doenças podem ser obtidos por:
 - (A) Uma vacina de subunidades
 - (B) Uma vacina atenuada adaptada da gripe
 - (C) Uso do antiviral amantadina
 - (D) Medidas de controle da infecção, como isolamento e uso de roupas de proteção
 - (E) Uso do antiviral aciclovir
5. Uma epidemia de infecção respiratória aguda de origem viral ocorreu entre idosos em uma casa de geriatria. Suspeita-se de que o vírus *influenza* e o coronavírus, que podem causar doenças respiratórias sérias em idosos, sejam a causa da epidemia. Qual das seguintes características é partilhada por estes vírus?
 - (A) Genoma segmentado
 - (B) Genoma de RNA infeccioso
 - (C) Alta frequência de recombinações durante a replicação
 - (D) Um único sorotipo infecta o homem
 - (E) Genoma de sentido negativo
6. As seguintes alternativas são características comuns de coronavírus, *exceto* uma. Qual delas não está correta?
 - (A) Possuem antígenos cruzados com o vírus *influenza*
 - (B) Contêm um dos maiores genomas entre os vírus RNA
 - (C) Podem causar gastroenterites
 - (D) Apresentam distribuição mundial
7. O coronavírus SARS compartilha algumas características com o coronavírus HCoV-OC43. Qual das seguintes afirmações é verdadeira para o SARS?
 - (A) Causa um surto anual durante o inverno
 - (B) É distribuído globalmente
 - (C) Os indivíduos de alto risco para contrair o vírus incluem os profissionais de saúde
 - (D) Os hospedeiros naturais são guaxinins

Respostas

- | | | | |
|------|------|------|------|
| 1. E | 3. B | 5. C | 7. C |
| 2. B | 4. D | 6. A | |

REFERÊNCIAS

- Anderson LJ, Tong S: Update on SARS research and other possibly zoonotic coronaviruses. *Int J Antimicrob Agents* 2010;36S:S21.
- Baric RS, Hu Z (editors): SARS-CoV pathogenesis and replication. *Virus Res* 2008;133(Issue 1). [Entire issue.]
- Booth TF, Kournikakis B, Bastien N, et al.: Detection of airborne severe acute respiratory syndrome (SARS) coronavirus and environmental contamination in SARS outbreak units. *J Infect Dis* 2005;191:1472.
- Cheng VCC, Lau SK, Woo PC, Yuen KY: Severe acute respiratory syndrome coronavirus as an agent of emerging and reemerging infection. *Clin Microbiol Rev* 2007;20:660.

- Hui DSC, Chan PKS: Severe acute respiratory syndrome and coronavirus. *Infect Dis Clin North Am* 2010;24:619.
- Lee N, Hui D, Wu A, et al.: A major outbreak of severe acute respiratory syndrome in Hong Kong. *N Engl J Med* 2003;348:1986.
- Mahony JB: Detection of respiratory viruses by molecular methods. *Clin Microbiol Rev* 2008;21:716.
- Perlman S, Dandekar AA: Immunopathogenesis of coronavirus infections: Implications for SARS. *Nat Rev Immunol* 2005;5:917.
- Rota PA, Oberste MS, Monroe SS, et al.: Characterization of a novel coronavirus associated with severe acute respiratory syndrome. *Science* 2003;300:1394.
- Wong SSY, Yuen KY: The management of coronavirus infections with particular reference to SARS. *J Antimicrob Chemother* 2008; 62:437.

Raiva, infecções por vírus lentos e doenças causadas por príons

Muitos vírus diferentes podem invadir o sistema nervoso central e causar doença. Este capítulo discute a raiva, uma encefalite viral temida desde a Antiguidade e que ainda hoje é uma doença incurável; as infecções causadas por vírus lentos; e as encefalopatias espongiiformes transmissíveis — distúrbios neurodegenerativos raros causados por agentes não convencionais, denominados “príons”.

RAIVA

A raiva é uma infecção aguda do sistema nervoso central, quase sempre fatal. Em geral, o vírus é transmitido a seres humanos pela mordida de um animal raivoso. Embora o número de casos humanos seja pequeno, a raiva representa um importante problema de saúde pública devido à sua disseminação entre animais que atuam como reservatórios.

Propriedades do vírus

A. Estrutura

O vírus da raiva é um rabdovírus com propriedades morfológicas e bioquímicas em comum com o vírus da estomatite vesiculosa do gado bovino e com diversos vírus de animais, plantas e insetos (Quadro 42.1). Os rabdovírus são partículas em forma

de bastonete ou de projétil que medem 75×180 nm (Fig. 42.1). As partículas são circundadas por um envelope membranoso dotado de espículas protuberantes, de 10 nm de comprimento. Os peplômeros (espículas) são constituídos de trímeros da glicoproteína viral. No interior do envelope, existe um ribonucleocapsídeo. O genoma consiste em RNA de fita simples e sentido negativo (12 kb; Massa molecular de $4,6 \times 10^6$). Os virions contêm RNA-polimerase dependente do RNA. As partículas apresentam densidade de flutuação em CsCl de cerca de $1,19 \text{ g/cm}^3$ com peso molecular de $300 \text{ a } 1.000 \times 10^6$.

B. Classificação

Os vírus são classificados na família **Rhabdoviridae**. Os vírus da raiva pertencem ao gênero *Lyssavirus*, enquanto os vírus semelhantes aos da estomatite vesiculosa são do gênero *Vesiculovirus*. Os rabdovírus encontram-se amplamente distribuídos na natureza, infectando vertebrados, invertebrados e plantas. O vírus da raiva é o único rabdovírus clinicamente importante. Muitos dos rabdovírus de animais infectam insetos, o que não ocorre com o vírus da raiva.

C. Reações a agentes físicos e químicos

O vírus da raiva sobrevive quando conservado a 4°C por várias semanas e a -70°C durante anos. É inativado pelo CO_2 — por conseguinte, quando guardado em gelo seco, deve ser conservado em frascos de vidro fechados. Tal vírus é rapidamente destruído por exposição a radiação ultravioleta (UV) ou luz solar, pelo calor (1 h a 50°C), por solventes lipídicos (éter, desoxicolato de sódio a 0,1%), pela tripsina, por detergentes e por extremos de pH.

D. Replicação do vírus

O ciclo de replicação do rabdovírus é apresentado na Figura 42.2. O vírus da raiva fixa-se às células por suas espículas de glicoproteína; o receptor de acetilcolina nicotínico pode atuar como receptor celular para o vírus da raiva. O genoma RNA de fita simples é transcrito pela RNA-polimerase associada ao virion em cinco espécies de RNAm. O modelo para a transcrição é o RNA genômico em forma de ribonucleoproteína (RNP) (encerrada em proteína N e contendo a transcriptase viral). Os RNAm monocistrônicos codificam as cinco proteínas do virion: o nucleocapsídeo (N), as proteínas polimerases (L, P), a matriz (M) e a glicoproteína (G). A RNP do genoma

QUADRO 42.1 Propriedades importantes dos rabdovírus

Virion: em forma de projétil, com 75 nm de diâmetro \times 180 nm de comprimento
Composição: RNA (4%), proteínas (67%), lipídeos (26%) e carboidratos (3%)
Genoma: RNA de fita simples, linear, não segmentado, de sentido negativo, PM de 4,6 milhões, 12 kb
Proteínas: cinco proteínas principais; uma glicoproteína de envelope
Envelope: presente
Replicação: citoplasma, brotamento dos virions da membrana citoplasmática
Características marcantes: ampla série de vírus com grande variedade de hospedeiros O grupo inclui o mortal vírus da raiva

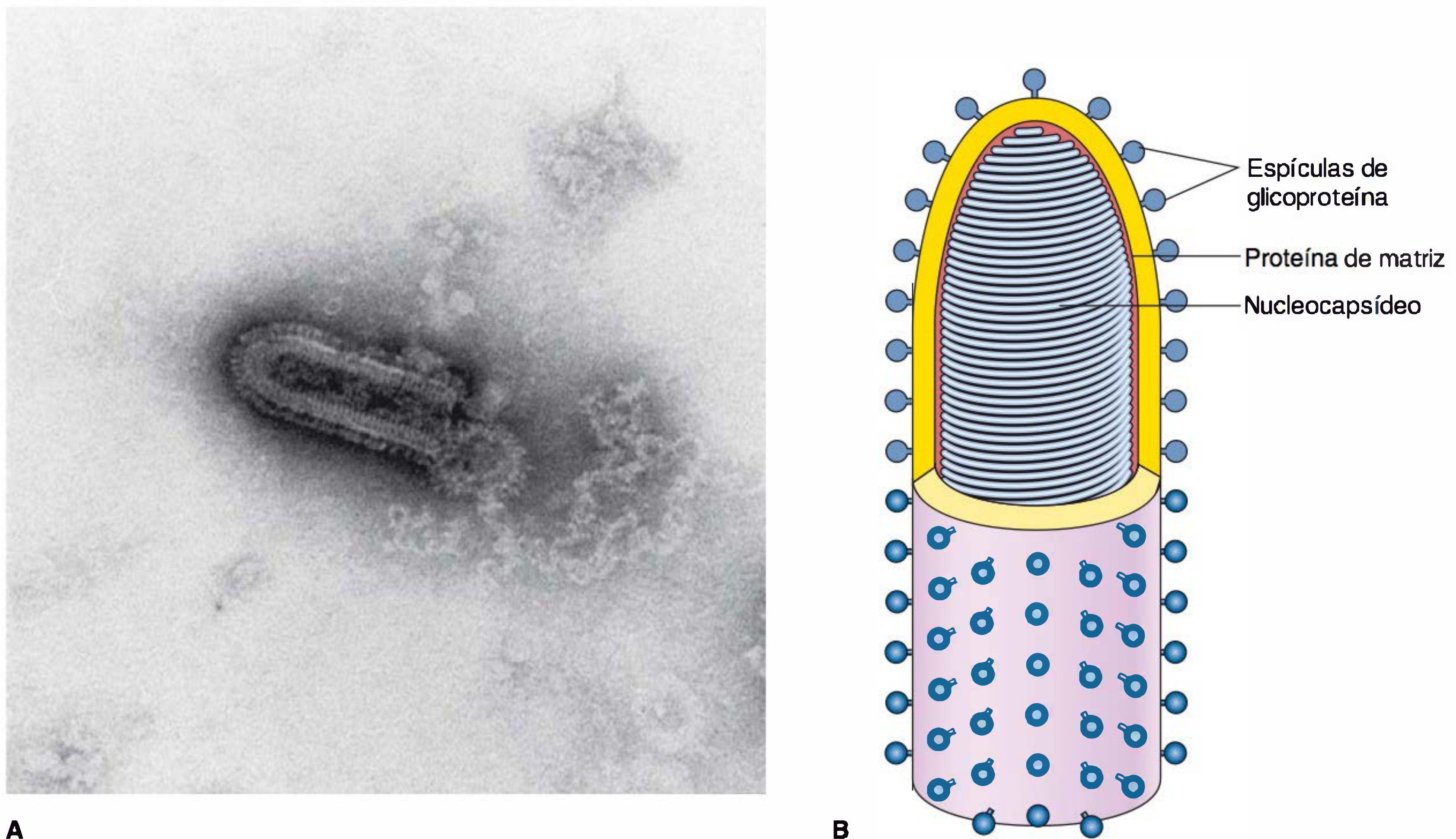


FIGURA 42.1 Estrutura de rabdovírus (A) Micrografia eletrônica de partícula em forma de projétil, típica da família dos rabdovírus (ampliada 100.000 vezes). A figura mostra o vírus da estomatite vesiculosa corado negativamente com fosfotungstato de potássio. (Cortesia de RM McCombs, M Benyesh-Melnick e JP Brunschwig.) (B) Ilustração esquemática do vírus da raiva mostrando as espículas de glicoproteína que se estendem a partir do envelope lipídico e que circundam o nucleocapsídeo interno e a proteína da matriz que reveste o envelope. O nucleocapsídeo compreende o genoma de RNA simples com nucleoproteína e as proteínas polimerases. (Reproduzida, com autorização, de Cowan MK, Talaro KP: Microbiology. A Systems Approach, 2nd ed. McGraw-Hill, 2009.)

é um modelo para o RNA de sentido positivo complementar, responsável pela produção do RNA de sentido negativo da progênie. As mesmas proteínas virais atuam como polimerase para a replicação do RNA viral, bem como para a transcrição. A tradução é necessária à replicação, particularmente das proteínas virais N e P. O RNA genômico recém-replicado associa-se à transcriptase e à nucleoproteína do vírus, formando cernes de RNP no citoplasma. As partículas adquirem um envelope mediante brotamento através da membrana plasmática. A proteína da matriz viral forma uma camada no lado interno do envelope, enquanto a glicoproteína viral localiza-se na camada externa, onde forma as espículas.

E. Suscetibilidade animal e crescimento do vírus

O vírus da raiva apresenta ampla variedade de hospedeiros. Todos os animais de sangue quente, inclusive os seres humanos, podem ser infectados. A suscetibilidade varia entre as espécies de mamíferos, indo desde os mais suscetíveis (raposas, coiotes, lobos) até os de menor suscetibilidade (gambás). Os animais de suscetibilidade intermediária são doninhas, guaxinins e morcegos (Quadro 42.2). O vírus encontra-se amplamente distribuído nos animais infectados, particularmente no sistema nervoso, na saliva, na urina, na linfa, no leite e no sangue. A recuperação da infecção é rara, exceto em determinados morcegos, nos quais o vírus tornou-se peculiarmente adaptado às glândulas salivares. Os morcegos hematófagos podem transmitir o vírus durante meses sem apresentar quaisquer sinais de doença.

Quando recém-isoladas no laboratório, as cepas são denominadas vírus de rua, exibindo períodos de incubação longos e variáveis (em geral, 21 a 60 dias em cães), e produzindo regularmente corpos de inclusão intracitoplasmáticos. A passagem seriada de cérebro para cérebro em coelhos produz um vírus “fixo” que não se multiplica mais em tecidos extraneurais. Esse vírus fixo (ou mutante) multiplica-se rapidamente, sendo o período de incubação reduzido para 4 a 6 dias. Os corpos de inclusão mostram-se mais difíceis de serem detectados.

F. Propriedades antigênicas

Existe um único sorotipo do vírus da raiva. Entretanto, são observadas diferenças entre cepas isoladas de diferentes espécies (guaxinins, raposas, doninhas, cães, morcegos) em áreas geográficas diversas. Essas cepas virais podem ser distinguidas por epítomos na nucleoproteína e na glicoproteína, reconhecidos por anticorpos monoclonais, bem como por sequências específicas de nucleotídeos. Existem pelo menos sete variantes antigênicas encontradas em animais terrestres e em morcegos.

A glicoproteína G é o principal fator de patogenicidade e neuroinvasividade do vírus da raiva. Foram selecionados mutantes avirulentos do vírus da raiva por meio de determinados anticorpos monoclonais contra a glicoproteína viral. Uma substituição na posição 333 de um aminoácido da glicoproteína resulta em perda da virulência, indicando que esse local da proteína desempenha algum papel essencial na patogênese da doença.

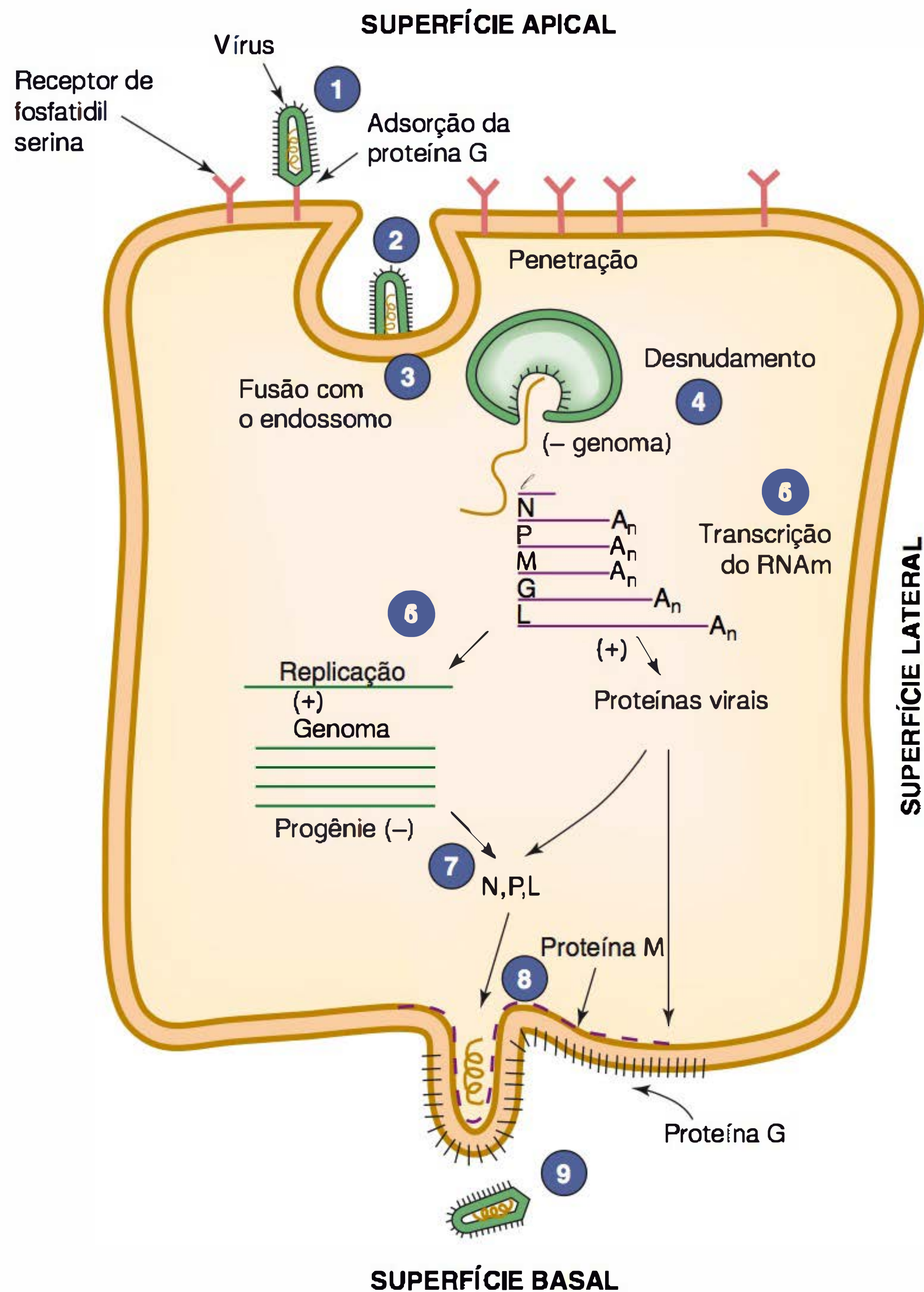


FIGURA 42.2 Etapas da replicação de um rabdovírus: (1) fixação do vírus; (2) penetração no interior de um endossomo; (3) fusão do vírus com a membrana endossômica, liberando o cerne no citoplasma; (4) desnudamento do nucleocapsídeo; (5) RNA genômico viral de sentido negativo transcrito em RNA de sentido positivo; (6) o RNA de sentido positivo atua como modelo para a síntese do genoma viral, e o RNAm dá origem às proteínas virais; (7) o RNA de sentido negativo incorpora-se aos nucleocapsídeos (N); (8) os nucleocapsídeos juntam-se à proteína da matriz (M) na superfície celular; e (9) brotamento do vírus a partir da superfície celular. (Reproduzida, com autorização, de Levy JA, Fraenkel-Conrat H, Owens RA: *Virology*, 3rd ed. Prentice Hall, 1994.)

As espículas purificadas que contêm a glicoproteína viral desencadeiam a produção de anticorpos neutralizantes em animais. Utiliza-se antissoro preparado contra o nucleocapsídeo purificado na imunofluorescência diagnóstica para a raiva.

Patogênese e patologia

O vírus da raiva multiplica-se no tecido muscular ou no tecido conectivo, no local da inoculação, e em seguida penetra nos nervos periféricos, nas junções neuromusculares, e propaga-se pelos nervos até o sistema nervoso central. Entretanto, também é possível que o vírus da raiva penetre diretamente no sistema nervoso sem replicação local. O vírus multiplica-se no sistema nervoso central, e uma encefalite progressiva se desenvolve. O vírus pode, então, propagar-se através dos nervos periféricos para as glândulas salivares e outros tecidos. A glândula salivar

submaxilar é o órgão que apresenta títulos mais elevados do vírus. Os outros órgãos em que o vírus da raiva foi encontrado são o pâncreas, os rins, o coração, a retina e a córnea. O vírus da raiva não foi isolado do sangue de indivíduos infectados.

A suscetibilidade à infecção e o período de incubação podem depender da idade, da constituição genética e do estado imunológico do hospedeiro, da cepa viral envolvida, da quantidade de inóculo, da gravidade das lacerações e da distância que o vírus deve percorrer de seu ponto de entrada até o sistema nervoso central. As pessoas mordidas no rosto ou na cabeça apresentam maior taxa de ataque e período de incubação mais curto, enquanto as mordidas nas pernas exibem menor taxa de mortalidade.

O vírus da raiva produz uma inclusão citoplasmática eosinofílica específica, denominada corpúsculo de Negri, nas células nervosas infectadas. Os corpúsculos de Negri são repletos

QUADRO 42.2 Suscetibilidade dos animais à raiva

Muito alta	Alta	Moderada	Baixa
Raposas	Hamsters	Cães	Gambás
Coíotes	Doninhas	Carneiros	
Chacais	Guaxinins	Cabras	
Lobos	Gatos	Cavalos	
Ratos brancos	Morcegos	Primatas não humanos	
	Coelhos		
	Bovinos		

Modificado, com permissão, de Baer GM, Bellini WJ, Fishbein DB: Rhabdoviruses. In: *Fields Virology*. Fields BN et al (editors). Raven Press, 1990.

de nucleocapsídeos virais. A presença dessas inclusões é patognômica da raiva, embora não sejam observadas em pelo menos 20% dos casos. Por conseguinte, a ausência de corpúsculos de Negri não afasta a possibilidade de raiva como diagnóstico. A importância dos corpúsculos de Negri no diagnóstico da raiva diminuiu com o desenvolvimento de testes diagnósticos mais sensíveis de anticorpo fluorescente e reação em cadeia da polimerase-transcriptase reversa.

Manifestações clínicas

A raiva é primariamente uma doença de animais inferiores, transmitida aos seres humanos por meio de mordidas de animais raivosos ou de contato com a saliva desses animais. A doença é uma encefalite fulminante, aguda e fatal. Nos seres humanos, o período de incubação é tipicamente de 1 a 3 meses, porém pode ser mais curto, de apenas 1 semana, ou mais de 1 ano. Em geral, é mais curto em crianças do que em adultos. O espectro clínico pode ser dividido em três fases: fase prodromica curta, fase neurológica aguda e coma. O pródrômo, cuja duração é de 2 a 10 dias, pode apresentar qualquer um dos seguintes sintomas inespecíficos: mal-estar, anorexia, cefaleia, fotofobia, náuseas, vômitos, faringite e febre. Comumente, o paciente relata uma sensação anormal ao redor do local do ferimento.

Durante a fase neurológica aguda, que dura 2 a 7 dias, os pacientes exibem sinais de disfunção do sistema nervoso, como nervosismo, apreensão, alucinações e conduta bizarra. Observa-se hiperatividade simpática generalizada, inclusive lacrimejamento, dilatação pupilar, bem como aumento da salivação e da sudorese. Uma grande parcela de pacientes apresenta hidrofobia (medo de água) ou aerofobia (medo quando se sente uma brisa de ar). O ato da deglutição precipita um espasmo doloroso dos músculos da garganta, fase seguida de crises convulsivas ou de coma e morte. A parada cardiorespiratória constitui a principal causa de morte. Ocorre raiva paralítica em cerca de 30% dos pacientes, mais frequentemente nos infectados pelo vírus da raiva do morcego. A evolução da doença é mais lenta, e alguns pacientes sobrevivem 30 dias. Recuperação e sobrevivência são extremamente raras.

Deve-se considerar a possibilidade de raiva em qualquer caso de encefalite ou mielite de causa desconhecida, mesmo na ausência de história de exposição, particularmente em uma pessoa que

viveu ou viajou para fora dos EUA. A maioria dos casos de raiva nos EUA é observada em indivíduos sem exposição conhecida. Devido ao longo período de incubação, a pessoa pode esquecer um possível incidente de exposição. Além disso, os indivíduos infectados pelo vírus da raiva do morcego frequentemente não lembram ter sido mordidos por um morcego.

O período de incubação habitual em cães varia de 3 a 8 semanas, mas pode ser curto, de apenas 10 dias. Do ponto de vista clínico, a doença em cães é dividida nas mesmas três fases da raiva humana.

Diagnóstico laboratorial

Não há testes laboratoriais para o diagnóstico da raiva humana, antes do início dos sintomas clínicos.

A. Antígenos ou ácidos nucleicos da raiva

Na atualidade, os tecidos infectados pelo vírus da raiva são identificados mais rapidamente e de modo mais acurado por imunofluorescência ou coloração com imunoperoxidase, utilizando-se anticorpos monoclonais antirrábicos. Uma biópsia da amostra normalmente é feita da pele do pescoço próxima ao couro cabeludo. Podem ser utilizadas preparações de impressões do cérebro ou do tecido da córnea.

O achado de corpúsculos de Negri no cérebro ou na medula espinal pode ser utilizado para se estabelecer um diagnóstico patológico definitivo. Os corpúsculos de Negri são nitidamente demarcados, mais ou menos esféricos, com 2 a 10 μm de diâmetro. Exibem uma estrutura interna distinta, com grânulos basofílicos em uma matriz eosinofílica. Contêm antígenos do vírus da raiva (Fig. 42.3). Em geral, tanto os corpúsculos de Negri quanto o antígeno da raiva podem ser encontrados em animais ou seres humanos infectados pelo vírus da raiva, enquanto são raramente detectados em morcegos.

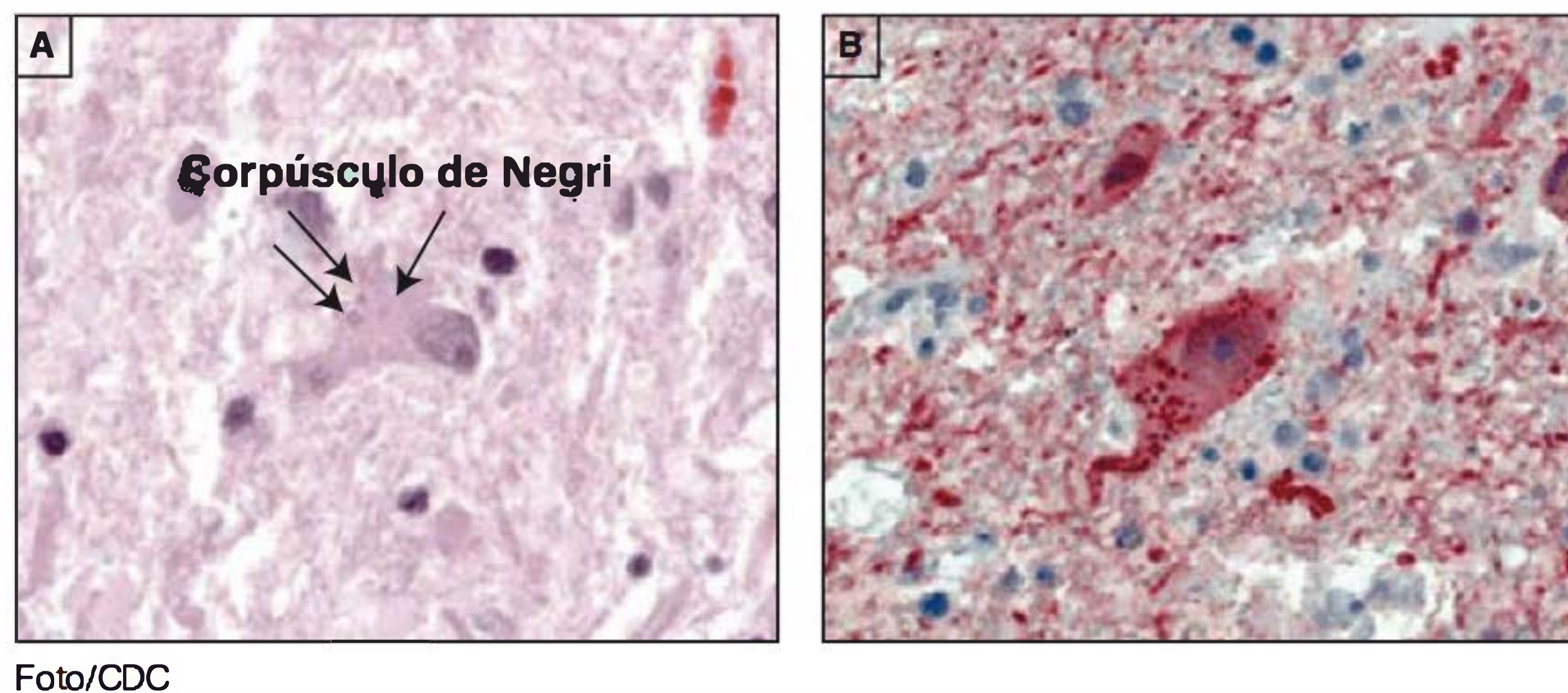
Pode-se recorrer ao teste da reação em cadeia da polimerase por transcrição reversa para amplificar partes do genoma do vírus da raiva em tecido cerebral fixado ou não fixado. A determinação da sequência dos produtos amplificados permite a identificação da cepa infectante.

B. Sorologia

Os anticorpos séricos contra a raiva podem ser detectados, por testes de imunofluorescência ou de neutralização. Pode-se verificar o lento desenvolvimento desses anticorpos em indivíduos ou animais infectados, durante a evolução da doença, mas o mesmo ocorre imediatamente após a vacinação com vacinas derivadas de células. Os anticorpos no líquido cerebrospinal (LCS) são produzidos em indivíduos infectados pela raiva, mas não em resposta à vacinação.

C. Isolamento do vírus

O tecido disponível é inoculado por via intracerebral em camundongos recém-nascidos. A infecção nos camundongos resulta em encefalite e morte. O sistema nervoso central do animal inoculado é examinado à procura de corpúsculos de Negri e antígenos da raiva. Em laboratórios especializados, linhagens celulares de *hamsters* e camundongos podem ser inoculadas



Foto/CDC

FIGURA 42.3 Exame de corte histopatológico de tecido do SNC a partir de necropsia, demonstrando a presença de inclusões citoplasmáticas neuronais (corpúsculo de Negri), após coloração de hematoxilina-eosina (A), e antígenos do vírus da raiva (vermelho) após imuno-histoquímica (B). (Fonte: Centers for Disease Control and Prevention: Human rabies-Kentucky/Indiana, 2009. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2010;59:393.)

para o rápido crescimento (2 a 4 dias) do vírus da raiva; esse método é muito mais rápido que o isolamento do vírus em camundongos. O vírus isolado é identificado por testes de anticorpo fluorescente com antissoro específico. O isolamento do vírus leva muito tempo para ser realizado e não tem utilidade para se tomar a decisão sobre a administração da vacina.

D. Observação animal

Todos os animais considerados “raivosos ou sob suspeita de raiva” (Quadro 42.3) devem ser imediatamente sacrificados para exame laboratorial dos tecidos neurais. Outros animais devem ser mantidos em observação durante 10 dias. Se esses animais apresentarem quaisquer sinais de encefalite, raiva ou comportamento anormal, eles deverão ser sacrificados de

maneira humanitária, e os tecidos, examinados em laboratório. Mas, se tiverem aspecto normal após 10 dias, deverá ser tomada uma decisão em conjunto com as autoridades de saúde pública.

Imunidade e prevenção

Apenas um tipo antigênico de vírus da raiva é conhecido. Mais de 99% das infecções em seres humanos e mamíferos que apresentam sintomas são fatais. A sobrevivência após o início dos sintomas da raiva é extremamente rara. Por conseguinte, é essencial que os indivíduos de alto risco recebam imunização preventiva, que a natureza e o risco de qualquer exposição sejam avaliados, e que os indivíduos recebam profilaxia pós-exposição caso se acredite que a exposição tenha sido perigosa (Quadro 42.3).

QUADRO 42.3 Guia de profilaxia pós-exposição contra a raiva — EUA, 2008

As recomendações a seguir constituem apenas uma orientação. Ao aplicá-las é preciso levar em consideração a espécie animal envolvida, as circunstâncias da mordida ou de outra exposição, o *status* de vacinação do animal e a presença de raiva na região. Observação: as autoridades locais de saúde pública oficiais devem ser consultadas se houver qualquer dúvida quanto à necessidade de profilaxia contra a raiva.

Tipo de animal	Avaliação do animal	Tratamento dos indivíduos expostos ^a
Doméstico		
Cães, gatos e furões	Saudável e disponível para 10 dias de observação	Nenhum, a não ser que o animal desenvolva sintomas de raiva
	Raivoso ou sob suspeita de raiva	Iniciar profilaxia imediatamente
	Desconhecida (o animal escapou)	Consultar as autoridades de saúde pública
Selvagem		
Doninhas, raposas, morcegos, guaxinins, coiotes e outros carnívoros	Considerar raivoso, a não ser que o animal seja comprovadamente negativo por testes laboratoriais	Considerar profilaxia imediata
Outros		
Gado, roedores e lagomorfos (coelhos e lebres)	Considerar cada caso. As autoridades de saúde pública oficiais devem ser consultadas sobre a necessidade de profilaxia contra a raiva. Mordidas de esquilos, <i>hamsters</i> , cobaias, gerbos, tãmiás, ratos, camundongos e outros roedores, coelhos e lebres quase nunca exigem profilaxia antirrábica.	

Profilaxia consiste em: limpeza imediata da mordida ou ferimento com água e sabão, administração da imunoglobulina contra o vírus da raiva e vacinação.

Fonte: *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2008;57(RR-3):1.

Como o tratamento não tem benefício algum após o início da doença clínica, é essencial iniciar imediatamente o tratamento pós-exposição. A profilaxia pós-exposição consiste em limpeza imediata e completa das feridas com sabão e água, administração de imunoglobulina antirrábica e esquema de vacinação.

A. Fisiopatologia da prevenção da raiva por vacina

É provável que seja necessária a amplificação do vírus no músculo, próximo ao local de inoculação, para que a concentração de vírus seja suficiente para provocar infecção do sistema nervoso central. Nos casos em que a vacina imunogênica ou os anticorpos específicos podem ser administrados imediatamente, é possível reduzir a replicação do vírus, podendo-se evitar a invasão do sistema nervoso central pelo vírus. A ação dos anticorpos administrados passivamente consiste em neutralizar parte dos vírus inoculados e reduzir a sua concentração no corpo, proporcionando tempo adicional para que a vacina possa estimular a produção ativa de anticorpos, a fim de evitar a invasão do sistema nervoso central pelo vírus.

B. Tipos de vacina

Todas as vacinas para uso humano contêm apenas o vírus inativado da raiva. Nos EUA, dispõe-se de duas vacinas, embora várias outras sejam utilizadas em outros países. Ambas as vacinas antirrábicas disponíveis nos EUA mostram-se igualmente seguras e eficazes.

1. Vacina com células diploides humanas (*human diploid cell vaccine* [HDCV]) — para se obter uma suspensão do vírus da raiva isenta de proteínas estranhas e do sistema nervoso, o vírus da raiva foi cultivado em linhagem celular diploide humana MRC-5. A preparação com vírus da raiva é concentrada por ultrafiltração e inativada com β -propiolactona. Não foi relatada qualquer reação anafilática ou encefalítica grave. Tal vacina vem sendo utilizada nos EUA desde 1980.

2. Vacina de células do embrião de galinha purificado (*purified chick embryo cell vaccine* [PCEC]) — esta vacina é preparada a partir da cepa do vírus da raiva fixo Flury LEP, que cresce nos fibroblastos de galinha. É inativada com β -propiolactona e purificada por centrifugação zonal. Tornou-se disponível nos EUA em 1997.

3. Vacina antirrábica adsorvida (*rabies vaccine adsorbed* [RVA]) — em 1988, foi aprovada nos EUA uma vacina feita com uma linhagem celular diploide derivada de células pulmonares fetais de macaco *rhesus*. O vírus dessa vacina é inativado com β -propiolactona e concentrado por adsorção ao fosfato de alumínio. Esta vacina não está mais disponível nos EUA desde 2009.

4. Vacina com tecido nervoso — trata-se de vacina feita com cérebros infectados de carneiros, cabras ou camundongos, e utilizada em muitas partes do mundo, como Ásia, África e América do Sul. Possui baixa potência por dose e o tratamento completo compreende até 23 injeções dolorosas. Causa a sensibilização do tecido nervoso e resulta em encefalite pós-vacinal (doença alérgica) com frequência significativa (0,05%).

As estimativas de sua eficácia, em indivíduos mordidos por animais raivosos, variam de 5 a 50%.

5. Vacina com embrião de pato — foi desenvolvida para minimizar o problema da encefalite pós-vacinal. O vírus da raiva é cultivado em ovos embrionados de pata. As reações anafiláticas são raras, porém a antigenicidade da vacina mostra-se baixa, exigindo a administração de muitas doses (16 a 25) para se obter uma resposta humoral pós-exposição satisfatória. Não é produzida há algum tempo.

6. Vírus vivos atenuados — os vírus vivos atenuados e adaptados ao crescimento em embriões de galinha (p. ex., cepa Flury) são utilizados para animais, mas *não* para seres humanos. Em certas ocasiões, essas vacinas podem causar morte pela raiva em cães ou gatos inoculados. Também foram utilizados vírus da raiva desenvolvidos em várias culturas de células animais como vacinas para animais domésticos.

Uma vacina com vírus recombinante, constituída de vírus da vacínia transportando o gene da glicoproteína de superfície do vírus da raiva, tem imunizado com sucesso animais após administração oral, podendo vir a ser valiosa na imunização de reservatórios animais selvagens e animais domésticos.

C. Tipos de anticorpo antirrábico

1. Imunoglobulina antirrábica humana (*human rabies immune globulin* [HRIG]) — a HRIG é uma gamaglobulina preparada por fracionamento em etanol a frio a partir do plasma de seres humanos hiperimunizados. Ocorrem menos reações adversas à imunoglobulina antirrábica humana do que ao soro antirrábico equino.

2. Soro antirrábico equino — trata-se do soro concentrado de cavalos hiperimunizados com o vírus da raiva. Tem sido utilizado em países em que a HRIG não está disponível.

D. Profilaxia pré-exposição

É indicada aos indivíduos com alto risco de contato com o vírus da raiva (pessoas que trabalham em laboratórios clínicos e de pesquisa, espeleólogos) ou com animais raivosos (veterinários, pessoas que trabalham com o controle de animais domésticos e selvagens). O objetivo consiste em alcançar um nível de anticorpos considerado protetor mediante a administração da vacina antes de qualquer exposição. Recomenda-se que os títulos de anticorpos dos indivíduos vacinados sejam monitorados periodicamente, com administração de reforço quando necessário.

E. Profilaxia pós-exposição

Embora sejam notificados poucos casos (0 a 5) de raiva humana nos EUA, a cada ano, mais de 20.000 pessoas recebem anualmente alguma forma de tratamento para uma possível exposição a mordidas. A decisão quanto à administração de anticorpos antirrábicos, vacina antirrábica ou ambos depende de diversos fatores: (1) da natureza do animal que mordeu (espécie, estado de saúde, doméstico ou selvagem) e de sua condição de vacinação; (2) da disponibilidade do animal para

exame laboratorial (*todas* as mordidas de animais selvagens e morcegos exigem a administração de imunoglobulina e vacina antirrábicas); (3) da existência de raiva na região; (4) do tipo de ataque (provocado ou não); (5) da gravidade da mordida e da contaminação por saliva do animal; e (6) do aconselhamento das autoridades locais de saúde pública (EUA) (Quadro 42.3). Os esquemas para profilaxia pós-exposição, envolvendo a administração de imunoglobulina e vacina antirrábicas, são fornecidos pelos Centers for Disease Control and Prevention e autoridades estaduais de saúde pública.

Epidemiologia

Acredita-se que a raiva seja uma das dez maiores causas de morte em seres humanos devidas a infecções.

A raiva é enzoótica em animais selvagens e domésticos. No mundo, ocorrem anualmente pelo menos 50.000 mortes causadas pelo vírus da raiva humana, mas em muitos países a raiva não é relatada em sua totalidade. Quase todas as mortes por raiva (> 99%) ocorrem em países em desenvolvimento, sendo a Ásia responsável por cerca de 90% dos casos fatais. Nestes países, a raiva canina ainda é endêmica, e a maioria dos casos humanos ocorre em consequência de mordida de cães raivosos. Indivíduos de 5 a 15 anos de idade representam risco particular. Estima-se que 15 milhões de pessoas recebam anualmente profilaxia pós-exposição, principalmente na Índia e China.

Nos EUA, Canadá e na Europa Ocidental, onde a raiva canina foi controlada, os cães são responsáveis por um número muito pequeno de casos. Com efeito, a raiva humana decorre de mordidas de animais selvagens (particularmente morcegos, guaxinins, doninhas e raposas) ou ocorre em viajantes mordidos por cães em outras partes do mundo. Na América Latina, a raiva transmitida por morcegos hematófagos constitui o problema mais grave no gado bovino. O aumento na incidência de raiva silvestre nos EUA e em alguns outros países desenvolvidos representa um risco muito maior para os seres humanos do que a raiva transmitida por cães ou gatos.

Como principal resultado do controle sucessivo da raiva em cães domésticos, a incidência da raiva humana nos EUA declinou para pouco menos que três pessoas por ano durante as últimas duas décadas.

A análise antigênica com anticorpos monoclonais e com genotipagem por análise da sequência de nucleotídeos pode distinguir os vírus da raiva isolados de diferentes reservatórios animais. De 2000 a 2011, foram diagnosticados 32 casos de raiva humana nos EUA, onde mais de 95% dos casos foram comprovados devido ao vírus associado a morcegos. Oito de nove pacientes de raiva adquirida fora dos EUA apresentaram cepas associadas a cães.

Nos EUA, os guaxinins representam um importante reservatório da raiva, sendo responsáveis por mais de metade dos casos registrados de raiva animal. Acredita-se que a raiva do guaxinim tenha sido introduzida na região média do Atlântico nos anos 1970 quando guaxinins infectados foram transportados para lá provenientes do Sudeste dos EUA, a fim de repor os estoques para caça. A raiva do guaxinim epizootica propagou-se e hoje inclui o Leste dos EUA até o Canadá.

Os morcegos representam um problema especial, uma vez que podem transportar o vírus da raiva apesar de estarem aparentemente saudáveis, excretá-lo na saliva, bem como transmiti-lo

a outros animais e seres humanos. Entre os casos de raiva humana nos EUA atribuídos a variantes associadas a morcegos, a maioria foi causada pela variante do morcego de pelos de prata e variantes do morcego pipistrela do leste. Entretanto, somente dois casos foram associados à história de mordida de morcego, visto que a maioria das exposições ao animal não é detectada.

As cavernas habitadas por morcegos podem conter aerossóis do vírus da raiva, constituindo um risco para os espeleólogos. Morcegos frugívoros migratórios são encontrados em muitos países e constituem uma fonte de infecção para muitos animais e o homem. A raiva do morcego pode ser importante no início de zoonoses terrestres em novas regiões. Na Austrália, considerada há muito tempo um continente isento de raiva, foi constatada, em 1996, a presença do vírus da raiva em morcegos frugívoros. Todas as pessoas mordidas por morcegos devem receber profilaxia pós-exposição contra a raiva.

A transmissão humana da raiva é muito rara. O único caso documentado de transmissão interpessoal envolve a raiva transmitida por transplante de córnea — as córneas eram de doadores que haviam morrido de doenças do sistema nervoso central não diagnosticadas, e os receptores morreram de raiva 50 a 80 dias após o transplante. O primeiro caso documentado, envolvendo transplante de órgãos sólidos, ocorreu nos EUA, em 2004. O fígado e os rins de um único doador foram transplantados para três pacientes, morrendo todos 5 a 7 semanas mais tarde, por raiva confirmada. A transmissão provavelmente ocorreu via tecido neuronal dos órgãos transplantados, pois o vírus da raiva não se dissemina pelo sangue. Teoricamente, a raiva pode originar-se da saliva de um paciente que apresenta raiva, com a consequente exposição do pessoal; entretanto, esse tipo de transmissão nunca foi documentado.

Tratamento e controle

Não existe tratamento bem-sucedido para a raiva clínica. O interferon, a ribavirina e outros fármacos não mostram efeitos benéficos. O tratamento sintomático pode prolongar a vida, porém a evolução é quase sempre fatal.

Historicamente, vários acontecimentos importantes contribuíram para o controle da raiva humana: o desenvolvimento de uma vacina antirrábica humana (1885), a descoberta dos corpúsculos de Negri para o estabelecimento do diagnóstico (1903), o uso de vacinas antirrábicas para cães (anos 1940), o acréscimo de imunoglobulina antirrábica a tratamentos com vacina pós-exposição no homem (1954), o crescimento do vírus da raiva em células cultivadas (1958) e o desenvolvimento de testes diagnósticos de anticorpos fluorescentes (1959).

A vacinação pré-exposição é recomendada a todas as pessoas com alto risco de contato com animais raivosos, como veterinários, pessoas que cuidam de animais, certos funcionários de laboratório e espeleólogos. As pessoas que viajam para países em desenvolvimento, em que os programas de controle da raiva em animais domésticos não são ideais, deverão receber profilaxia pré-exposição se planejarem permanecer no país por mais de 30 dias. Todavia, a profilaxia pré-exposição não eliminará a necessidade de profilaxia pós-exposição imediata se houver exposição à raiva.

Os países isolados (p. ex., a Grã-Bretanha), que não apresentam raiva em seus animais selvagens, podem estabelecer procedimentos de quarentena para cães e outros animais de

QUADRO 42.4 Propriedades importantes dos bornavírus

Virion: esférico, com 90 nm de diâmetro
Genoma: RNA de fita simples, linear, não segmentado, de sentido negativo, com 8,9 kb e PM de 3 milhões
Proteínas: seis proteínas estruturais
Envelope: presente
Replicação: no núcleo; local de maturação não identificado
Características marcantes: ampla variedade de hospedeiros Neurotrópico Causa anormalidades de conduta neurológica

estimação importados. Nos países em que existe raiva canina, os animais vira-latas devem ser mortos, e a vacinação de cães e gatos domésticos deve ser obrigatória. Nos países em que ocorre raiva silvestre e o contato entre animais domésticos, de estimação e selvagens é inevitável, todos os animais domésticos e de estimação devem ser vacinados.

Uma vacina oral com vírus de vacínia-glicoproteína recombinante da raiva (V-RG) mostrou-se eficaz no controle da raiva em raposas na Europa. Adicionada aos alimentos, a vacina oral está sendo utilizada para reduzir a raiva epizootica em animais selvagens nos EUA.

DOENÇA DE BORNA

A doença de Borna, uma doença do sistema nervoso central de cavalos e carneiros em certas áreas da Alemanha, manifesta-se por anormalidades comportamentais, geralmente levando à morte. Infiltrados celulares inflamatórios estão presentes no cérebro. O distúrbio é imunologicamente mediado.

A doença é causada pelo vírus da doença de Borna (BDV), um vírus de RNA não segmentado, de fita negativa, com envelope, da família **Bornaviridae** (Quadro 42.4). O BDV é um vírus novo, entre os vírus de RNA de sentido negativo e não segmentado, visto que transcreve e replica seu genoma no núcleo, bem como utiliza a junção (*splicing*) do RNA para a regulação da expressão gênica; é altamente neurotrópico e estabelece infecções permanentes. Existe um único sorotipo reconhecido de BDV. Os títulos de anticorpos neutralizantes, produzidos em espécies hospedeiras, é geralmente muito baixo.

Muitas espécies podem ser infectadas por bornavírus, inclusive os seres humanos. Os dados sorológicos e de RT-PCR sugerem que o BDV pode estar associado a transtornos neuropsiquiátricos em seres humanos, embora ainda não tenha sido estabelecido se o BDV está etiológicamente envolvido na fisiopatologia de certos transtornos mentais no homem.

INFECÇÕES POR VÍRUS LENTOS E DOENÇAS CAUSADAS POR PRÍONS

Algumas doenças degenerativas crônicas do sistema nervoso central em seres humanos são causadas por infecções persis-

tentes “lentas” ou crônicas por vírus clássicos. Entre elas, destacam-se a panencefalite esclerosante subaguda e a leucoencefalopatia multifocal progressiva. Outras doenças, conhecidas como encefalites espongiformes transmissíveis, como o kuru e a doença de Creutzfeldt-Jakob (CJD), são causadas por agentes transmissíveis não convencionais, denominados “príons” (Quadro 42.5). As doenças neurológicas progressivas, provocadas por esses agentes, podem ter períodos de incubação de anos antes do aparecimento das manifestações clínicas das infecções (Quadro 42.5).

Infecções por vírus lentos

A. Visna

O vírus visna e o vírus da **pneumonia progressiva** (*maedi*) são agentes estreitamente relacionados que provocam infecções de desenvolvimento lento em carneiros, sendo classificados como retrovírus (gênero *Lentivirus*; ver Cap. 44).

O vírus visna infecta todos os órgãos do corpo de carneiros infectados; entretanto, as alterações patológicas limitam-se primariamente ao cérebro, aos pulmões e ao sistema reticuloendotelial. Verifica-se o desenvolvimento de lesões inflamatórias do sistema nervoso central logo após a infecção, mas em geral há um longo período de incubação (meses a anos) antes do aparecimento de sintomas neurológicos perceptíveis. A evolução da doença pode ser rápida (semanas) ou lenta (anos).

O vírus pode ser isolado durante a vida do animal, porém a expressão viral é restrita *in vivo*, de modo que pode haver apenas quantidades mínimas de vírus infectante no hospedeiro. Ocorre variação antigênica durante as infecções persistentes em longo prazo. São observadas inúmeras mutações no gene estrutural que codifica as glicoproteínas do envelope viral. Os animais infectados desenvolvem anticorpos contra o vírus.

B. Panencefalite esclerosante subaguda

Trata-se de uma doença rara de adultos jovens, causada pelo vírus do sarampo, com lenta e progressiva desmielinização do sistema nervoso central que culmina em morte (Cap. 40). São produzidos grandes números de estruturas de nucleocapsídeos virais nos neurônios e nas células gliais. Verifica-se uma expressão restrita dos genes virais que codificam as proteínas do envelope, de modo que o vírus nas células neurais persistentemente infectadas carece das proteínas necessárias para a produção de partículas infecciosas. Os pacientes com panencefalite esclerosante subaguda apresentam títulos elevados de anticorpo contra o sarampo, à exceção do anticorpo contra a proteína M, frequentemente ausente. A eficiência reduzida de transcrição do vírus do sarampo em células cerebrais diferenciadas é importante na manutenção da infecção persistente, que resulta em panencefalite esclerosante subaguda.

C. Leucoencefalopatia multifocal progressiva

O vírus JC (JCV), um membro da família **Polyomaviridae** (ver Cap. 43), é o agente etiológico da leucoencefalopatia multifocal progressiva, uma complicação do sistema nervoso central que ocorre em alguns indivíduos imunossuprimidos. Apesar

QUADRO 42.5 Doenças causadas por vírus lentos e príons

Doença	Agente	Hospedeiros	Período de incubação	Natureza da doença
Doenças em seres humanos				
Panencefalite esclerosante subaguda	Variante do vírus do sarampo	Seres humanos	2 a 20 anos	Panencefalite esclerosante crônica
Leucoencefalopatia multifocal progressiva	Poliomavírus, JVC	Seres humanos	Anos	Desmielinização do sistema nervoso central
DCJ	Príon	Seres humanos, chimpanzés, macacos	Meses a anos	Encefalopatia espongiiforme
Variante de DCJ ^a	Príon	Seres humanos, bovinos	Seres humanos, chimpanzés, macacos	Encefalopatia espongiiforme
Kuru	Príon	Seres humanos, chimpanzés, macacos	Seres humanos, chimpanzés, macacos	Encefalopatia espongiiforme
Doenças em animais				
Visna	Retrovírus	Carneiros	Meses a anos	Desmielinização do sistema nervoso central
Scrapie	Príon	Carneiros, cabras, camundongos, hamsters	Meses a anos	Encefalopatia espongiiforme
Encefalopatia espongiiforme bovina	Príon	Bovinos	Meses a anos	Encefalopatia espongiiforme
Encefalopatia transmissível das martas	Príon	Marta, outros animais	Meses	Encefalopatia espongiiforme
Doença desgastante crônica	Príon	Mulas, veados e alces	Meses a anos	Encefalopatia espongiiforme

DCJ, doença de Creutzfeldt-Jakob.

^aAssociada à exposição a material contaminado com encefalopatia espongiiforme bovina.

de extremamente rara, a doença ocorre em uma proporção significativa (cerca de 5%) de pacientes com Aids; entretanto, como os antivirais tornam a progressão das infecções pelo vírus da imunodeficiência humana mais lenta, poucos pacientes desenvolvem esta doença. A leucoencefalopatia multifocal progressiva é, também, uma complicação rara associada a algumas terapias com anticorpos monoclonais para doenças, como a esclerose múltipla. A desmielinização do sistema nervoso central dos pacientes com leucoencefalopatia multifocal progressiva resulta reativação e replicação do JCV, quando o indivíduo se encontra imunossuprimido.

Encefalopatias espongiiformes transmissíveis (doenças causadas por príons)

As doenças degenerativas do sistema nervoso central — o kuru, a DCJ, a síndrome de Gerstmann-Sträussler-Scheinker e a insônia familiar fatal de seres humanos, o *scrapie* de carneiros, a encefalopatia transmissível de martas, a encefalopatia espongiiforme bovina e a doença crônica dos cervos — têm características patológicas semelhantes. Estas doenças são descritas como encefalopatias espongiiformes transmissíveis. Os agentes

etiológicos não são vírus convencionais, e a infecciosidade está associada à presença de material proteínáceo desprovido de quantidades detectáveis de ácido nucleico. Utiliza-se o termo “príon” para designar essa nova classe de agentes.

Os diferentes tipos de príon parecem ter mecanismos comuns de patogênese. Existem barreiras de espécie para todas as encefalopatias espongiiformes transmissíveis, porém alguns príons já cruzaram essas barreiras.

Os príons mostram-se notavelmente resistentes aos meios padronizados de inativação, sendo resistentes ao tratamento com formaldeído (3,7%), ureia (8 M), calor seco, fervura, etanol (50%), proteases, desoxicolato (5%) e radiação ionizante. Entretanto, mostram-se sensíveis ao fenol (90%), alvejante domiciliar, éter, NaOH (2 N), detergentes fortes (dodecil sulfato de sódio a 10%) e autoclavagem (1 h a 121°C). O tiocianato de guanidina é altamente eficaz na descontaminação de materiais e instrumentos médicos.

As doenças causadas por esses agentes não convencionais exibem diversas características distintas. Embora o agente etiológico possa ser isolado de outros órgãos, as doenças limitam-se ao sistema nervoso. As características básicas consistem em neurodegeneração e alterações espongiiformes. Pode-se

verificar a presença de placas amiloides. O início da doença clínica é precedido de um longo período de incubação (meses a décadas), seguido de doença progressiva crônica (semanas a anos). As doenças são sempre fatais, sem qualquer caso conhecido de remissão ou recuperação. O hospedeiro não apresenta resposta inflamatória nem resposta imunológica (os agentes parecem não ser antigênicos), a produção de interferon não é estimulada, e não há efeito sobre a função das células B ou T do hospedeiro. A imunossupressão do hospedeiro não exerce efeito algum sobre a patogênese; entretanto, inflamação crônica induzida por outros fatores (vírus, bactéria, autoimunidade) pode afetar a patogênese das doenças por príon. Observou-se que os príons se acumulam em órgãos com inflamação linfocítica crônica. Quando coincidem com nefrite, os príons são excretados na urina.

A. Scrapie

Apresenta acentuadas diferenças na suscetibilidade de diferentes raças de animais. A suscetibilidade à transmissão experimental do *scrapie* varia de 0 a mais de 80% em carneiros, enquanto as cabras exibem uma suscetibilidade de quase 100%. A transmissão do *scrapie* a camundongos e *hamsters*, nos quais o período de incubação é acentuadamente reduzido, facilitou o estudo da doença.

A infecciosidade pode ser isolada de tecidos linfoides no início da infecção e o agente em títulos elevados é encontrado no cérebro, na medula espinal e nos olhos (os únicos locais em que se observam alterações patológicas). O príon está associado com a circulação de linfócitos B em carneiros infectados. A infectividade do príon também foi detectada no leite de ovelhas incubando o *scrapie* natural.

Os títulos máximos de infecciosidade são alcançados no cérebro muito antes do aparecimento de sintomas neurológicos. A doença caracteriza-se pelo desenvolvimento de placas amiloides no sistema nervoso central dos animais infectados. Essas áreas representam acúmulos extracelulares de proteínas, que se coram pelo vermelho congo.

Uma proteína resistente à protease, com massa molecular de 27 a 30 kDa, pode ser purificada a partir do cérebro infectado por *scrapie*, sendo denominada proteína do príon PrP. As preparações que contêm somente PrP, na ausência de ácido nucleico detectável, são infecciosas. A PrP deriva de uma proteína maior codificada pelo hospedeiro PrP^{Sc}, que representa uma versão alterada de uma proteína celular normal (PrP^C), uma proteína de membrana ancorada por glicolípido. O nível de PrP^{Sc} mostra-se aumentado nos cérebros infectados, visto que a proteína se torna resistente à degradação. A suscetibilidade genética à infecção por *scrapie* está associada a mutações puntiformes no gene PrP^C, e os camundongos geneticamente alterados, resultando na ausência de PrP^C, mostram-se resistentes ao *scrapie*. Foi proposto um modelo estrutural para a replicação do príon, em que a PrP^{Sc} forma um heterodímero com PrP^C e a dobra novamente, de modo que se torna semelhante à PrP^{Sc}. Especula-se que as “cepas” de príons refletem diferentes conformações de PrP^{Sc}. Ainda não se sabe ao certo se tal proteína representa o elemento estrutural essencial do agente infeccioso ou um produto patológico que se acumula em consequência da doença. Nos últimos anos, vários estudos foram capazes de produzir príons sintéticos *in vitro* que

causaram infecção quando inoculados *in vivo*, sugerindo que os príons sejam agentes infecciosos.

B. Encefalopatia espongiforme bovina e nova variante da doença de Creutzfeldt-Jakob (DCJ)

Em 1986, na Grã-Bretanha, surgiu no gado bovino uma doença semelhante ao *scrapie*, denominada encefalopatia espongiforme bovina (EEB) ou “doença da vaca louca”. Esse surto foi atribuído ao uso de rações para gado bovino que continham ossos contaminados de carcaças de carneiros infectados por *scrapie* e carcaças de gado infectado por EEB. O uso de tais rações foi proibido em 1988. A epidemia da doença da vaca louca atingiu seu pico na Grã-Bretanha em 1993. Estima-se que 1 milhão de cabeças de gado foi infectado. Também foi constatada a ocorrência de EEB em outros países da Europa. Em 1996, foi reconhecida no Reino Unido uma nova forma variante da DCJ, que ocorreu em indivíduos mais jovens, exibindo características patológicas distintas semelhantes às observadas na EEB. Atualmente, é aceito que as novas formas variantes de DCJ e EEB são causadas por um agente comum, indicando que o agente da EEB infectou humanos. Até 2006, a nova variante da DCJ foi diagnosticada em cerca de 150 pessoas na Inglaterra, a maioria das quais foi a óbito. Um polimorfismo particular na sequência de aminoácidos da proteína príon humana parece influenciar a suscetibilidade à doença.

C. Kuru e DCJ clássica

São duas encefalopatias espongiformes humanas. Homogeneizados de cérebros de pacientes transmitiram ambas as doenças a primatas não humanos. O kuru só ocorre nas regiões montanhosas orientais da Nova Guiné e propagou-se em decorrência do costume de canibalismo ritual de parentes mortos. Desde que esta prática cessou, a doença desapareceu. A DCJ em seres humanos desenvolve-se gradualmente, com demência progressiva, ataxia e mioclonias, levando à morte em 5 a 12 meses. Nos EUA e na Europa, ocorre DCJ esporádica com a frequência de cerca de um caso por milhão de pessoas ao ano, envolvendo pacientes com mais de 50 anos de idade. A incidência estimada é de menos de 1 caso por 200 milhões de pessoas com menos de 30 anos de idade. Entretanto, a nova forma variante da DCJ ligada à EEB tem acometido principalmente indivíduos com menos de 30 anos.

As duas formas familiares de DCJ são a síndrome de Gerstmann-Sträussler-Scheinker e a insônia familiar fatal, doenças raras (10 a 15% dos casos de DCJ) que resultam da herança de mutações no gene PrP.

A DCJ iatrogênica é transmitida acidentalmente por preparações contaminadas de hormônio do crescimento obtidas de hipófises de cadáveres de seres humanos, transplante de córnea, por instrumentos cirúrgicos contaminados e enxertos de dura-máter de cadáveres de seres humanos utilizados para reparo cirúrgico de lesão cefálica. Aparentemente, os receptores de enxertos de dura-máter contaminados continuam apresentando alto risco de desenvolver DCJ durante mais de 20 anos após a realização do enxerto. Não há dados sugestivos atualmente de transmissão da DCJ por sangue ou hemoderivados, embora este potencial exista.

Em tecido cerebral infectado pela DCJ clássica, verifica-se a presença de uma proteína muito semelhante à PrP^{Sc} do *scrapie*.

Especulou-se que o agente da DCJ deriva originalmente de carneiros infectados por *scrapie*, sendo transmitido aos seres humanos pela ingestão de cérebros de carneiros inadequadamente cozidos.

D. Doença desgastante crônica

Uma doença semelhante ao *scrapie*, designada doença desgastante crônica, é encontrada em mulas, veados e alces nos EUA e no Canadá. É transmitida lateralmente com alta eficiência, mas não existem evidências de que tenha sido transmitida ao homem. A infectividade foi detectada nas fezes de veados, antes do aparecimento da sintomatologia clínica. Essas proteínas infectantes estão presentes no solo e podem ser ingeridas por outros veados e alces.

E. Doença de Alzheimer

Existem algumas semelhanças neuropatológicas entre a DCJ e a doença de Alzheimer, inclusive o aparecimento de placas amiloides. Entretanto, a doença não tem sido transmitida experimentalmente a primatas ou roedores, e o material amiloide no cérebro de pacientes com a doença de Alzheimer não contém a proteína PrP^{Sc}.

RESUMO DO CAPÍTULO

- O vírus da raiva é um vírus de RNA pertencente à família dos rabdovírus e associado a quadros de encefalites frequentemente fatais.
- O ser humano é infectado com o vírus da raiva, por meio da mordida de um animal contaminado. O período de incubação varia de uma semana a mais de 1 ano.
- A maioria dos casos mundiais de morte por raiva ocorre na Ásia, também, é resultado da mordida de cães infectados. Nos EUA, a maioria dos casos em seres humanos está associada à mordida de morcegos. Os guaxinins respondem por mais da metade dos casos de raiva animal nos EUA.
- Vacinas inativadas estão disponíveis para imunização humana e vacinas atenuadas para imunização animal.
- A profilaxia pré-exposição consiste na administração de anticorpos contra o vírus da raiva, vacina antirrábica ou ambas, seguida de exposição ao agente viral.
- A panencefalite esclerosante subaguda é uma doença rara, frequentemente fatal, que acomete o SNC e é causada pelo vírus do sarampo.
- A leucoencefalopatia multifocal progressiva é uma doença rara, frequentemente fatal, que acomete o SNC e é causada pelo JCV em indivíduos imunossuprimidos.
- As doenças causadas por príons (encefalopatias espongiiformes transmissíveis) são causadas por proteínas infectantes. Essas doenças incluem o *scrapie* de carneiros, a doença de Creutzfeldt-Jakob em seres humanos e a encefalopatia espongiiforme bovina (doença da vaca louca) em vacas.
- Os príons são extremamente resistentes à inativação, incluindo formaldeído, fervura e radiação. Eles podem ser inativados por autoclavagem e hipoclorito.
- As doenças neurológicas progressivas podem apresentar um longo período de incubação que pode variar de meses até anos.

QUESTÕES DE REVISÃO

1. O vírus da raiva é rapidamente destruído por:
 - (A) Radiação ultravioleta
 - (B) Aquecimento a 56°C durante 1 h
 - (C) Tratamento com éter
 - (D) Tratamento com tripsina
 - (E) Todas as opções anteriores
2. Os príons são facilmente destruídos por:
 - (A) Radiação ionizante
 - (B) Formaldeído
 - (C) Ebulição
 - (D) Proteases
 - (E) Nenhuma das opções anteriores
3. A presença de corpos de inclusão citoplasmáticos eosinofílicos nos neurônios, chamados corpos de Negri, é característica de qual das seguintes infecções do sistema nervoso central?
 - (A) Doença de Borna
 - (B) Raiva
 - (C) Panencefalite subaguda esclerosante
 - (D) Nova variante da doença de Creutzfeldt-Jakob
 - (E) Encefalite pós-vacinal
4. Qual das seguintes afirmativas sobre as vacinas contra a raiva humana é verdadeira?
 - (A) Contêm vírus da raiva atenuados
 - (B) Contêm vários tipos antigênicos do vírus da raiva
 - (C) Podem causar encefalite alérgica quando preparadas de tecido nervoso
 - (D) Podem ser usadas somente para a profilaxia de pré-exposição
 - (E) A vacina feita de embrião de pato é altamente antigênica, requerendo apenas uma dose
5. Um homem de 22 anos de idade, residente em uma pequena cidade próxima de Londres (Inglaterra), aprecia comer bifes de carne bovina. Ele desenvolveu uma doença neurológica progressiva grave, caracterizada por sintomas psiquiátricos, sinais cerebelares e demência. É diagnosticada provável encefalite espongiiforme bovina (EEB). Uma nova variante da doença de Creutzfeldt-Jakob em seres humanos e a EEB parecem ser causadas pelo mesmo agente. Qual das seguintes alternativas é verdadeira sobre estas doenças?
 - (A) A imunossupressão do hospedeiro é um fator predisponente
 - (B) Constitui distúrbio neurodegenerativo mediado pelo sistema imunológico
 - (C) Ocorre um longo período de incubação (meses ou anos) desde o tempo de exposição até o aparecimento dos sintomas
 - (D) O agente só é isolado a partir do sistema nervoso central do hospedeiro infectado
 - (E) A resposta por interferon persiste pelo período de incubação
 - (F) Verifica-se um título elevado de resposta por anticorpos contra a proteína PrP^{Sc} do agente
6. O vírus da raiva tem ampla capacidade de infectar os animais de sangue quente, inclusive os seres humanos. Qual das afirmativas sobre a epidemiologia da raiva é verdadeira?
 - (A) A África responde pela maior parte dos casos fatais de raiva
 - (B) As mordidas de cão causam a maior parte dos casos de raiva humana na Inglaterra
 - (C) Os animais domésticos são a fonte da maioria dos casos de raiva humana nos EUA

- (D) A raiva transmitida de uma pessoa para outra ocorre entre agentes de saúde, com sérios riscos
- (E) A raiva transmitida por morcegos foi responsável pela maior parte dos casos de raiva humana nos EUA na década de 1990
7. O agente infeccioso do *scrapie* pode ser detectado em placas amiloides do cérebro de ovelhas e *hamsters* infectados. O genoma do agente infeccioso é caracterizado por qual dos seguintes tipos de ácido nucleico?
- (A) RNA de fita simples, com sentido negativo
- (B) RNA interferente de pequeno tamanho, o menor RNA infeccioso que se conhece
- (C) Cópia de DNA de genoma RNA, integrado no DNA mitocondrial
- (D) DNA circular de fita simples
- (E) Ácido nucleico não detectável
8. Um homem de 49 anos de idade consultou um neurologista 2 dias após sentir uma dor crescente no braço e parestesia. O neurologista diagnosticou neuropatia atípica. Os sintomas aumentaram, sendo acompanhados de espasmos na mão, bem como relaxamento do lado direito da face e no tronco. O paciente foi admitido no hospital 1 dia depois, apresentando disfagia, hipersalivação, agitação e espasmo muscular generalizado. Os sinais vitais e exames de sangue estavam normais, mas em poucas horas o paciente se tornou confuso. O neurologista consultado suspeitou de raiva. Foram administrados imunoglobulina, vacina contra a raiva e aciclovir. O paciente foi colocado sob ventilação mecânica. Desenvolveu falência renal, morrendo 3 dias depois. Os resultados dos testes foram positivos para raiva. A esposa do paciente relatou que ele não fora mordido por cães ou animais selvagens. A mais provável explicação para a falha do tratamento é:
- (A) O resultado do teste para raiva era falso positivo, e o paciente não teve raiva
- (B) O tratamento foi iniciado após o aparecimento dos sintomas clínicos de raiva
- (C) A vacina era dirigida contra a raiva canina, e o paciente estava infectado com a raiva de morcegos
- (D) As imunoglobulinas contra a raiva não deveriam ser administradas, pois interferem na vacina
- (E) O interferon — e não o regime de tratamento administrado — é o tratamento de escolha assim que os sintomas de raiva surgem
9. Quais dos seguintes animais são citados com maior frequência como portadores da raiva nos EUA?
- (A) Esquilos
- (B) Guaxinins
- (C) Coelhos
- (D) Suínos
- (E) Morcegos
10. Um corredor relata uma “mordida não provocada” por um cão da vizinhança. O cão foi capturado pelas autoridades de controle animal local e parecia saudável. Qual é a ação apropriada?
- (A) Confinar e observar o cão por 10 dias para sinais sugestivos de raiva
- (B) Iniciar a profilaxia de pós-exposição para a pessoa mordida
- (C) Submeter o animal imediatamente a eutanásia
- (D) Devido ao fato de a raiva canina ter sido eliminada nos EUA, mordidas de cão não são uma indicação de profilaxia pós-exposição e nenhuma ação posterior é necessária
- (E) Testar o cão para anticorpos para a raiva
11. A doença provocada por vírus lentos, que apresenta a imunossupressão como importante predisposição em sua patogênese é:
- (A) Leucoencefalopatia multifocal progressiva
- (B) Panencefalite esclerosante subaguda
- (C) Doença de Creutzfeldt-Jakob
- (D) *Scrapie*
12. O *Scrapie* e o Kuru apresentam todas as seguintes características, *exceto*:
- (A) Uma aparência histológica semelhante à encefalopatia espongiforme
- (B) São transmitidos por animais e associados a um longo período de incubação
- (C) Deteriorização progressiva e lenta das funções neurológicas
- (D) Inclusões intranucleares proeminentes nos oligodendrócitos
13. Um menino de 5 anos de idade foi mordido por um cachorro em seu dedo. Seis semanas após a mordida, o menino apresentou febre, cefaleia, convulsões e alucinações. Qual é o melhor teste que pode ser realizado para confirmar o diagnóstico de raiva?
- (A) Detecção de anticorpos contra o vírus da raiva no soro
- (B) Cultura viral a partir do líquido cefalorraquiano
- (C) Imunofluorescência direta, para antígenos virais em biópsia no tecido da nuca
- (D) Biópsia cerebral
- (E) Detecção de anticorpos contra o vírus da raiva no líquido cefalorraquiano
14. As afirmações abaixo sobre a raiva e o seu agente viral são corretas, *exceto*:
- (A) O vírus apresenta uma lipoproteína de envelope e seu genoma é formado por RNA de fita simples.
- (B) O vírus apresenta um único variante antigênico (sorotipo)
- (C) Nos EUA, cães são os principais reservatórios para o vírus
- (D) O período de incubação em geral é longo (várias semanas)
15. Um Homem de 20 anos de idade, que por vários anos recebeu injeções de hormônio de crescimento, preparado a partir de glândulas pituitárias humanas, desenvolveu ataxia, dificuldade de fala e demência. Na necropsia, o tecido cerebral apresentou degradação neurológica disseminada, uma aparência espongiforme causada por diversos vacúolos entre as células e ausência de reação inflamatória ou de partículas virais. Qual o provável diagnóstico?
- (A) Encefalite herpética
- (B) Doença de Creutzfeldt-Jakob
- (C) Panencefalite esclerosante subaguda
- (D) Leucoencefalopatia multifocal progressiva
- (E) Raiva

Respostas

- | | | | |
|------|------|-------|-------|
| 1. E | 5. C | 9. B | 13. C |
| 2. E | 6. E | 10. A | 14. C |
| 3. B | 7. E | 11. A | 15. B |
| 4. C | 8. B | 12. D | |

REFERÊNCIAS

Beisel CE, Morens DM: Variant Creutzfeldt-Jakob disease and the acquired and transmissible spongiform encephalopathies. *Clin Infect Dis* 2004;38:697.

- Brew BJ, Davies NW, Cinque P et al.: Progressive multifocal leukoencephalopathy and other forms of JC virus disease. *Nat Rev Neurol* 2010;6:667.
- Colby DW, Prusiner SB: De novo generation of prion strains. *Nat Rev Microbiol* 2011;9:771.
- Compendium of animal rabies prevention and control, 2011. National Association of State Public Health Veterinarians, Inc. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2011;60(RR-6):1.
- De Serres G, Dallaire F, Côte M, Skowronski DM: Bat rabies in the United States and Canada from 1950 through 2007: Human cases with and without bat contact. *Clin Infect Dis* 2008;46:1329.
- Human rabies prevention—United States, 2008. Recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2008;57 (RR-3):1.
- Lipkin WI, Briese T, Hornig M: Borna disease virus – fact and fantasy. *Virus Res* 2011;162:162.
- Lyles DS, Rupprecht CE: Rhabdoviridae. In Knipe DM, Howley PM (editors-in-chief). *Fields Virology*, 5th ed. Lippincott Williams and Wilkins, 2007.
- Mabbott NA, MacPherson GG: Prions and their lethal journey to the brain. *Nat Rev Microbiol* 2006;4:201.
- Priola SA: How animal prions cause disease in humans. *Microbe* 2008;3:568.
- Rabies vaccines: WHO position paper. *Weekly Epidemiol Record* 2010;85:309.
- Rutala WA, Weber DJ: Creutzfeldt-Jakob disease: Recommendations for disinfection and sterilization. *Clin Infect Dis* 2001;32:1348.

Vírus de cânceres humanos

Os vírus são fatores etiológicos no desenvolvimento de vários tipos de tumor humano, inclusive dois de maior importância no mundo — o câncer do colo do útero (cervical) e o câncer de fígado. Pelo menos 15 a 20% dos tumores humanos em todo o mundo têm uma etiologia viral. No Quadro 43.1, fornecemos uma lista dos vírus fortemente associados a cânceres humanos, como o papilomavírus humano (HPV), o vírus Epstein-Barr (EBV), o herpes-vírus humano tipo 8, o vírus da hepatite B, o vírus da hepatite C e dois retrovírus humanos, além de vários vírus candidatos a causadores de câncer humano. Novos vírus associados a câncer estão sendo descobertos pelo uso de técnicas moleculares. Muitos vírus são capazes de induzir tumores em animais, em consequência de infecção natural ou após inoculação experimental.

Os vírus animais são estudados com o objetivo de se descobrir de que maneira uma fração limitada de informação genética

(de um ou alguns genes virais) é capaz de alterar profundamente o comportamento de crescimento das células, convertendo, por fim, uma célula normal em célula neoplásica. Esses estudos também revelam aspectos da regulação do crescimento nas células normais. Os vírus tumorais são agentes passíveis de causar tumores quando infectam animais apropriados. Foram realizados muitos estudos que utilizam culturas de células animais em vez de animais intactos, por ser possível analisar eventos nos níveis celular e subcelular. Nessas células cultivadas, os vírus tumorais podem provocar “transformação”. Todavia, os estudos em animais são essenciais para a investigação de muitas das etapas da carcinogênese, inclusive as complexas interações entre o vírus e o hospedeiro na formação de tumores.

Os estudos com vírus tumorais RNA revelaram a participação de oncogenes celulares na neoplasia; os vírus tumorais do DNA indicaram um papel dos genes supressores tumorais celulares. Essas descobertas revolucionaram a biologia do câncer e forneceram um arcabouço conceitual para a base molecular da carcinogênese.

QUADRO 43.1 Associação dos vírus com cânceres humanos^a

Família viral	Vírus	Câncer humano
Papillomaviridae	Papilomavírus humano	Tumores genitais Carcinoma de células escamosas Carcinoma de orofaringe
Herpesviridae	Vírus Epstein-Barr	Carcinoma de nasofaringe Linfoma de Burkitt Doença de Hodgkin Linfoma de células B
	Herpes-vírus humano tipo 8	Sarcoma de Kaposi
Hepadnaviridae	Vírus da hepatite B	Carcinoma hepatocelular
Polyomaviridae	Vírus das células de Merkel	Carcinoma das células de Merkel
Retroviridae	Vírus do linfoma de células T humano	Leucemia de células T em adulto
	Vírus da imunodeficiência humana	Doenças relacionadas com a Aids
Flaviviridae	Vírus da hepatite C	Carcinoma hepatocelular

^a Entre os vírus tumorais humanos candidatos, inclui-se outros tipos de papilomavírus e polioma vírus.

CARACTERÍSTICAS GERAIS DA CARCINOGENESE VIRAL

Os princípios gerais da carcinogênese viral encontram-se resumidos no Quadro 43.2.

Os vírus tumorais são de diferentes tipos

A exemplo de outros vírus, os vírus tumorais são classificados em diferentes famílias, de acordo com o ácido nucleico de seu genoma e as características biofísicas dos virions. Os vírus tumorais reconhecidos apresentam, em sua maioria, genoma DNA ou produzem um provírus do DNA após infecção celular (o vírus da hepatite C constitui uma exceção).

Os vírus tumorais DNA são classificados entre os grupos de papilomavírus, polioma vírus, adenovírus, herpes-vírus, hepadnavírus e poxvírus; codificam oncoproteínas virais importantes para a replicação do vírus, mas que também afetam as vias de controle do crescimento celular.

Tais vírus pertencem, em sua maioria, à família dos retrovírus, os quais possuem uma polimerase dirigida pelo RNA (transcriptase reversa) que produz uma cópia de DNA do genoma do RNA do vírus. A cópia de DNA (provírus) integra-se ao DNA da célula hospedeira infectada, e a partir dessa cópia integrada todas as proteínas do vírus são traduzidas.

QUADRO 43.2 Princípios da carcinogênese viral

1. Os vírus podem causar câncer em animais e em seres humanos
2. Com frequência, os vírus tumorais estabelecem infecções persistentes nos hospedeiros naturais
3. Os fatores do hospedeiro são importantes determinantes da tumorigênese induzida por vírus
4. Os vírus raramente são carcinógenos completos
5. As infecções virais são mais comuns do que a formação de tumores relacionados com vírus
6. Em geral, ocorre um longo período de latência entre a infecção viral inicial e o surgimento do tumor
7. As linhagens virais podem diferir em seu potencial oncogênico
8. Os vírus podem ser agentes carcinogênicos de ação direta ou indireta
9. Os vírus oncogênicos modulam as vias de controle do crescimento das células
10. Os modelos animais podem revelar os mecanismos da carcinogênese viral
11. Em geral, existem marcadores virais presentes nas células tumorais
12. Um vírus pode estar associado a mais de um tipo de tumor

Reproduzido, com autorização, de Butel JS: Viral carcinogenesis: Revelation of molecular mechanisms and etiology of human disease. *Carcinogenesis* 2000; 21:405. Com permissão, da Oxford University Press.

Os vírus tumorais RNA são de dois tipos gerais no que concerne à indução de tumores. Os vírus altamente oncogênicos (de transformação direta) apresentam um oncogene de origem celular. Os vírus fracamente oncogênicos (de transformação lenta) não contêm oncogene e induzem leucemias depois de longos períodos de incubação por mecanismos indiretos. Os dois retrovírus conhecidos que causam câncer em seres humanos atuam indiretamente. O vírus da hepatite C, um flavivírus, não gera provírus algum e parece induzir câncer de modo indireto.

Carcinogênese em várias etapas

A carcinogênese é um processo em várias etapas, isto é, devem ocorrer numerosas alterações genéticas para converter uma célula normal em maligna. Foram identificados estágios intermediários, que receberam designações como “imortalização”, “hiperplasia” e “pré-neoplásicos”. Em geral, os tumores desenvolvem-se lentamente no decorrer de um longo período. A história natural dos cânceres animais e humanos sugere um processo de evolução celular em várias etapas, envolvendo provavelmente instabilidade genética celular e a seleção repetida de células raras, com alguma vantagem seletiva em termos de crescimento. Estima-se que o número de mutações subjacentes a esse processo variam de 5 a 8. As observações sugerem que a ativação de vários oncogenes celulares e a inativação de genes supressores tumorais estão envolvidas na evolução dos tumores independentemente da participação de um vírus.

Parece que o vírus tumoral atua, em geral, como cofator, sendo responsável por apenas algumas das etapas necessárias à produção de células malignas. Os vírus são necessários — mas não suficientes — ao desenvolvimento de tumores de etiologia viral. Com frequência, os vírus atuam como iniciadores do processo neoplásico, podendo desempenhar esse papel por meio de diferentes mecanismos.

Interações dos vírus tumorais com seus hospedeiros**A. Infecções persistentes**

A patogênese de uma infecção viral e a resposta do hospedeiro são fatores essenciais para se compreender como um câncer pode desenvolver-se a partir desses elementos básicos. Os vírus tumorais conhecidos estabelecem infecções persistentes e duradouras nos seres humanos. Devido a diferenças na suscetibilidade genética individual e nas respostas imunológicas do hospedeiro, os níveis de replicação viral e tropismos teciduais podem variar de uma pessoa para outra. Embora um número muito pequeno de células no hospedeiro possa ser infectado a qualquer momento, a cronicidade da infecção fornece uma oportunidade para a ocorrência de um evento raro que permite a sobrevivência de uma célula com mecanismos de controle do crescimento modificados pelos vírus.

B. Respostas imunológicas do hospedeiro

Os vírus que estabelecem infecções persistentes precisam evitar sua detecção e seu reconhecimento pelo sistema imunológico, o que conseqüentemente eliminaria a infecção. Foram identificadas diferentes estratégias de evasão viral, inclusive a restrição da expressão de genes virais, tornando as células infectadas quase invisíveis para o hospedeiro (EBV em células B); infecção de locais relativamente inacessíveis às respostas imunológicas (HPV na epiderme); mutação de antígenos virais que permite o escape do reconhecimento dos anticorpos e das células T (vírus da imunodeficiência humana, [HIV]); modulação de moléculas do complexo principal de histocompatibilidade da classe I do hospedeiro em células infectadas (adenovírus, citomegalovírus); inibição do processamento de antígenos (EBV); e infecção e supressão de células imunes essenciais (HIV).

Acredita-se que os mecanismos de vigilância imunológica do hospedeiro geralmente são capazes de eliminar as raras células neoplásicas passíveis de surgir em indivíduos normais infectados por vírus tumorais. Todavia, se o hospedeiro estiver imunossuprimido, as células cancerosas são mais capazes de proliferar e escapar ao controle imunológico do hospedeiro. Os receptores de transplante de órgãos imunossuprimidos e os indivíduos infectados pelo HIV correm maior risco de adquirir linfomas associados ao EBV e doenças relacionadas com o HPV. É possível que variações nas respostas imunológicas individuais possam contribuir para a suscetibilidade do hospedeiro normal a tumores induzidos por vírus.

C. Mecanismos de ação dos vírus associados a cânceres humanos

Os vírus tumorais têm a capacidade de mediar alterações no comportamento celular mediante uma quantidade limitada de informação genética. Existem dois padrões gerais pelos quais isso pode ser obtido: o vírus tumoral introduz um novo “gene transformador” na célula (ação direta), ou o vírus altera a expressão de um gene ou genes celulares preexistentes (ação indireta). Em ambos os casos, a célula perde o controle da regulação normal dos processos de crescimento. As vias de reparo do DNA frequentemente são afetadas, levando a instabilidade genética e a um fenótipo mutagênico.

Em geral, os vírus não se comportam como carcinógenos completos. Além das alterações mediadas por funções virais, são necessárias outras alterações para desorganizar as inúmeras vias de regulação e pontos de controle nas células normais, permitindo a transformação completa de uma célula. Não existe uma forma singular de transformação subjacente à carcinogênese viral. Em nível molecular, os mecanismos oncogênicos dos vírus tumorais humanos são muito diversificados.

A transformação celular pode ser definida como uma alteração hereditária estável no controle do crescimento de células em cultura. Nenhum conjunto de características pode distinguir invariavelmente as células transformadas das células normais correspondentes. Na prática, a transformação é reconhecida pela aquisição, pelas células, de alguma propriedade de crescimento não exibida pela célula original. A transformação em fenótipo maligno é reconhecida pela formação de tumor quando as células transformadas são inoculadas em animais de teste apropriados.

Os vírus tumorais de ação indireta não são capazes de transformar as células em cultura.

D. Suscetibilidade das células a infecções e transformação virais

Em nível celular, as células hospedeiras são permissivas ou não permissivas à replicação de determinado vírus. As células permissivas oferecem suporte ao crescimento do vírus e produção da progênie viral, enquanto as células não permissivas não o fazem. Particularmente no caso dos vírus DNA, as células permissivas são mortas com frequência pela replicação viral e não são transformadas, a não ser que o ciclo de replicação viral que resulta em morte da célula hospedeira seja de algum modo bloqueado; as células não permissivas podem ser transformadas. Entretanto, existem situações nas quais a replicação de um vírus DNA não lisa a célula hospedeira e essas células podem ser transformadas. Contudo, a transformação é um evento raro. Uma propriedade característica dos vírus tumorais RNA é o fato de não serem letais para as células no interior das quais sofrem replicação. As células permissivas para um vírus podem não ser para outro.

Nem todas as células dos hospedeiros naturais são suscetíveis à replicação viral ou à transformação ou a ambos os processos. Em sua maioria, os vírus tumorais exibem acentuada especificidade tecidual, propriedade que provavelmente reflete a presença variável de receptores de superfície para o vírus, a capacidade do vírus de provocar infecções disseminadas *versus* locais, ou fatores intracelulares necessários à expressão dos genes virais.

Alguns vírus estão associados a um único tipo de tumor, enquanto outros associam-se a vários tipos de tumor. Essas diferenças refletem os tropismos teciduais dos vírus.

E. Retenção do ácido nucleico do vírus tumoral na célula hospedeira

A alteração genética estável de uma célula normal em célula neoplásica geralmente requer a retenção de genes virais na célula. Com frequência, mas nem sempre, isso é obtido por integração de certos genes virais ao genoma da célula hospedeira. No caso dos vírus tumorais de DNA, uma porção do DNA do genoma

viral pode integrar-se ao cromossomo da célula hospedeira. Algumas vezes, cópias epissômicas do genoma viral são mantidas nas células tumorais. No caso dos retrovírus, a cópia de DNA proviral do RNA viral é integrada ao DNA da célula hospedeira. As cópias de RNA do genoma do vírus da hepatite C não integradas são mantidas nas células tumorais.

Em alguns sistemas virais, as células transformadas por vírus podem liberar fatores de crescimento que afetam o fenótipo das células vizinhas não infectadas, contribuindo, assim, para a formação de um tumor. Também é possível que as células tumorais acumulem mutações genéticas durante o crescimento do tumor, necessárias para que os genes virais conduzam a iniciação do tumor, podendo tornar-se desnecessárias, e os marcadores virais serão perdidos por algumas células.

RETROVÍRUS

Os retrovírus contêm um genoma RNA e uma DNA-polimerase dirigida pelo RNA (transcriptase reversa). Os vírus tumorais RNA pertencentes a essa família causam principalmente tumores do sistema reticuloendotelial e do sistema hematopoiético (leucemias, linfomas) ou do tecido conectivo (sarcomas).

As propriedades importantes dos retrovírus estão relacionadas no Quadro 43.3.

Estrutura e composição

O genoma dos retrovírus consiste em duas subunidades idênticas de RNA de fita simples e de sentido positivo, cada qual com um tamanho de 7 a 11 kb. A transcriptase reversa contida nas partículas virais é essencial para a replicação dos vírus.

QUADRO 43.3 Propriedades importantes dos retrovírus

Virion: esférico, com 80 a 110 nm de diâmetro, nucleoproteína helicoidal no interior de capsídeo icosaédrico
Composição: RNA (2%), proteína (cerca de 60%), lipídeo (cerca de 35%) e carboidrato (cerca de 3%)
Genoma: RNA de fita simples, linear, de sentido positivo, 7 a 11 kb, diploide; pode ser defectivo; pode transportar oncogene
Proteínas: enzima transcriptase reversa está contida no interior dos virions
Envelope: presente
Replicação: a transcriptase reversa faz uma cópia do DNA a partir do RNA genômico, o DNA (provírus) integra-se ao cromossomo celular; o provírus é um modelo para o RNA viral
Maturação: os virions brotam da membrana plasmática
Características marcantes: as infecções não matam as células Podem transduzir oncogenes celulares e ativar a expressão de genes celulares Os provírus continuam permanentemente associados às células e com frequência não são expressos Muitos membros são vírus tumorais

As partículas de retrovírus contêm a ribonucleoproteína helicoidal dentro de um capsídeo icosaédrico circundado por membrana externa (envelope) contendo glicoproteínas e lipídeos. São encontrados antígenos específicos do tipo ou do subgrupo associados às glicoproteínas no envelope viral, codificados pelo gene *env*; os antígenos específicos do grupo estão associados ao cerne do virion, sendo codificados pelo gene *gag*.

Com base em microscopia eletrônica, são conhecidas três classes morfológicas de partículas retrovirais extracelulares, bem como uma forma intracelular. Estas classes refletem processos ligeiramente diferentes de morfogênese por diferentes retrovírus. A Figura 43.1 traz exemplos de cada uma delas.

As partículas tipo A só ocorrem intracelularmente e não parecem infecciosas. As partículas tipo A intracitoplasmáticas, de 75 nm de diâmetro, são precursoras dos vírus tipo B extracelulares, enquanto as partículas tipo A intracisternais, de 60 a 90 nm de diâmetro, são entidades desconhecidas. Os vírus tipo B, cujo diâmetro é de 100 a 130 nm, contêm um nucleóide excêntrico. O protótipo desse grupo é o vírus tumoral mamário de camundongo, que ocorre em cepas de “câncer mamário de alto grau” de camundongos consanguíneos, sendo encontrado em quantidades particularmente grandes no tecido mamário durante a lactação e no leite. Esse vírus é facilmente transferido para camundongos recém-nascidos, nos quais a incidência de

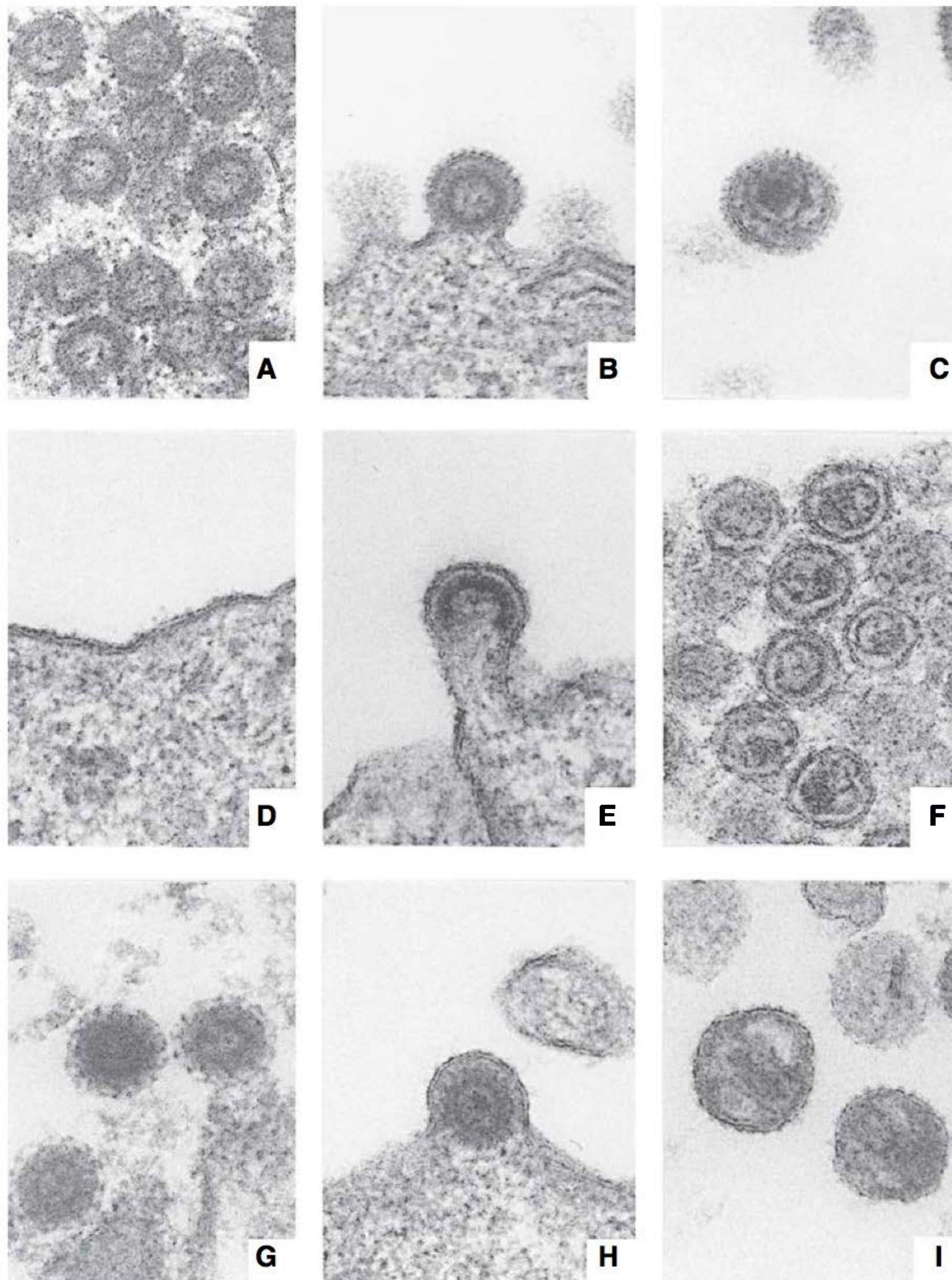


FIGURA 43.1 Morfologia comparativa dos retrovírus tipos A, B, C e D. (A) Partículas tipo A intracitoplasmáticas (que representam o precursor imaturo do vírus tipo B em brotamento). (B) Brotamento do vírus tipo B. (C) Vírus tipo B maduro, extracelular. (D) Ausência da forma intracitoplasmática morfológicamente reconhecível do vírus tipo C. (E) Brotamento do vírus tipo C. (F) Vírus tipo C maduro, extracelular. (G) Partícula tipo A intracitoplasmática (que representa a forma precursora imatura do vírus tipo D). (H) Brotamento do vírus tipo D. (I) Vírus tipo D maduro, extracelular. Todas as micrografias estão aumentadas em aproximadamente 87.000 vezes. Os cortes finos foram duplamente corados com acetato de urânio e citrato de chumbo. (Cortesia de D Fine e M Gonda.)

desenvolvimento subsequente de adenocarcinoma de mama apresenta-se elevada. Os vírus tipo C representam o maior grupo de retrovírus. As partículas têm 90 a 110 nm de diâmetro, e os nucleoides eletrondensos exibem localização central. Os vírus tipo C podem existir como entidades exógenas ou endógenas (ver adiante). Os lentivírus também são vírus tipo C. Por fim, os retrovírus tipo D ainda não estão bem caracterizados. As partículas, cujo diâmetro é de 100 a 120 nm, contêm um nucleóide excêntrico e apresentam espículas superficiais mais curtas que as das partículas tipo B.

Classificação

A. Gênero

A família Retroviridae é dividida em sete gêneros: *Alpharetrovirus* (que contém os vírus da leucocitose aviária e vírus de sarcoma), *Betaretrovirus* (vírus do tumor mamário de camundongos), *Gammaretrovirus* (vírus da leucemia de mamíferos e vírus do sarcoma), *Deltaretrovirus* (vírus T linfotrópico humano e vírus da leucemia bovina), *Epsilonretrovirus* (vírus de peixes), *Spumavirus* (que contém vírus capazes de provocar degeneração “espumosa” de células inoculadas, mas que não estão associados a qualquer processo patológico conhecido) e *Lentivirus* (que inclui agentes capazes de provocar infecções crônicas com comprometimento neurológico lentamente progressivo, inclusive o HIV; ver Cap. 44).

Os retrovírus podem ser organizados de várias maneiras, dependendo de suas propriedades morfológicas, biológicas e genéticas. As diferenças nas sequências genômicas e dos hospedeiros naturais são usadas com frequência. Não se utilizam as propriedades antigênicas com essa finalidade. Os retrovírus podem ser agrupados com base na sua morfologia (tipos B, C e D). A maioria dos vírus isolados apresenta as características do tipo C.

B. Hospedeiro de origem

Foram isolados retrovírus de praticamente todas as espécies de vertebrados. As infecções naturais por um determinado vírus são geralmente limitadas a uma única espécie, embora possam ocorrer infecções naturais através de barreiras de espécies. Os vírus da mesma espécie de hospedeiro compartilham determinantes antigênicos específicos do grupo na proteína interna (do cerne) principal. Todos os vírus de mamíferos estão mais estreitamente relacionados entre si do que com os vírus de espécies aviárias.

Os vírus tumorais de RNA mais amplamente estudados em nível experimental consistem nos vírus do sarcoma de galinhas e camundongos, bem como da leucemia de camundongos, gatos, galinhas e seres humanos.

C. Exógenos ou endógenos

Os retrovírus exógenos propagam-se horizontalmente e comportam-se como agentes infecciosos típicos. Iniciam a infecção e transformação apenas após contato. Diferentemente dos vírus endógenos, encontrados em todas as células de todos os indivíduos de determinada espécie, as sequências gênicas dos vírus exógenos são encontradas apenas nas células infectadas. Todos os retrovírus patogênicos parecem ser vírus exógenos.

Os retrovírus também podem ser transmitidos verticalmente através da linhagem germinativa. A informação genética viral, que representa uma parte constante da constituição genética de um organismo, é denominada “endógena”. O provírus retroviral integrado comporta-se como um agregado de genes celulares e está sujeito ao controle regulador da célula. Em geral, esse controle celular resulta em repressão parcial ou completa da expressão dos genes virais. Sua localização no genoma celular e a presença de fatores de transcrição celular apropriados determinam, em grande parte, se (e quando) a expressão viral será ativada. Não é raro que células normais mantenham a infecção viral endógena em forma latente por longo tempo.

Muitos vertebrados, inclusive os seres humanos, possuem várias cópias de sequências endógenas de RNA viral. As sequências virais endógenas não têm qualquer benefício aparente para o animal. Todavia, os provírus endógenos de vírus tumorais de mamíferos transportados por cepas consanguíneas de camundongos expressam atividades de superantígenos que influenciam os repertórios de células T dos animais.

Em geral, os vírus endógenos não são patogênicos para seus hospedeiros animais. Não induzem qualquer doença e são incapazes de transformar células em cultura. (Há exemplos de doença causada por replicação de vírus endógenos em cepas consanguíneas de camundongos.)

As características importantes dos vírus endógenos são as seguintes: (1) as cópias de DNA dos genomas dos vírus tumorais de RNA estão ligadas de modo covalente ao DNA celular e encontram-se presentes em todas as células germinativas e somáticas do hospedeiro; (2) os genomas virais endógenos são transmitidos geneticamente dos pais para a progênie; (3) o estado integrado sujeita os genomas virais endógenos ao controle genético do hospedeiro; e (4) o vírus endógeno pode ser induzido a sofrer replicação de modo espontâneo ou mediante tratamento com fatores extrínsecos (químicos).

D. Variedade de hospedeiros

A presença ou ausência de um receptor de superfície celular apropriado constituem um importante determinante na variedade de hospedeiros de um retrovírus. A infecção é iniciada por uma interação entre a glicoproteína do envelope viral e um receptor de superfície celular. Os vírus **ecotrópicos** infectam e só se replicam em células de animais da mesma espécie de hospedeiro original. Os vírus **anfotrópicos** exibem ampla variedade de hospedeiros (são capazes de infectar as células não apenas do hospedeiro natural, mas também de espécies heterólogas), visto que reconhecem um receptor de ampla distribuição. Os vírus **xenotrópicos** são capazes de se replicar em algumas células heterólogas (estranhas), mas não em células do hospedeiro natural. Muitos vírus endógenos apresentam variedades de hospedeiros xenotrópicos.

E. Conteúdo genético

Os retrovírus apresentam conteúdo genético simples; todavia, verifica-se alguma variação no número e no tipo de genes contidos. A constituição genética de um vírus influencia suas propriedades biológicas. A estrutura do genoma constitui uma forma valiosa de classificação dos vírus tumorais de RNA (Fig. 43.2).

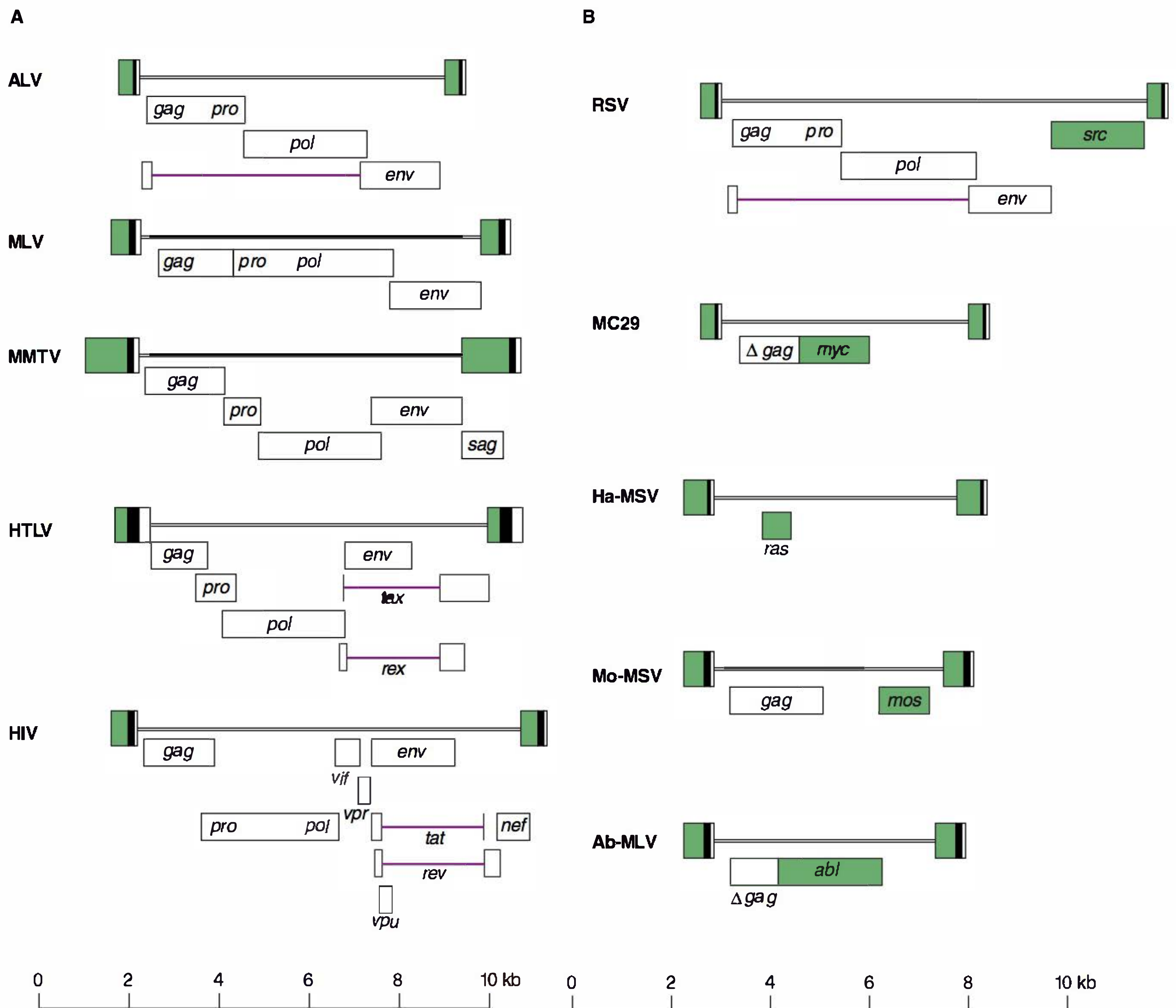


FIGURA 43.2 Organização genética de retrovírus representativos. (A) Vírus não defeituosos, competentes para replicação. São apresentados exemplos de retrovírus com genomas simples e complexos. O retângulo vazado mostra a estrutura de leitura aberta para o gene indicado. Quando os retângulos são destacados verticalmente, sua estrutura de leitura é diferente. As linhas horizontais que unem dois retângulos indicam que esse segmento apresenta junção. **Genomas simples:** ALV, vírus da leucose aviária (*Alpharetrovirus*); MLV, vírus da leucemia murina (*Gammaretrovirus*); MMTV, vírus do tumor mamário murino (*Betaretrovirus*). **Genomas complexos:** HTLV, vírus da leucemia de células T humanas (*Deltaretrovirus*); HIV, vírus da imunodeficiência humana tipo 1 (*Lentivirus*). (B) Vírus que transportam oncogenes. São apresentados vários exemplos, com o oncogene sombreado; todos são defeituosos, à exceção do RSV. RSV, vírus do sarcoma de Rous (oncogene *src*) (*Alpharetrovirus*); MC29, vírus da mielocitomatose aviária (oncogene *myc*) (*Alpharetrovirus*); Ha-MSV, vírus do sarcoma murino de Harvey (oncogene *ras*) (*Gammaretrovirus*); Mo-MSV, vírus do sarcoma murino de Moloney (oncogene *mos*) (*Gammaretrovirus*); Ab-MLV, vírus da leucemia murina de Abelson (oncogene *abl*) (*Gammaretrovirus*). A escala para os tamanhos dos genomas é apresentada na parte inferior de cada painel. (Modificada, com autorização, de Vogt VM: *Retroviral virions and genomes*. In Coffin JM, Hughes SH, Varmus HE [editors]. *Retroviruses*. Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1997.)

Os vírus-padrões da leucemia (*Alpharetrovirus* e *Gammaretrovirus*) contêm genes necessários à replicação viral: *gag*, que codifica as proteínas do cerne (antígenos específicos do grupo); *pro*, que codifica uma enzima protease; *pol*, que codifica a enzima transcriptase reversa (polimerase); e *env*, que codifica as glicoproteínas que formam projeções sobre o envelope da partícula. A sequência gênica em todos os retrovírus é 5'-*gag-pro-pol-env*-3'.

Alguns vírus, exemplificados pelos retrovírus humanos (*Deltaretrovirus* e *Lentivirus*), contêm genes adicionais distalmente ao gene *env*. Um deles é o gene regulador de transativação (*tax* ou *tat*), o qual codifica uma proteína não estrutural que altera a transcrição ou a eficiência de tradução de outros genes virais. Os lentivírus, inclusive o HIV, possuem um genoma mais complexo e contêm vários outros genes acessórios (ver Cap. 44).

Os retrovírus com uma dessas duas estruturas genômicas têm competência para a replicação (em células apropriadas). Como não possuem um gene transformador (*onc*), são incapazes de transformar células em cultura de tecido. Todavia, podem ter a capacidade de transformar células precursoras em tecidos hematopoiéticos *in vivo*.

Os retrovírus diretamente transformadores transportam um gene *onc*. Os genes transformadores transportados por vários vírus tumorais RNA representam genes celulares adaptados para esses vírus em algum momento do passado distante e incorporados a seus genomas (Fig. 43.2).

Tais vírus são altamente oncogênicos em animais hospedeiros apropriados e capazes de transformar células em cultura. Com raras exceções, o acréscimo do DNA celular resulta em perda de porções do genoma viral. Em consequência, os vírus do sarcoma geralmente são deficientes quanto à sua capacidade de replicação, e a progênie viral só é produzida na presença de vírus auxiliares. Em geral, os vírus auxiliares são outros retrovírus (vírus de leucemia) que podem recombinar-se de diversas maneiras com os vírus defeituosos. Esses retrovírus transformadores defeituosos têm sido a fonte de muitos dos oncogenes celulares reconhecidos.

F. Potencial oncogênico

Os retrovírus que contêm oncogenes são altamente oncogênicos. Algumas vezes, são designados como agentes “transformadores agudos” por induzirem tumores *in vivo* depois de um período de latência muito curto, e induzirem rapidamente à transformação morfológica de células *in vitro*. Os retrovírus que não transportam um oncogene exibem potencial oncogênico bem menor. A doença (geralmente de células sanguíneas) surge depois de um longo período latente (*i. e.*, “transformadores lentos”); não ocorre a transformação das células cultivadas.

Em suma, a transformação neoplásica por retrovírus resulta de um gene celular normalmente expresso em níveis baixos e cuidadosamente regulado, tornando-se ativado e expresso de modo constitutivo. No caso dos vírus transformadores agudos, houve a inserção de um gene celular por recombinação no genoma viral, sendo expresso como gene viral sob controle do promotor viral. No caso dos vírus de transformação lenta da leucemia, o elemento promotor ou intensificador viral está inserido próximo do ou em local adjacente ao gene no cromossomo celular.

Replicação dos retrovírus

A Figura 43.3 mostra um resumo esquemático de um ciclo de replicação típico de retrovírus, representado pelo vírus T linfotrópico humano (HTLV). O gene *pol* codifica a única polimerase (transcriptase reversa), que possui quatro atividades enzimáticas (protease, polimerase, RNase H e integrase). Após adsorção e penetração das partículas virais nas células hospedeiras, o RNA viral atua como modelo para a síntese do DNA viral por ação da enzima viral transcriptase reversa, funcionando como uma DNA polimerase RNA-dependente. Por meio de um processo complexo, ocorre a duplicação das sequências de ambas as extremidades do RNA viral, formando a longa repetição terminal localizada em cada extremidade do DNA viral

(Fig. 43.4). Essas repetições terminais longas são encontradas apenas no DNA viral. O DNA viral recém-formado integra-se ao DNA da célula hospedeira como provírus, cuja estrutura é constante, porém sua integração ao genoma da célula hospedeira pode ocorrer em diferentes locais. A orientação precisa do provírus após a integração é obtida por sequências específicas nas extremidades de ambas as repetições terminais longas.

Em seguida, os genomas virais da progênie podem ser transcritos a partir do DNA proviral em RNA viral. A sequência U3 na repetição terminal longa contém um elemento promotor e um intensificador. O intensificador pode ajudar a conferir especificidade tecidual à expressão viral. O DNA proviral é transcrito pela enzima do hospedeiro, a RNA-polimerase II. As transcrições completas (com capsídeos e poliadeniladas) podem atuar como RNA genômico para a formação de capsídeo nos virions da progênie. Algumas transcrições sofrem junção, e os RNAm subgenômicos são traduzidos, produzindo proteínas precursoras virais modificadas e clivadas para formar os produtos proteicos finais.

Se o vírus tiver um gene transformador, o oncogene não desempenhará papel algum na replicação, o que se diferencia acentuadamente dos vírus tumorais DNA, cujos genes transformadores também são genes de replicação viral essenciais.

As partículas virais organizam-se e emergem das células hospedeiras infectadas por brotamento a partir das membranas plasmáticas. Em seguida, a protease viral cliva as proteínas Gag e Pol da poliproteína precursora, produzindo um virion infeccioso maduro preparado para a transcrição reversa quando a célula seguinte for infectada.

Uma característica notável dos retrovírus é o fato de que não são citolíticos, ou seja, não destroem as células no interior das quais se replicam. As exceções são os lentivírus, que podem ser citolíticos (ver Cap. 44). O provírus permanece integrado ao DNA celular pelo resto da vida da célula. Não existe maneira conhecida de curar uma célula de infecção crônica por retrovírus.

Retrovírus humanos

A. Vírus humanos T linfotrópicos (*Human T lymphotropic viruses* [HTLV])

Somente alguns poucos retrovírus estão associados a tumores humanos. O grupo dos HTLV provavelmente existe em humanos há milhares de anos. O HTLV-1 foi estabelecido como agente etiológico de linfomas de células T de adultos (LTA), bem como de um distúrbio degenerativo do sistema nervoso denominado paraparesia espástica tropical. Esse vírus não transporta oncogene algum. Outros três vírus humanos (HTLV-2, HTLV-3 e HTLV-4) têm sido isolados, porém não conclusivamente associados a uma doença específica em seres humanos. O HTLV-1 e o HTLV-2 partilham cerca de 65% de homologia e apresentam reações sorológicas cruzadas significativas.

Os vírus linfotrópicos humanos exibem acentuada afinidade pelas células T maduras. O HTLV-1 é expresso em níveis muito baixos nos indivíduos infectados. Parece que as sequências de promotor-intensificador virais na repetição terminal longa podem responder a sinais associados à ativação e proliferação das células T. Se for esse o caso, a replicação dos vírus po-

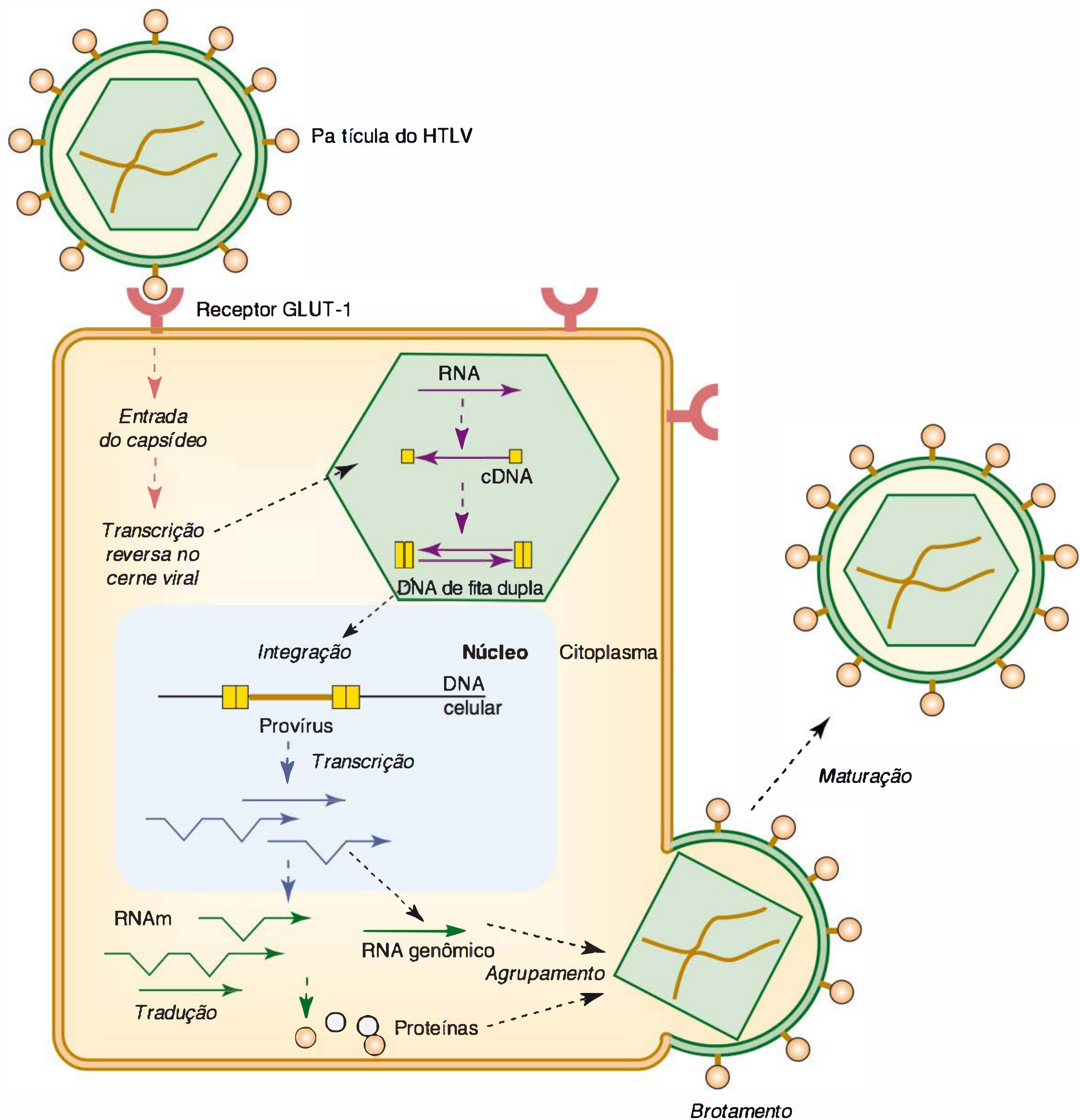


FIGURA 43.3 Visão geral do ciclo de replicação dos retrovírus HTLV. A partícula viral fixa-se a um receptor de superfície celular, e o capsídeo viral penetra na célula. A enzima viral, transcriptase reversa, produz uma cópia de DNA do RNA genômico no interior do capsídeo no citoplasma. O DNA entra no núcleo e é integrado de modo aleatório ao DNA celular, formando o provírus. O provírus integrado atua como modelo para a síntese de transcrições virais, algumas das quais serão colocadas no capsídeo como RNA genômicos, e outras irão servir como RNAm. As proteínas virais são sintetizadas, ocorre a organização das proteínas e dos RNA do genoma, e as partículas brotam a partir da célula. As proteínas do capsídeo são processadas proteoliticamente pela protease viral, produzindo os virions infecciosos maduros, mostrado esquematicamente como a conversão do núcleo quadrado em um núcleo icosaédrico. (Cortesia de SJ Marriott.)

de estar ligada à replicação das células hospedeiras — estratégia que asseguraria a propagação eficiente do vírus.

Os retrovírus humanos são transreguladores (Fig. 43.2). Transportam um gene, *tax*, cujo produto altera a expressão de outros genes virais. Acredita-se que os genes reguladores transativadores sejam necessários à replicação do vírus *in vivo* e possam contribuir para a oncogênese ao modular também genes celulares que regulam o crescimento celular.

Existem diversos subtipos genéticos de HTLV-1, sendo os principais os subtipos A, B e C (este não representa sorotipos distintos).

O vírus tem distribuição mundial, com uma estimativa de 20 milhões de indivíduos infectados. Grupos de doença associada ao HTLV são encontrados em determinadas regiões geográficas (Sul do Japão, Melanésia, bacia do Caribe e áreas das Américas Central e do Sul, bem como partes da África) (Fig. 43.5). Embora menos de 1% dos indivíduos no mundo tenha anticorpos anti-HTLV-1, estima-se que até 5% da população em áreas endêmicas sejam soropositivos.

Os linfomas de células T de adultos (LTA) respondem fracamente à terapia. A média de sobrevivência dos pacientes com 5 anos deste câncer é inferior a 5%.

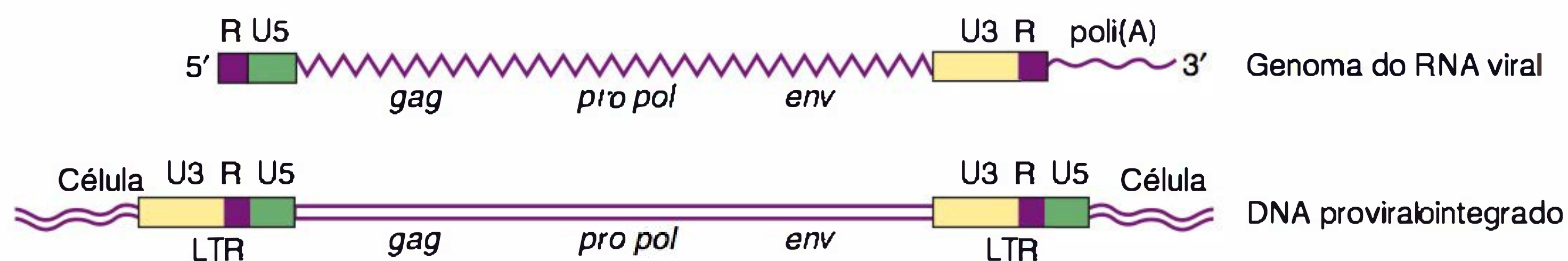


FIGURA 43.4 Comparação entre as estruturas do genoma de RNA dos retrovírus e as do DNA proviral integrado. A partícula viral contém duas cópias idênticas do genoma de RNA de fita simples. A extremidade 5' é revestida, enquanto a extremidade 3' é poliadenilada. Ocorre a repetição de uma sequência curta, R, em ambas as extremidades. As sequências únicas localizam-se próximo às extremidades 5'(U5) e 3'(U3). U3 contém sequências promotoras e intensificadoras. O DNA proviral integrado é flanqueado, em cada extremidade, pela estrutura de repetição terminal longa (LTR) gerada durante a síntese da cópia de DNA por transcrição reversa. Cada repetição terminal longa contém as sequências U3, R e U5. As repetições terminais longas e as regiões de codificação do genoma dos retrovírus não foram desenhadas em escala.

A transmissão do HTLV-1 parece envolver o vírus associado a células. A transmissão da mãe para o filho por meio do aleitamento constitui importante modo de transmissão. A eficiência da transmissão da mãe infectada para o filho é estimada em 15 a 25%. Estas infecções precoces estão associadas a alto risco para linfomas de células T de adultos (LTA). A transfusão de sangue constitui uma forma efetiva de transmissão assim como a prática de compartilhar agulhas contaminadas com sangue (usuários de drogas) e a relação sexual.

A soropidemiologia associou a infecção pelo HTLV-1 a uma síndrome denominada paraparesia espástica tropical/mielopatia associada ao HTLV-1 (HAM/TSP). A principal manifestação clínica consiste no desenvolvimento de fraqueza progressiva das pernas e da parte inferior do corpo. A atividade mental do paciente permanece intacta. Considera-se que a síndrome de HAM/TSP tem nos trópicos a mesma magnitude e a mesma importância que a esclerose múltipla nos países ocidentais. Outras doenças associadas ao HTLV-1 incluem uveíte e a dermatite infecciosa.

B. Vírus da imunodeficiência humana (HIV)

Um grupo de retrovírus humanos distantemente relacionado foi estabelecido como causa da Aids (ver Cap. 44). Os HIV, que são classificados como lentivírus, são citolíticos e não

transformadores. Entretanto, os pacientes com Aids/HIV apresentam elevado risco para diversos tipos de câncer devido à imunossupressão associada à infecção pelo HIV. Incluindo os cânceres cervical, de cabeça e pescoço, hepático, oral e os linfomas.

C. Outros

Os vírus símios espumosos (*foamy*) do gênero *Spumavirus* são altamente prevalentes em primatas cativos não humanos. Os seres humanos ocupacionalmente expostos aos primatas podem ser infectados com vírus espumosos, mas essas infecções não resultam em doença conhecida.

ONCOGENES CELULARES

“Oncogene” é um termo geral atribuído aos genes envolvidos como causadores de câncer. São observadas versões normais desses genes transformadores em células normais, denominadas proto-oncogenes.

A descoberta dos oncogenes celulares provém de estudos com retrovírus dotados de capacidade transformadora aguda. Constatou-se que as células normais contêm cópias altamente relacionadas (mas não idênticas) de vários genes

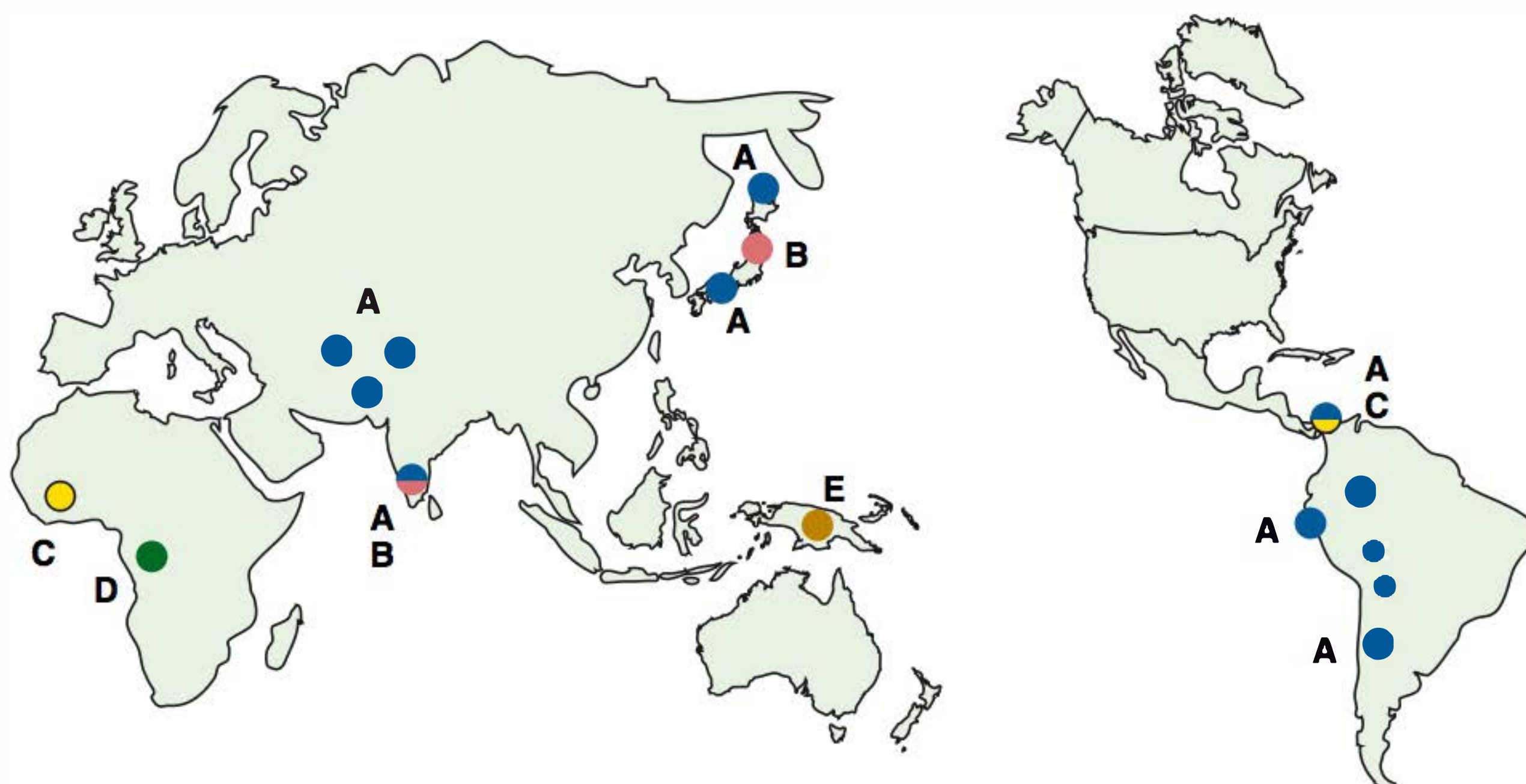


FIGURA 43.5 Os subtipos de HTLV-1 estão distribuídos geograficamente em focos endêmicos. (A) Japão, Índia, Caribe e Andes. (B) Japão e Índia. (C) Oeste da África e Caribe. (D) África Central. (E) Papua-Nova Guiné. (Cortesia de N Mueller.)

transformadores de retrovírus; as sequências celulares foram capturadas e incorporadas nos genomas dos retrovírus. A transdução dos genes celulares foi provavelmente um acidente, e a presença das sequências celulares não traz qualquer benefício para os vírus. Muitos outros oncogenes celulares conhecidos, que não se segregaram em retrovírus vetores, foram detectados com o uso de métodos moleculares.

Os oncogenes celulares são, em parte, responsáveis pela base molecular do câncer humano. Representam componentes individuais de vias complexas responsáveis pela regulação da proliferação, pela divisão e pela diferenciação celulares, bem como para manutenção da integridade do genoma. A expressão incorreta de qualquer componente pode interromper essa regulação, resultando em crescimento descontrolado das células (câncer). Existem exemplos de proteinocinasas específicas da tirosina (p. ex., *src*), fatores de crescimento (o *sis* assemelha-se ao fator de crescimento humano derivado das plaquetas, um potente mitógeno para as células que se originam do tecido conectivo), receptores de fatores de crescimento que sofreram mutação (o *erb-B* é um receptor do fator de crescimento epidérmico truncado), proteínas de ligação do GTP (*Ha-ras*) e fatores de transcrição nuclear (*myc*, *jun*).

Os mecanismos moleculares responsáveis pela ativação de um proto-oncogene benigno e sua conversão em gene canceroso variam, mas todos envolvem uma lesão genética. Pode ocorrer hiperexpressão do gene, e um efeito de dose do produto do oncogene produzido em excesso pode ser importante nas alterações do crescimento celular. Esses mecanismos podem resultar em atividade constitutiva (perda da regulação normal), de modo que o gene é expresso no momento incorreto durante o ciclo celular ou em tipos inadequados de tecidos. As mutações podem alterar a interação cuidadosamente regulada de uma proteína do proto-oncogene com outras proteínas ou ácidos nucleicos. A inserção de um promotor retroviral adjacente a um oncogene celular pode resultar em maior expressão desse gene (*i. e.*, “oncogênese por inserção de promotor”). A expressão de um gene celular também pode ser aumentada através da ação de sequências “intensificadoras” virais próximas.

GENES SUPRESSORES TUMORAIS

Uma segunda classe de genes de câncer humano está envolvida no desenvolvimento de tumores. Trata-se dos reguladores negativos do crescimento celular, conhecidos como genes supressores tumorais. Foram identificados devido à formação de complexos com oncoproteínas de certos vírus tumorais do DNA. É necessária a ocorrência de **inativação** ou perda funcional de ambos os alelos desse tipo de gene para a formação de tumores — diferentemente da **ativação**, que ocorre com os oncogenes celulares. O protótipo dessa classe inibitória de genes é o gene do retinoblastoma (*Rb*). A proteína Rb inibe a entrada de células na fase S ao ligar-se aos fatores-chave de transcrição que regulam a expressão dos genes da fase S. A função da proteína Rb normal é regulada por fosforilação. A perda de função do gene *Rb* está relacionada de modo causal com o desenvolvimento do retinoblastoma — um raro tumor ocular de crianças — e com outros tumores humanos.

Outro gene supressor tumoral de suma importância é o gene *p53*, o qual também bloqueia a progressão do ciclo celular. O *p53* atua como fator de transcrição e regula a síntese da proteína que inibe a função de certas cinases do ciclo celular. Além disso, faz que as células com lesão do DNA sofram apoptose. A perda da função do *p53* permite às células com o DNA danificado progredir em seu ciclo celular, levando a um eventual acúmulo de mutações genéticas. O gene *p53* sofre mutação em mais da metade dos cânceres humanos.

VÍRUS TUMORAIS DO DNA

Existem diferenças fundamentais entre os oncogenes dos vírus tumorais DNA e RNA. Os genes transformadores transportados por vírus tumorais DNA codificam funções necessárias à replicação do vírus e não apresentam homólogos normais nas células. Diferentemente, os retrovírus transportam oncogenes celulares transduzidos, que não desempenham papel algum na replicação viral ou atuam por meio de mecanismos indiretos. As proteínas transformadoras dos vírus DNA formam complexos com proteínas celulares normais, alterando a sua função. Para se compreender o mecanismo de ação das proteínas transformadoras dos vírus DNA, é importante identificar os alvos celulares com os quais interagem. No Quadro 43.4, fornecemos exemplos dessas interações.

POLIOMAVÍRUS

As propriedades importantes dos poliomavírus estão relacionadas no Quadro 43.5.

QUADRO 43.4 Exemplos de oncoproteínas de vírus DNA e interações com proteínas celulares^a

Vírus	Oncoproteínas virais	Alvos celulares
Poliomavírus SV40	Antígeno T grande	p53, pRb
	Antígeno t pequeno	PP2A
Papilomavírus humano	E6	p53, DLG, MAGI-1, MUPP1
	E7	pRb
Papilomavírus bovino	E5	Receptor PDGFβ
Adenovírus	E1A	pRb
	E1B-55K	p53
Adenovírus 9	E4ORF1	DLG, MAGI-1, MUPP1
Herpes-vírus EBV	LMP1	TRAF

^a p53, produto do gene *p53*; pRB, produto do gene do retinoblastoma; PP2A, proteína fosfatase 2A; PDGF, fator de crescimento derivado de plaquetas; EBV, vírus Epstein-Barr; TRAF, fator(es) associado(s) ao receptor do fator de necrose tumoral. DLG, MAGI-1 e MUPP1 são membros de uma família de proteínas celulares que contêm domínios PDZ.

QUADRO 43.5 Propriedades importantes dos poliomavírus^a

Virion: icosaédrico, 45 nm de diâmetro
Composição: DNA (10%), proteínas (90%)
Genoma: DNA de fita dupla, circular, de 5 kbp, PM de 3 milhões
Proteínas: três proteínas estruturais; as histonas celulares condensam o DNA do virion
Envelope: ausente
Replicação: núcleo
Características marcantes: estimulam a síntese do DNA celular Oncoproteínas virais interagem com as proteínas supressoras tumorais celulares São importantes modelos de vírus tumorais Os vírus humanos podem causar doença neurológica e renal no homem Podem causar câncer humano

^a Anteriormente classificado na família Papovaviridae.

PM, Peso molecular

Classificação

A família Polyomaviridae contém um único gênero designado *Polyomavirus*, que antigamente fazia parte da família Papovaviridae (a qual não existe mais). Trata-se de pequenos vírus (com diâmetro de 45 nm), tendo genoma circular de DNA de fita dupla (MM de 3×10^6 ; 5 kbp) coberto por um capsídeo sem envelope, exibindo simetria icosaédrica (Fig. 43.6). As histonas celulares são utilizadas para condensar o DNA viral no interior das partículas virais.

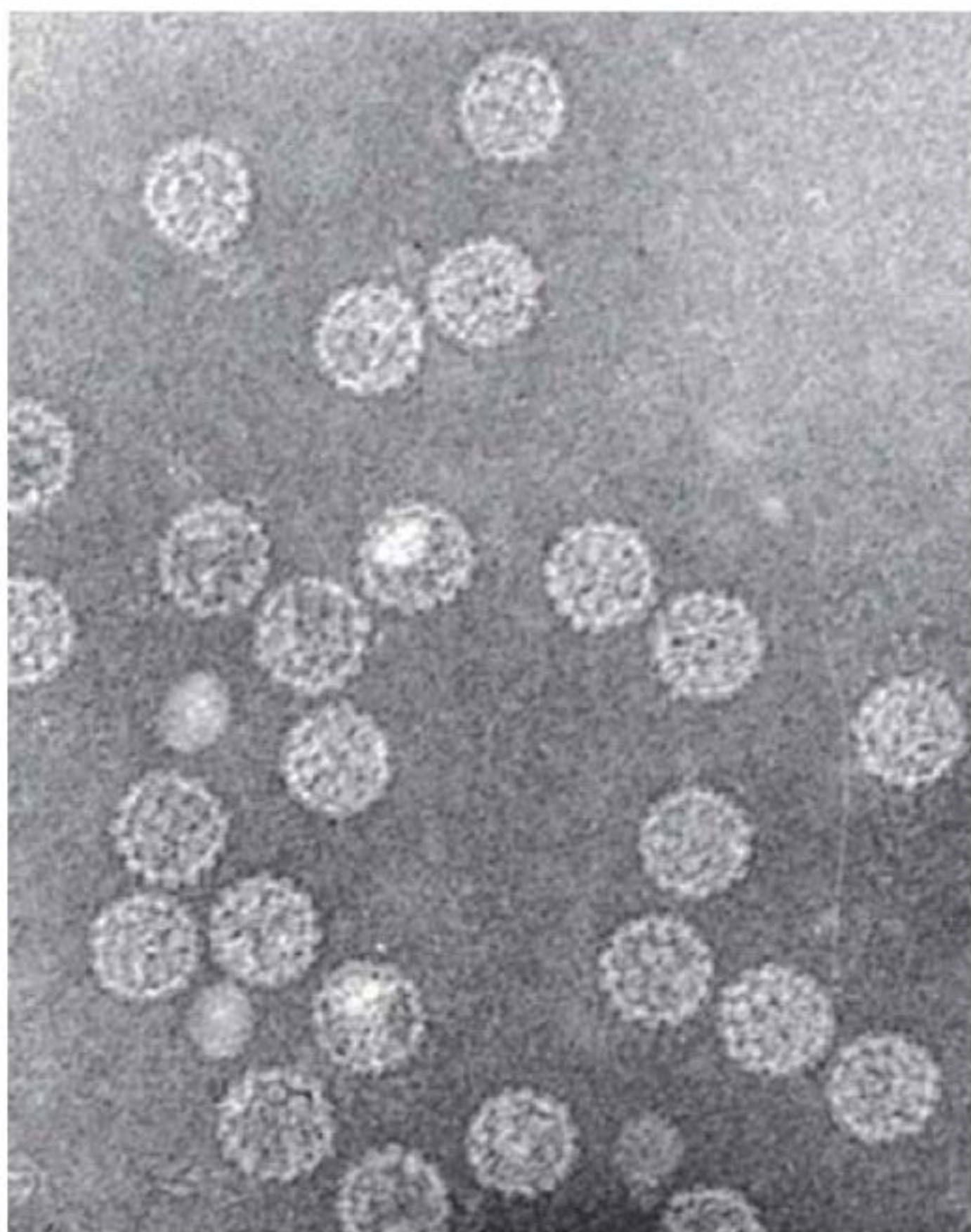


FIGURA 43.6 Poliomavírus SV40. Preparação purificada, corada negativamente com fosfotungstato (ampliada 150.000 vezes). (Cortesia de S McGregor e H Mayor.)

O SV40 de macacos e seres humanos, os vírus BK, JC, KI, WU, HPyV6, HPyV7 e os vírus de células Merkel de seres humanos, bem como o poliomavírus murino são vírus tumorais de DNA de fita simples, com uma quantidade limitada de informação genética (seis ou sete genes). Muitas espécies de mamíferos e algumas aves são portadoras de suas próprias espécies de poliomavírus.

Replicação do poliomavírus

O genoma do poliomavírus contém regiões “iniciais” e “tardias” (Fig. 43.7). A região inicial é expressa pouco depois da infecção das células; contém genes que codificam proteínas iniciais, como, por exemplo, o antígeno tumoral grande (T) do SV40, necessário à replicação do DNA viral em células permissivas, e o antígeno tumoral pequeno (t). O genoma do poliomavírus murino codifica três proteínas iniciais (antígenos T pequeno, médio e grande). Um ou dois dos antígenos T constituem os únicos produtos gênicos virais para a transformação das células. Geralmente, as proteínas transformadoras têm de ser sintetizadas continuamente para que as células permaneçam transformadas. A região tardia consiste em genes

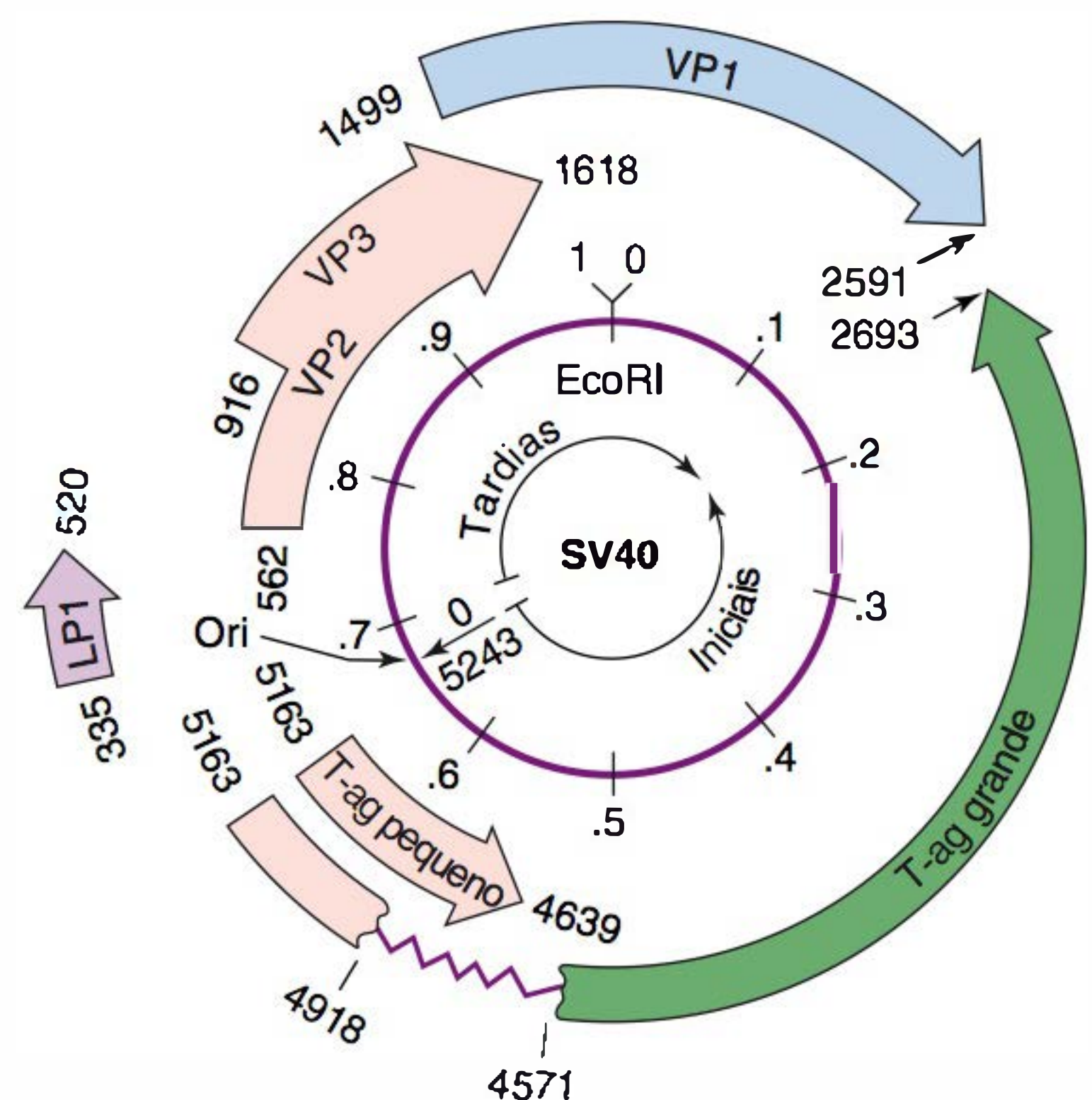


FIGURA 43.7 Mapa genético do poliomavírus SV40. O círculo espesso representa o genoma de DNA circular do SV40. O único sítio de restrição de *EcoRI* é mostrado no mapa como unidade 0/1. Os números dos nucleotídeos começam e terminam na origem (Ori) da replicação do DNA viral (0/5243). As setas em forma de caixa indicam as estruturas de leitura abertas, que codificam as proteínas virais. As cabeças de seta apontam no sentido da transcrição. O início e o término de cada estrutura de leitura aberta estão indicados por números de nucleotídeos. Os vários sombreados mostram diferentes estruturas de leitura, utilizadas para polipeptídeos virais diversos. Observar que o antígeno T (T-ag) é codificado por dois segmentos não contíguos no genoma. O genoma é dividido em regiões “iniciais” e “tardias” expressas, antes e depois do início da replicação do DNA viral, respectivamente. Apenas a região inicial é expressa nas células transformadas. (Reproduzida, com autorização, de Butel JS, Jarvis DL: The plasma-membrane-associated form of SV40 large tumor natigen: Biochemical and biological properties. *Biochim Biophys Acta* 1986;865:171.)

que codificam a síntese das proteínas de revestimento, que não atuam na transformação e em geral não são expressos nas células transformadas.

O antígeno T do SV40 interage com os produtos dos genes supressores tumorais celulares, p53 e membros da família pRb (Quadro 43.4). As interações do antígeno T com as proteínas celulares são importantes no ciclo de replicação do vírus. A formação de complexos inativa funcionalmente as propriedades inibitórias de crescimento de pRb e p53, permitindo a entrada das células na fase S, de modo que possa haver a replicação do DNA viral. De modo semelhante, a inativação funcional das proteínas celulares pela ligação do antígeno T é essencial no processo de transformação mediado pelo vírus. Como a p53 identifica a ocorrência de lesão do DNA e bloqueia a progressão do ciclo celular ou inicia o processo de apoptose, a anulação de sua função resulta em acúmulo de células que expressam o antígeno T com mutações genômicas passíveis de promover crescimento tumorigênico.

Patogênese e patologia

Os poliomavírus humanos (BK e JC) estão amplamente distribuídos na população humana, conforme se comprova pela presença de anticorpos específicos no soro de 70 a 80% dos adultos. Em geral, ocorre infecção no início da infância. Ambos os vírus podem persistir nos rins e nos tecidos linfóides de indivíduos sadios após a infecção primária, podendo sofrer reativação quando a resposta imunológica do hospedeiro se encontra comprometida, como, por exemplo, em consequência de transplante renal ou durante a gravidez ou em idade avançada. A reativação viral e eliminação pela urina são assintomáticas em pessoas imunocompetentes. Os vírus são isolados, com maior frequência, de pacientes imunocomprometidos, nos quais a doença pode ocorrer. Os vírus BK causam cistite hemorrágica em pacientes com transplante de medula óssea. O vírus BK é o causador de nefropatia associada a poliomavírus em transplantados renais, uma doença séria que ocorre em cerca de 5% dos transplantados e cujos resultados no fracasso de transplantes é de até 50% nos pacientes acometidos. O vírus JC é a causa da leucoencefalopatia progressiva multifocal (LPM), uma doença fatal do cérebro que ocorre em algumas pessoas imunocomprometidas, especialmente naquelas com a imunidade mediada por células deprimidas, resultante de terapias imunossupressoras ou de infecção pelo HIV. A LPM acomete cerca de 5% dos pacientes com Aids. Os vírus BK e o JC são antigenicamente distintos, mas ambos codificam um antígeno T relacionado com o antígeno T do SV40. Esses vírus humanos podem transformar células de roedores e induzir tumores em *hamsters* recém-nascidos. Os vírus JC têm sido associados a tumores cerebrais humanos, mas seu papel etiológico ainda não foi bem estabelecido.

Os vírus KI e WU foram descobertos em 2007 em aspirados de nasofaringe de crianças com infecções respiratórias. O poliomavírus de células de Merkel foi identificado em 2008 em carcinomas de células de Merkel, tumores raros de pele e de origem neuroendócrina. Estudos de soroprevalência sugerem que as infecções pelos vírus KL, WU e de células de Merkel são comuns e disseminadas, ocorrendo na infância. Dois outros vírus descritos em 2010, o HPyV6 e o HPyV7, parecem estar frequentemente na pele humana. Devido a suas

recentes descobertas, as informações sobre associações das doenças são limitadas. O vírus das células de Merkel parece ser etiológicamente importante, na maioria dos carcinomas relacionados com esse tipo celular. Além disso, em muitos tumores o DNA desses vírus está clonalmente integrado à célula tumoral. A expressão oncogênica é necessária para o crescimento celular, assim, o genoma viral integrado previne sua própria replicação.

O SV40 se replica em certos tipos de célula de macacos e seres humanos, é altamente tumorigênico em camundongos transgênicos e *hamsters*, e pode transformar muitos tipos de célula em cultura. Indução de tumores no hospedeiro natural — o macaco *rhesus* — raramente é observada. O SV40 pode causar uma doença semelhante à LPM em macacos *rhesus*.

Lotes de vacinas de poliovírus mortos ou atenuados foram desenvolvidos em células de macacos contaminados com o SV40. Milhões de pessoas no mundo inteiro receberam essas vacinas contaminadas com o SV40 entre 1955 e 1963. Atualmente, o SV40 é detectado em seres humanos, como indivíduos muito jovens que tenham sido expostos via vacinação. As evidências sugerem que este (e outros poliomavírus) podem ser transmitidos pela rota orofecal em humanos. A prevalência das infecções humanas pelo SV40 em humanos parece ser baixa.

O DNA do SV40 tem sido detectado em tipos selecionados de tumores humanos, inclusive tumores de cérebro, mesoteliomas, tumores de medula óssea e linfomas. O papel do SV40 na formação de cânceres humanos é ainda desconhecido.

A variedade de hospedeiros para o poliomavírus é geralmente restrita. Normalmente, uma única espécie pode ser infectada somente por um certo tipo de célula dentro da espécie. As exceções são os poliomavírus SV40 de primatas e o vírus BK; o SV40 também pode infectar os seres humanos e células humanas. O vírus BK pode infectar alguns macacos e células de macaco. Os tipos celulares que não conseguem suportar a replicação de poliomavírus podem ser transformados por um vírus.

PAPILOMAVÍRUS

As propriedades importantes dos papilomavírus são mostradas no Quadro 43.6.

Classificação

A família Papillomaviridae é uma família de vírus muito grande, dividida em 16 gêneros, cinco dos quais contêm membros que infectam os seres humanos (*Alpha-*, *Beta-*, *Gamma-*, *Mu-* e *Nu-* papillomavirus). Os papilomavírus são antigos membros da família Papovaviridae. Embora os papilomavírus e os poliomavírus compartilhem semelhanças morfológicas, composição dos ácidos nucleicos e capacidade de transformação, as diferenças na organização do genoma e na biologia levam à sua separação em duas famílias distintas de vírus. Os papilomavírus têm diâmetro ligeiramente maior (55 nm) que os poliomavírus (45 nm) e contêm um grande genoma (8 kbp versus 5 kbp). A organização do genoma dos papilomavírus é mais complexa (Fig. 43.8). Existe uma ampla diversidade entre os papilomavírus. Os testes de neutralização não podem ser feitos, uma vez que não existem testes de infectividade *in vitro*, sendo os isolados de papilomavírus classificados por critérios

QUADRO 43.6 Propriedades importantes dos papilomavírus^a

Virion: icosaédrico, com 55 nm de diâmetro
Composição: DNA (10%), proteína (90%)
Genoma: DNA de fita dupla, circular, 8 kbp, PM de 5 milhões
Proteínas: duas proteínas estruturais; histonas celulares condensam o DNA no virion
Envelope: ausente
Replicação: núcleo
Características marcantes: estimulam a síntese do DNA celular Estrita variedade de hospedeiros e tropismo tissular Causa significativa de câncer em seres humanos, especialmente câncer cervical As oncoproteínas virais interagem com proteínas supressoras de tumores celulares

^a Anteriormente classificado na família Papovaviridae.

PM, Peso molecular

moleculares. Os “tipos” virais são pelo menos 10% dissimilares na sequência de seus genes L1. Mais de 200 tipos distintos de HPV foram isolados.

Replicação dos papilomavírus

Os papilomavírus apresentam um alto tropismo por células epiteliais da pele e das mucosas. O ácido nucleico viral pode ser encontrado em células germinativas basais, porém os genes de expressão tardia (proteínas de capsídeo) estão restritos à camada superior de queratinócitos diferenciados (Fig. 43.9). Os estágios do ciclo replicativo viral dependem de fatores específicos presentes, em estados diferenciados, na célula do hospedeiro. Essa forte dependência da replicação viral em estado diferenciado da célula hospedeira é responsável pelas dificuldades na propagação dos papilomavírus *in vitro*.

Patogênese e patologia

A transmissão da infecção viral ocorre por contato íntimo. As partículas virais são liberadas pela superfície das lesões de papilomavírus. É provável que microlesões permitam a infecção

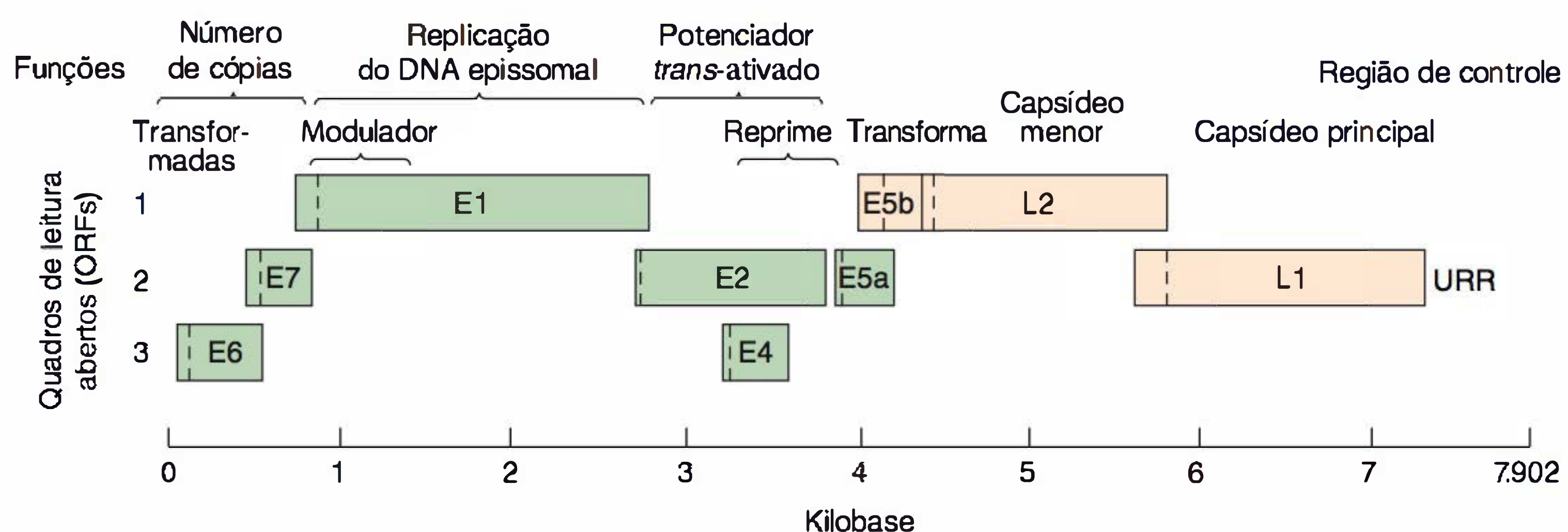


FIGURA 43.8 Mapa do genoma do papilomavírus humano (HPV-6, 7.902 pares de bases). O genoma do papilomavírus é circular, sendo, porém, mostrado de modo linear na região reguladora proximal (URR, na sigla em inglês). A região reguladora proximal contém a origem da replicação, bem como sequências intensificadoras e promotoras. A figura mostra as estruturas de leitura abertas iniciais (E1 a E7) e tardias (L1, L2), bem como suas funções. Todas as estruturas de leitura abertas encontram-se na mesma fita do DNA viral. As funções biológicas são extrapoladas a partir de estudos do papilomavírus bovino. A organização do genoma do papilomavírus é muito mais complexa do que um polioma vírus atípico (comparar com a Figura 43.7). (Reproduzida, com autorização, de Broker TR: Structure and genetic expression of papillomaviruses. *Obstet Gynecol Clin North Am* 1987;14:329. Copyright Elsevier.)

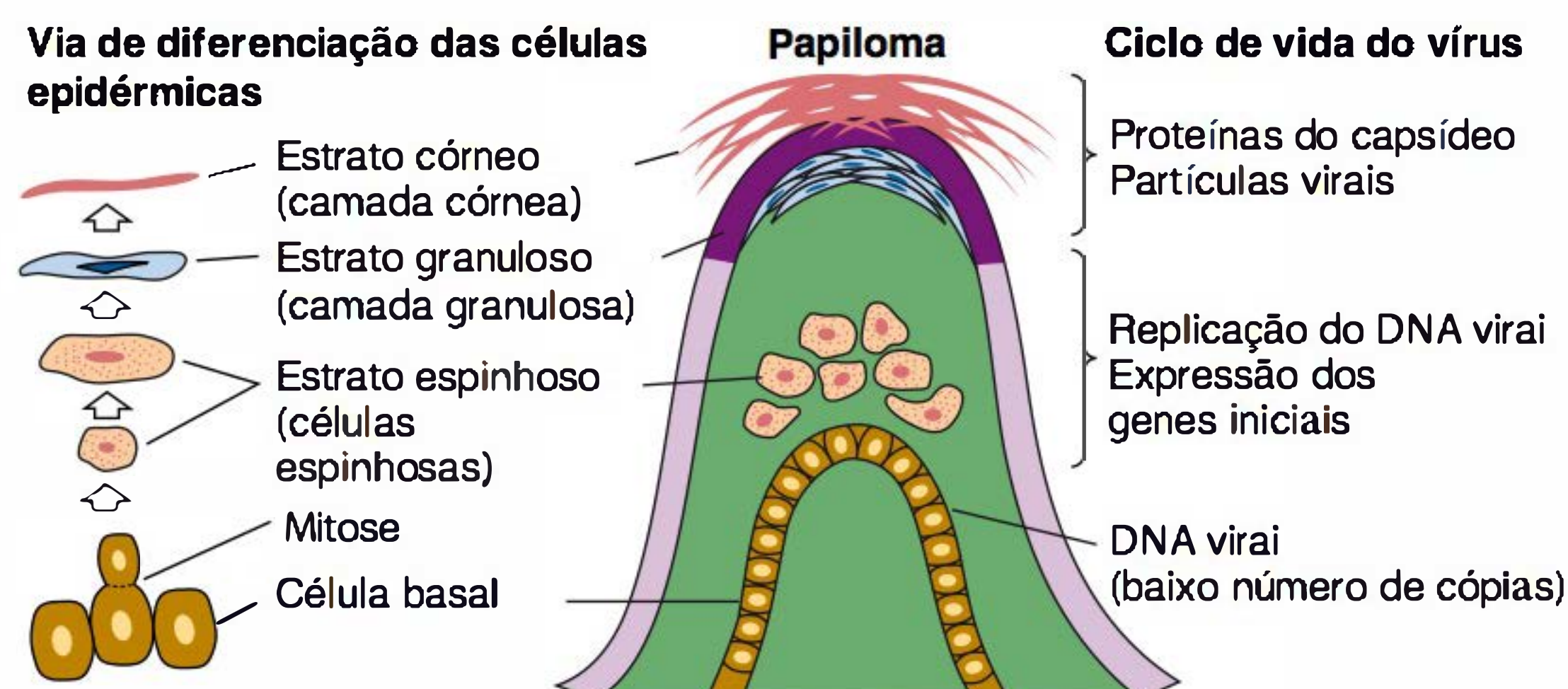


FIGURA 43.9 Representação esquemática de uma verruga cutânea (papiloma). O ciclo de vida dos papilomavírus está ligado à diferenciação das células epiteliais. A via de diferenciação terminal das células epidérmicas é mostrada à esquerda. Os eventos no ciclo de vida do vírus estão indicados à direita. Os eventos tardios na replicação viral (síntese da proteína do capsídeo e morfogênese do virion) só ocorrem nas células de diferenciação terminal. (Reproduzida, com autorização, de Butel JS: Papovaviruses. In Baron S. *Medical Microbiology*, 3rd ed Churchill Livingstone, 1991.)

QUADRO 43.7 Exemplos de associação de papilomavírus humano com lesões clínicas

Tipo de papilomavírus humano ^a	Lesão clínica	Potencial oncogênico suspeito
1	Verrugas plantares	Benígnas
2,4,27,57	Verrugas comuns de pele	Benígnas
3, 10,28, 49, 60, 76,78	Lesões cutâneas	Baixo
5, 8,9, 12, 17, 20,36,47	Epidermodisplasia verruciforme	Geralmente benígnas, mas algumas progridem para malignidade
6, 11, 40, 42 a 44, 54, 61, 70, 72, 81	Condilomas anogenitais; papilomas de laringe; displasias e neoplasias intraepiteliais (sítios de mucosa)	Baixo
7	Verrugas das mãos dos açougueiros	Baixo
16, 18, 30, 31, 33, 35, 39, 45, 51 a 53, 56, 58,59,66,68,73,82	Displasias de alto grau e carcinomas de mucosa genital; carcinomas de laringe e esôfago	Alta correlação com carcinoma genital e oral, especialmente o câncer cervical

^aNem todos os tipos de papilomavírus estão listados.

da camada basal proliferativa das células para outros locais ou para diferentes hospedeiros.

Os papilomavírus causam infecções nos locais cutâneos e mucosos, levando algumas vezes ao desenvolvimento de diferentes tipos de verruga, como as verrugas de pele, verrugas plantares, verrugas chatas, condilomas genitais, verrugas anogenitais e papilomas de laringe e diversos cânceres, inclusive os de cérvix, vulva, pênis e ânus; e um subgrupo de cânceres de cabeça e pescoço (Quadro 43.7). Os inúmeros tipos de isolados de HPV estão associados preferencialmente a certos tipos de lesão clínica, embora os padrões de distribuição não sejam absolutos. As infecções genitais por HPV são doenças sexualmente transmissíveis (DSTs) e representam a DST mais comum nos EUA. O câncer cervical é a segunda causa de câncer em mulheres no mundo inteiro (cerca de 500.000 novos casos anuais), sendo a principal causa de mortes por câncer em países em desenvolvimento.

Com base na ocorrência relativa do DNA viral em certos cânceres, os HPV tipos 16 e 18 são considerados de alto risco de câncer; cerca de 15 outros menos comuns são também considerados de alto risco. Muitos tipos de HPV são considerados benignos.

Cópias integradas do DNA viral estão normalmente presentes nas células do câncer cervical, embora o DNA do HPV seja geralmente não integrado (epissômico) em células não cancerosas ou em lesões pré-malignas. Os carcinomas de pele parecem abrigar genomas do HPV em um estado epissômico. As proteínas virais precoces E6 e E7 são sintetizadas no tecido canceroso. Existem proteínas transformantes do HPV, capazes de se complexar com Rb e p53, bem como outras proteínas celulares (Quadro 43.4).

A conduta das lesões do HPV é influenciada por fatores imunológicos. A imunidade mediada por células é importante. Praticamente todas as infecções por HPV são eliminadas, tornando-se não detectáveis em 2 a 3 anos.

O câncer cervical desenvolve-se lentamente, durante, às vezes, anos ou décadas. Imagina-se que muitos fatores estão envolvidos na progressão da malignidade; entretanto, a infecção persistente com alto risco de HPV é um componente necessário ao processo (Fig. 43.10).

Manifestações clínicas e epidemiologia

Um número estimado em 660 milhões de pessoas no mundo inteiro tem infecções genitais por HPV, a infecção viral mais comum do trato reprodutivo. Estima-se que 20 milhões de americanos estejam infectados e cerca de 6 milhões de novas infecções ocorram anualmente nos EUA. O pico de incidência das infecções ocorre em adolescentes e adultos jovens com menos de 25 anos.

Admite-se que o HPV é o causador de cânceres anogenitais. Cerca de 99% dos casos de câncer cervical e cerca de 80% dos casos de câncer anal estão ligados a infecções genitais com HPV. Os papilomavírus ilustram o conceito de que as cepas virais naturais podem diferir em seu potencial oncogênico. Embora diferentes tipos de HPV causem infecções genitais, o HPV-16 ou o HPV-18 são encontrados com maior frequência nos carcinomas cervicais, mas alguns tipos de câncer contêm DNA de outros tipos, como o HPV-31. Estudos epidemiológicos indicam que o HPV-16 e o HPV-18 são responsáveis por mais de 70% dos cânceres cervicais, com o tipo 16 sendo o mais comum. As células HeLa — uma linhagem celular muito utilizada em cultura de células, derivada, muitos anos atrás, de um carcinoma cervical — contêm DNA de HPV-18.

O câncer anal está associado à infecção de alto risco por HPV. Os pacientes imunocomprometidos são de risco, bem como os homens que praticam sexo com outros homens. Múltiplos tipos de HPV são comumente encontrados no canal anal de homens infectados pelo HIV. Os cânceres de orofaringe, um subgrupo dos carcinomas celulares escamosos de cabeça e pescoço, também estão ligados a infecções por HPV, especialmente pelo tipo 16. Cerca de 25% dos cânceres de boca e de 35% dos de garganta estão associados ao HPV. A cavidade oral, tanto dos indivíduos HIV positivos, quanto indivíduos não infectados apresentam uma abundância de diferentes tipos de HPV.

O papel do homem como portador de HPV e como de vetor de transmissão de infecções está bem documentado; entretanto, a maioria das infecções penianas por HPV no homem é subclínica e não resulta em doença associada ao HPV.

As verrugas anogenitais são geralmente (90%) causadas por HPV de baixo risco, tipos 6 e 11. Os papilomas de laringe em

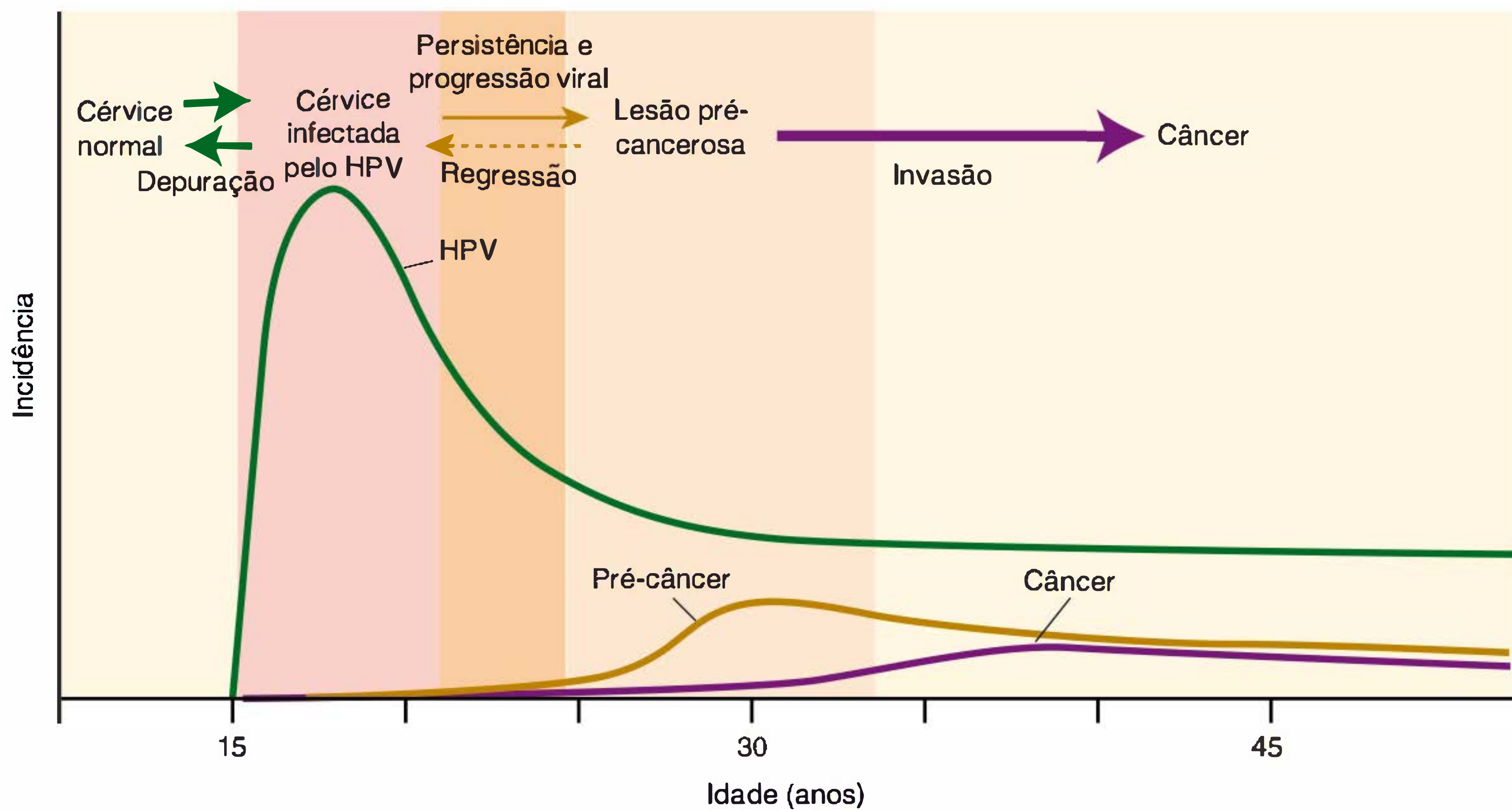


FIGURA 43.10 Relação entre infecção cervical por HPV, pré-câncer e câncer. A curva de HPV mostra a alta incidência de infecção logo após a mulher iniciar a atividade sexual e subsequente diminuição em virtude de muitas infecções serem autolimitadas. A curva de incidência pré-câncer ilustra o prazo entre a aquisição da infecção por HPV e o desenvolvimento de pré-câncer e que somente um subgrupo de mulheres infectadas desenvolve um pré-câncer. A curva de incidência de câncer mostra um intervalo relativamente longo entre o pré-câncer e a progressão para câncer invasivo. (Reproduzida, com autorização, de Lowy DR, Schiller JT: Prophylactic human papillomavirus vaccines. *J Clin Invest* 2006; 116:1167. Com permissão, de Copyright Clearance Center, Inc. Modificada, de Schiffman M, Castle, PE: The promise of global cervical-cancer prevention. *N Engl J Med* 2005;353:2101.)

crianças, também chamados papilomatose respiratória recorrente, são causados por HPV-6 e HPV-11, os mesmos vírus que causam os condilomas genitais benignos. A infecção é adquirida durante o nascimento, na passagem pelo canal vaginal, de uma mãe que tenha verrugas genitais. Apesar de os papilomas de laringe serem raros, o crescimento pode obstruir a laringe, e precisam ser removidos repetidamente por processos cirúrgicos. Cerca de 3.000 casos de tal doença são diagnosticados anualmente, e até 3% das crianças morrem desse quadro.

Existe uma alta prevalência do DNA do HPV na pele normal de adultos saudáveis. Aparentemente, essas infecções assintomáticas são adquiridas no início da infância. Grande multiplicidade de tipos de HPV é detectada na pele normal. Imagina-se que a transmissão ocorra por contato próximo com a criança, havendo alta concordância (cerca de 60%) entre os tipos detectados nas crianças e em suas mães.

Pacientes imunossuprimidos experimentam maior incidência de verrugas e câncer de cérvix. Todos os cânceres associados ao HPV ocorrem com maior frequência em pessoas com HIV/Aids.

Prevenção e controle

Espera-se que as vacinas contra o HPV venham a ser uma forma custo-efetiva de se reduzirem as infecções anogenitais por HPV, a incidência de câncer cervical e as infecções de agentes de saúde que se contaminam com HPV. Uma vacina quadrivalente contra o HPV foi aprovada nos EUA em 2006 e uma vacina bivalente foi aprovada em 2007. Ambas são vacinas recombinantes não infecciosas que contêm partículas semelhantes ao

vírus, composta por proteínas L1 do HPV. A vacina quadrivalente contém partículas derivadas do HPV tipos 6, 11, 16 e 18, ao passo que a vacina bivalente contém partículas dos tipos 16 e 18. Ambas as vacinas são eficazes na prevenção de infecções persistentes pelos tipos de HPV e no desenvolvimento de lesões genitais pré-cancerosas genitais ligadas ao HPV. Contudo, não se mostram eficazes contra doença por HPV estabelecida. Adolescentes e adultos jovens são a população-alvo inicial para vacinação da vacina quadrivalente disponibilizada em 2011. Não se sabe a duração da imunidade conferida por esta vacina, mas parece que se estende por pelo menos 5 anos.

As vacinas contra o HPV não são recomendadas para mulheres grávidas.

ADENOVÍRUS

Os adenovírus (ver Cap. 32) compreendem um grande grupo de agentes amplamente distribuídos na natureza. Trata-se de vírus de tamanho médio sem envelope que contém um genoma linear de DNA de fita dupla (com 26 a 45 kbp). A replicação é específica da espécie, ocorrendo nas células dos hospedeiros naturais. Os adenovírus infectam comumente os seres humanos, provocando doenças agudas leves, principalmente das vias respiratórias e do trato intestinal.

Os adenovírus são capazes de transformar células de roedores e, de induzir a síntese de antígenos iniciais específicos do vírus que se localizam tanto no núcleo quanto no citoplasma das células transformadas. As proteínas iniciais E1A formam complexos com a proteína Rb celular, bem como com várias outras

proteínas celulares. Outras proteínas iniciais, E1B e E4ORF1, ligam-se à p53 e a outras proteínas de sinalização celulares (Quadro 43.4). Os adenovírus constituem importantes modelos para o estudo dos mecanismos moleculares pelos quais os vírus tumorais de DNA interferem nos processos de controle do crescimento celular. Diferentes sorotipos de adenovírus manifestam graus variáveis de oncogenicidade em *hamsters* recém-nascidos. Não foi detectada associação dos adenovírus com neoplasias humanas.

HERPES-VÍRUS

São vírus grandes (125 a 200 nm de diâmetro) com um genoma linear de DNA de fita dupla (125 a 240 kbp) e que apresentam um capsídeo com simetria icosaédrica, circundado por um envelope externo contendo lipídeos. Tipicamente, os herpesvírus (ver Cap. 33) causam infecções agudas seguidas de um período de latência e posterior recidiva em cada hospedeiro, inclusive os seres humanos.

Nos seres humanos, os herpesvírus têm sido associados a vários tipos de tumor. O herpesvírus Epstein-Barr (EBV) provoca mononucleose infecciosa aguda quando infecta linfócitos B de seres humanos suscetíveis. Os linfócitos humanos normais apresentam um tempo de sobrevivência limitado *in vitro*, porém o EBV é capaz de immortalizar esses linfócitos em linhagens de células linfoblásticas que crescem indefinidamente em cultura.

Do ponto de vista etiológico, o EBV está associado ao linfoma de Burkitt, um tumor observado mais comumente em crianças da África Central, ao carcinoma nasofaríngeo, mais comum em chineses cantoneses e esquimós do Alasca do que em outras populações, a linfomas pós-transplante e à doença de Hodgkin. Em geral, esses tumores contêm DNA do EBV (tanto na forma integrada quanto na epissômica) e antígenos virais. Indivíduos imunossuprimidos apresentam grande risco para desenvolvimento de doença proliferativa linfoide e linfomas desencadeados pelo EBV.

O EBV codifica uma proteína oncogênica viral (LMP1) que imita um receptor de fator de crescimento ativado. A LMP1 é capaz de transformar os fibroblastos de roedores, e sua presença é essencial para a transformação dos linfócitos B (Quadro 43.4). São necessários vários antígenos nucleares codificados pelo EBV (EBNA) para a immortalização das células B. A EBNA1 é a única proteína viral consistentemente expressa em células do linfoma de Burkitt. O EBV é muito bem-sucedido ao evitar a sua eliminação pelo sistema imunológico, o que pode ser devido, em parte, à função da EBNA1 na inibição do processamento de antígenos para permitir o escape das células infectadas à destruição pelos linfócitos T citotóxicos.

A malária pode representar um cofator no linfoma de Burkitt africano. A maioria desses tumores também apresenta translocações cromossômicas características entre o gene *c-myc* e os *loci* das imunoglobulinas, resultando em ativação constitutiva da expressão de *myc*. O consumo de peixe salgado ou seco pode constituir um fator dietético no carcinoma de nasofaringe relacionado com o EBV em carcinoma de nasofaringe.

O herpesvírus associado ao sarcoma de Kaposi, também conhecido como herpesvírus humanos 8 (KSHV/HHV8), não é tão onipresente quanto a maioria dos outros herpesvírus

humanos. Acredita-se que seja a causa do sarcoma de Kaposi, do linfoma de derrame primário e da doença multicêntrica de Castelman, um distúrbio linfoproliferativo particular. O KSHV tem vários genes relacionados com os genes regulatórios celulares, capazes de estimular a proliferação celular e modificar os mecanismos de defesa do hospedeiro.

Alguns herpesvírus estão associados a tumores em animais inferiores. A doença de Marek é uma doença linfoproliferativa altamente contagiosa de galinhas, que pode ser evitada por vacinação com uma cepa atenuada do vírus da doença de Marek. A prevenção do câncer por meio de vacinação nesse caso comprova ser o vírus o agente etiológico e sugere a possibilidade de uma abordagem semelhante na prevenção de tumores humanos com vírus como agente etiológico. Outros exemplos de tumores induzidos por herpesvírus em animais são os linfomas de determinados tipos de macaco e adenocarcinomas de rãs. Os vírus de macacos provocam infecções inaparentes em seus hospedeiros naturais, porém induzem linfomas de células T malignos quando transmitidos a outras espécies de macacos.

POXVÍRUS

Os poxvírus (ver Cap. 34) são vírus grandes em forma de tijolo, com genoma linear de DNA de fita dupla (130 a 375 kbp). O vírus Yaba provoca tumores benignos (histiocitomas) em seus hospedeiros naturais, os macacos. O vírus do fibroma de Shope induz fibromas em alguns coelhos e tem a capacidade de alterar as células em cultura. O vírus do molusco contagioso produz pequenos crescimentos benignos em seres humanos. Pouco se sabe a respeito da natureza dessas doenças proliferativas.

VÍRUS DAS HEPATITES B E C

O vírus da hepatite B (ver Cap. 35), um membro da família Hepadnaviridae, caracteriza-se por virions esféricos de 42 nm, com genoma circular de DNA de fita dupla (3,2 kbp). Uma fita do DNA é incompleta e de comprimento variável. Os estudos do vírus são dificultados devido à ausência de crescimento em cultura de células.

Além de provocar hepatite, o vírus da hepatite B constitui um fator de risco para o desenvolvimento de câncer hepático em seres humanos. Os estudos epidemiológicos e laboratoriais provaram que a infecção persistente pelo vírus da hepatite B constitui importante causa de hepatopatia crônica e desenvolvimento de carcinoma hepatocelular. As infecções pelo vírus da hepatite B que ocorre em adultos geralmente sofrem resolução, enquanto as infecções primárias em recém-nascidos e crianças de pouca idade tendem a se tornar crônicas em até 90% dos casos. Essas infecções persistentes pelo vírus da hepatite B estabelecidas no início da vida é que estão associadas a maior risco de desenvolvimento posterior de carcinoma hepatocelular. O mecanismo de oncogênese permanece obscuro. A infecção viral persistente resulta em necrose, inflamação e regeneração hepática que, com o decorrer do tempo, levam ao desenvolvimento de cirrose; o carcinoma hepatocelular geralmente origina-se desses elementos de base. A proteína transativadora do vírus da hepatite B, a proteína X, é uma oncoproteína viral potencial. Um carcinógeno dietético, a aflatoxina, pode constituir

um cofator no desenvolvimento de carcinoma hepatocelular, particularmente na África e na China.

O advento de uma vacina eficaz contra a hepatite B para prevenção da infecção primária aumenta a possibilidade de prevenção do carcinoma hepatocelular, particularmente nas regiões do mundo em que a infecção pelo vírus da hepatite B é hiperendêmica (p. ex., África, China, Sudeste Asiático). Vinte anos após o início de um programa universal de vacinação contra a hepatite B em Taiwan, as taxas de infecção viral em hepatite B crônica e as taxas de câncer de fígado foram nitidamente reduzidas.

As marmotas fornecem um excelente modelo para as infecções de seres humanos pelo vírus da hepatite B. Um vírus semelhante, o da hepatite da marmota, provoca infecções crônicas em marmotas tanto recém-nascidas quanto adultas, muitas das quais desenvolvem carcinomas hepatocelulares no decorrer de um período de 3 anos.

O vírus da hepatite C (ver Cap. 35), um membro da família Flaviviridae, contém um genoma RNA de fita simples, com 9,4 kb de tamanho. Parece que a maioria das infecções torna-se persistente mesmo em adultos. A infecção crônica pelo vírus da hepatite C também é considerada fator etiológico no carcinoma hepatocelular. O mais provável é que o vírus da hepatite C atue de modo indireto no desenvolvimento de carcinoma hepatocelular.

Atualmente, existem mais de 250 milhões de pessoas no mundo inteiro com infecção persistente pelo vírus da hepatite B e mais de 170 milhões de portadores crônicos do vírus da hepatite C — um grande reservatório de indivíduos com risco de desenvolver câncer hepático.

COMO PROVAR SER UM VÍRUS A CAUSA DE CÂNCER HUMANO

É evidente que os vírus estão envolvidos na gênese de vários tipos de tumor humano. Em geral, é muito difícil comprovar uma relação causal entre um vírus e determinado tipo de câncer.

Se um vírus for o único agente etiológico de um câncer específico, a distribuição geográfica da infecção viral deverá coincidir com a do tumor; a presença de marcadores virais deve ser maior nos casos do que nos controles; e a infecção viral deve preceder o desenvolvimento do tumor. Este critério pode ser difícil de estabelecer se outros fatores ambientais ou genéticos estiverem causando alguns casos do mesmo tipo de câncer. Somente nos casos em que a expressão contínua de uma função viral for necessária para manutenção da transformação é que os genes virais persistirão em todas as células tumorais. Se o vírus constituir uma etapa inicial na carcinogênese em várias etapas, poderá haver perda do genoma viral à medida que o tumor evoluir para estágios mais alterados. Em contrapartida, um vírus pode ser encontrado em frequente associação com um tumor, mas pode representar simplesmente um passageiro devido à sua afinidade pelo tipo celular.

Em geral, os vírus tumorais não se replicam nas células transformadas, de modo que é necessário utilizar métodos muito sensíveis, como a pesquisa de ácidos nucleicos ou proteínas virais nas células, para detectar a presença do vírus. Como as proteínas estruturais virais frequentemente não são

expressas, as proteínas não estruturais codificadas pelo vírus podem constituir marcadores da presença do vírus.

A indução de tumores em animais de laboratório e a transformação de células humanas em cultura constituem boas evidências circunstanciais de que um vírus é tumorigênico. Esses sistemas podem fornecer modelos para análises moleculares do processo de transformação, mas não constituem uma prova de que o vírus provoca determinado câncer humano.

A prova mais definitiva de uma relação causal consiste na redução da incidência do tumor mediante a prevenção da infecção pelo vírus. Os métodos de intervenção devem ser eficazes para reduzir a ocorrência de câncer, mesmo se o vírus for apenas um dos diversos cofatores.

RESUMO DO CAPÍTULO

- Os vírus podem ser agentes desencadeadores de uma série de tipos de neoplasias humanas.
- Os vírus oncogênicos são alocados em diferentes famílias, incluindo tanto vírus RNA quanto vírus DNA e apresentam diversos mecanismos de oncogênese.
- Vírus oncogênicos humanos incluem o vírus da hepatite B, hepatite C, papilomavírus, vírus Epstein-Barr, herpes-vírus humano 8, vírus linfotrófico T humano e vírus das células Merkel. O vírus da imunodeficiência humana (HIV) também é considerado um agente oncogênico, devido à supressão imunológica provocada por esse agente viral.
- Há vacinas efetivas disponíveis contra o vírus da hepatite B e o papilomavírus.
- Modelos animais e células de linhagem contínua são usados no estudo dos mecanismos de oncogênese viral.
- Estudos sobre esses vírus revelaram o papel da oncogênese celular, dos genes supressores tumorais no câncer e as bases moleculares da carcinogênese.
- Os vírus oncogênicos induzem infecções persistentes no hospedeiro a longos períodos de latência entre a infecção inicial e o aparecimento do tumor.
- As infecções por vírus oncogênicos são muito mais comuns do que a formação de tumores relacionados com vírus.

QUESTÕES DE REVISÃO

1. Os vírus podem causar câncer em animais e seres humanos. Um princípio da carcinogênese viral é:
 - (A) Os retrovírus causam a maior parte dos tipos de câncer humano
 - (B) Nem todas as infecções com vírus de câncer humano levam à formação de tumores
 - (C) Curtos períodos de latência transcorrem entre o tempo da infecção viral e o aparecimento de tumores
 - (D) Os modelos animais raramente preveem os mecanismos celulares do câncer em humanos
 - (E) Os fatores do hospedeiro são insignificantes em influenciar o desenvolvimento de câncer humano induzido por vírus
2. Os oncogenes celulares representam genes ativados envolvidos no câncer. Uma segunda classe de genes de câncer está envolvida no desenvolvimento de câncer somente quando ambos os alelos

- de tal gene se encontram inativados. Esta segunda classe de genes é chamada:
- (A) Proto-oncogenes
(B) Genes do antígeno T
(C) Genes supressores de tumores
(D) Genes transduzidos
(E) Genes silenciosos
3. Uma mulher de 38 anos de idade, que teve muitos parceiros sexuais durante a vida, recebe diagnóstico de câncer cervical. Este câncer mostra-se comum no mundo inteiro, sendo uma doença viral sexualmente transmissível. O agente causador do câncer cervical humano é (são):
- (A) Vírus da hepatite C
(B) Vírus da hepatite B
(C) Papilomavírus humano, tipos de alto risco
(D) Poliomavírus
(E) Herpes-vírus
4. Os retrovírus codificam uma enzima chamada transcriptase reversa, cuja função é:
- (A) Atividade de DNase
(B) Atividade de RNA polimerase dependente de DNA
(C) Atividade de DNA polimerase dependente de RNA
(D) Atividade de RNA polimerase dependente de RNA
(E) Atividade de topoisomerase
5. Dois meses após transplante renal, um homem de 47 anos de idade desenvolveu nefropatia. Até 5% dos pacientes que recebem transplante renal desenvolvem nefropatia. A causa viral de alguns casos de nefropatia é identificada como:
- (A) Poliomavírus BK
(B) Papilomavírus humano, todos os tipos
(C) Papilomavírus humano, tipos de baixo risco
(D) Vírus da hepatite C
(E) Citomegalovírus humano
6. O papilomavírus humano pode causar câncer no homem e está mais frequentemente associado a:
- (A) Pólipos retais
(B) Câncer de mama
(C) Câncer de próstata
(D) Cânceres anogenitais
(E) Mesoteliomas
7. Um vírus que causa câncer em seres humanos também está associado a um distúrbio do sistema nervoso chamado paraparesia espástica tropical. Esse vírus é o:
- (A) Poliomavírus JC
(B) Poliomavírus SV40
(C) Herpes-vírus simples
(D) Vírus linfotrópico T humano
(E) Vírus da imunodeficiência humana
8. Os poliomavírus codificam oncoproteínas chamadas antígenos T. Estes produtos gênicos virais:
- (A) Não são necessários para a replicação viral
(B) Interagem com as proteínas celulares supressoras de tumores
(C) Funcionam para integrar o provírus no cromossomo celular
(D) Sofrem mutação rapidamente para permitir ao vírus escapar da ação do sistema imunológico do hospedeiro
(E) Não são capazes de transformar as células em cultura
9. Os vírus que causam câncer são classificados em diversas famílias virais. Qual das seguintes famílias virais contém vírus que causam câncer no homem com um genoma do RNA?
- (A) *Adenoviridae*
(B) *Herpesviridae*
(C) *Hepadnaviridae*
(D) *Papillomaviridae*
(E) *Flaviviridae*
10. Os papilomas de laringe em crianças geralmente são causados pelo mesmo tipo de vírus que causa os condilomas genitais benignos. Esses vírus são:
- (A) Papilomavírus tipos 6 e 11
(B) Poliomavírus JC
(C) Vírus Epstein-Barr
(D) Vírus do molusco contagioso
(E) Papilomavírus tipos 16 e 18
11. Vacinas contra os tipos mais comuns de HPV que causam infecções genitais foram aprovadas em 2006 e 2007, sendo indicadas para uso em quais das seguintes populações?
- (A) Todos os homens e mulheres adultos
(B) Todas as mulheres adultas
(C) Mulheres com lesões cervicais pré-cancerosas
(D) Adolescentes e adultos jovens, homens e mulheres
(E) Adolescentes e adultos jovens do sexo feminino
12. Qual das seguintes alternativas melhor descreve as vacinas disponíveis contra HPV?
- (A) Vacinas de vírus atenuado
(B) Vacinas de vírus recombinante
(C) Vacinas de subunidades não infecciosas
(D) Toxoide
13. Muitos retrovírus oncogênicos carregam oncogenes intimamente relacionados com os genes celulares normais denominados proto-oncogenes. Qual dessas seguintes afirmações sobre esses genes está correta?
- (A) Vários proto-oncogenes são encontrados na forma mutante em neoplasias humanas, o que torna pouco provável a etiologia viral na carcinogênese
(B) Vários vírus oncogênicos e seus proto-oncogenes progenitores codificam proteína quinases específicas para tirosina.
(C) Alguns proto-oncogenes codificam fatores e receptores de crescimento celular.
(D) Os proto-oncogenes são intimamente relacionados a transpósons encontrados em bactérias.

Respostas

- | | | | |
|------|------|-------|-------|
| 1. B | 5. A | 9. E | 13. D |
| 2. C | 6. D | 10. A | |
| 3. C | 7. D | 11. D | |
| 4. B | 8. B | 12. C | |

REFERÊNCIAS

- Brechot C (guest editor): Hepatocellular carcinoma. *Oncogene Rev* 2006;25:3753. [Entire issue.]
- Butel JS: Viral carcinogenesis: Revelation of molecular mechanisms and etiology of human disease. *Carcinogenesis* 2000;21:405.

- Chang MH: Cancer prevention by vaccination against hepatitis B. *Recent Results Cancer Res* 2009;181:85.
- Dalianis T, Ramqvist T, Andreasson K, Kean JM, Garcea RL: KI, WU and Merkel cell polyomaviruses: A new era for human polyomavirus research. *Semin Cancer Biol* 2009;19:270.
- Gjoerup O, Chang Y: Update on human polyomaviruses and cancer. *Adv Cancer Res* 2010;106:1.
- Goff SP: Retroviridae: The retroviruses and their replication. In Knipe DM, Howley PM (editors-in-chief). *Fields Virology*, 5th ed. Lippincott Williams & Wilkins, 2007.
- Gonçalves DU, Proietti FA, Ribas JG, et al.: Epidemiology, treatment, and prevention of human T-cell leukemia virus type 1-associated diseases. *Clin Microbiol Rev* 2010;23:577.
- Howley PM, Lowy DR: Papillomaviruses. In Knipe DM, Howley PM (editors-in-chief). *Fields Virology*, 5th ed. Lippincott Williams & Wilkins, 2007.
- Human papillomavirus vaccines. WHO position paper. *Wkly Epidemiol Rec* 2009;84:118.
- Imperiale MJ, Major EO: Polyomaviruses. In Knipe DM, Howley PM (editors-in-chief). *Fields Virology*, 5th ed. Lippincott Williams & Wilkins, 2007.
- Javier RT, Butel JS: The history of tumor virology. *Cancer Res* 2008;68:7693.
- Jeang KT, Yoshida M (guest editors): HTLV-1 and adult T-cell leukemia: 25 years of research on the first human retrovirus. *Oncogene Rev* 2005;24:5923. [Entire issue.]
- Jones-Engel L, May CC, Engel GA, et al.: Diverse contexts of zoonotic transmission of simian foamy viruses in Asia. *Emerg Infect Dis* 2008;14:1200.
- Kean JM, Rao S, Wang M, Garcea RL: Seroepidemiology of human polyomaviruses. *PLoS Pathogens* 2009;5:e1000363.
- Kutok JL, Wang F: Spectrum of Epstein-Barr virus-associated diseases. *Annu Rev Pathol* 2006;1:375.
- Moody CA, Laimins LA: Human papillomavirus oncoproteins: Pathways to transformation. *Nat Rev Cancer* 2010;10:550.
- Schiffman M, Castle PE, Jeronimo J, Rodriguez AC, Wacholder S: Human papillomavirus and cervical cancer. *Lancet* 2007;370:890.
- Shroyer KR, Dunn ST (editors): Update on molecular diagnostics for the detection of human papillomavirus. *J Clin Virol* 2009;45(Suppl 1):S1. [Entire issue.]
- Tsai WL, Chung RT: Viral hepatocarcinogenesis. *Oncogene* 2010;29:2309.

Aids e lentivírus

Os tipos de vírus da imunodeficiência humana (HIV), que derivam de lentivírus de primatas, são os agentes etiológicos da Aids, a doença descrita pela primeira vez em 1981, tendo sido o HIV-1 isolado no final de 1983. Desde então, a Aids transformou-se em uma epidemia mundial, expandindo seu alcance e sua magnitude, porquanto as infecções pelo HIV vêm afetando diferentes populações em regiões geográficas diversas. Atualmente, milhões de pessoas estão infectadas no mundo inteiro, devendo permanecer assim por toda a vida. Em uma década, a maioria dos indivíduos infectados pelo HIV, se não foi tratada, irá desenvolver infecções oportunistas fatais em consequência das deficiências do sistema imunológico induzidas pelo HIV. A Aids representa um dos mais importantes problemas de saúde mundial no início do século XXI. O desenvolvimento da terapia antirretroviral altamente ativa (HAART) para a supressão crônica da replicação do HIV e prevenção da Aids tem sido uma das principais conquistas na medicina do HIV.

PROPRIEDADES DOS LENTIVÍRUS

As propriedades importantes dos lentivírus, membros de um gênero da família *Retroviridae*, encontram-se resumidas no Quadro 44.1.

Estrutura e composição

O HIV é um retrovírus do gênero *Lentivirus*, que exhibe muitas das características físico-químicas dessa família (ver Cap. 43). A característica morfológica singular do HIV consiste na presença de um nucleóide cilíndrico no virion maduro (Fig. 44.1). O nucleóide cilíndrico diagnóstico é visível, em micrografias eletrônicas, nas partículas extracelulares cortadas no ângulo apropriado.

O genoma do RNA dos lentivírus é mais complexo que o dos retrovírus transformadores (Fig. 44.2). Os lentivírus contêm quatro genes necessários à replicação de um retrovírus — *gag*, *pro*, *pol* e *env* — e seguem o padrão geral para replicação de retrovírus (ver Cap. 43). Até seis genes adicionais regulam a expressão viral e são importantes na patogênese da doença *in vivo*. Embora esses genes auxiliares exibam pouca homologia de sequência entre os lentivírus, suas funções são conservadas. (Os vírus de felinos e ungulados apresentam poucos genes acessórios.) Uma proteína de replicação da fase inicial, a proteína Tat, atua na “transativação”, através da qual um produto

gênico viral é envolvido na atividade de transcrição de outros genes virais. A transativação no HIV é altamente eficiente, podendo contribuir para a natureza virulenta das infecções pelo HIV. A proteína Rev é necessária à expressão das proteínas estruturais virais, facilitando a exportação de transcrições virais não processadas do núcleo; as proteínas estruturais são traduzidas de RNAm sem junção durante a fase tardia da replicação viral. A proteína Nef aumenta a infectividade viral, facilita a ativação das células T em repouso bem como reprime a expressão de CD4 e MHC da classe I. O gene *nef* é necessário para que o vírus da imunodeficiência de símios (*simian immunodeficiency virus* [SIV]) seja patogênico em macacos. A proteína Vpr aumenta o transporte do complexo viral de pré-integração no núcleo e detém as células na fase G2 do ciclo celular. A proteína Vpu promove a degradação de CD4.

As células contêm proteínas antivirais intracelulares inibitórias conhecidas como fatores de restrição. Um tipo é APOBEC3G,

QUADRO 44.1 Propriedades importantes dos lentivírus (retrovírus não oncogênicos)

Virion: esférico, 80 a 100 nm de diâmetro, tendo cerne cilíndrico

Genoma: RNA de fita simples, linear, de sentido positivo, 9 a 10 kb, diploide; o genoma é mais complexo do que os retrovírus oncogênicos e contém até seis genes de replicação adicionais

Proteínas: a glicoproteína de envelope sofre variação antigênica; a enzima transcriptase reversa está contida no interior dos virions; a protease é necessária à produção de vírus infecciosos

Envelope: presente

Replicação: a transcriptase reversa faz uma cópia do DNA a partir do RNA genômico; o DNA do provírus atua como molde para o RNA viral. É comum ocorrer variabilidade genética

Maturação: brotamento das partículas a partir da membrana plasmática

Características marcantes:

- Os membros não são oncogênicos e podem ser citocidas
- Infectam as células do sistema imunológico
- Os provírus permanecem permanentemente associados às células
- A expressão viral é restrita em algumas células *in vivo*
- Provocam doenças crônicas de progressão lenta
- A replicação em geral é específica da espécie
- O grupo inclui o agente causador da Aids

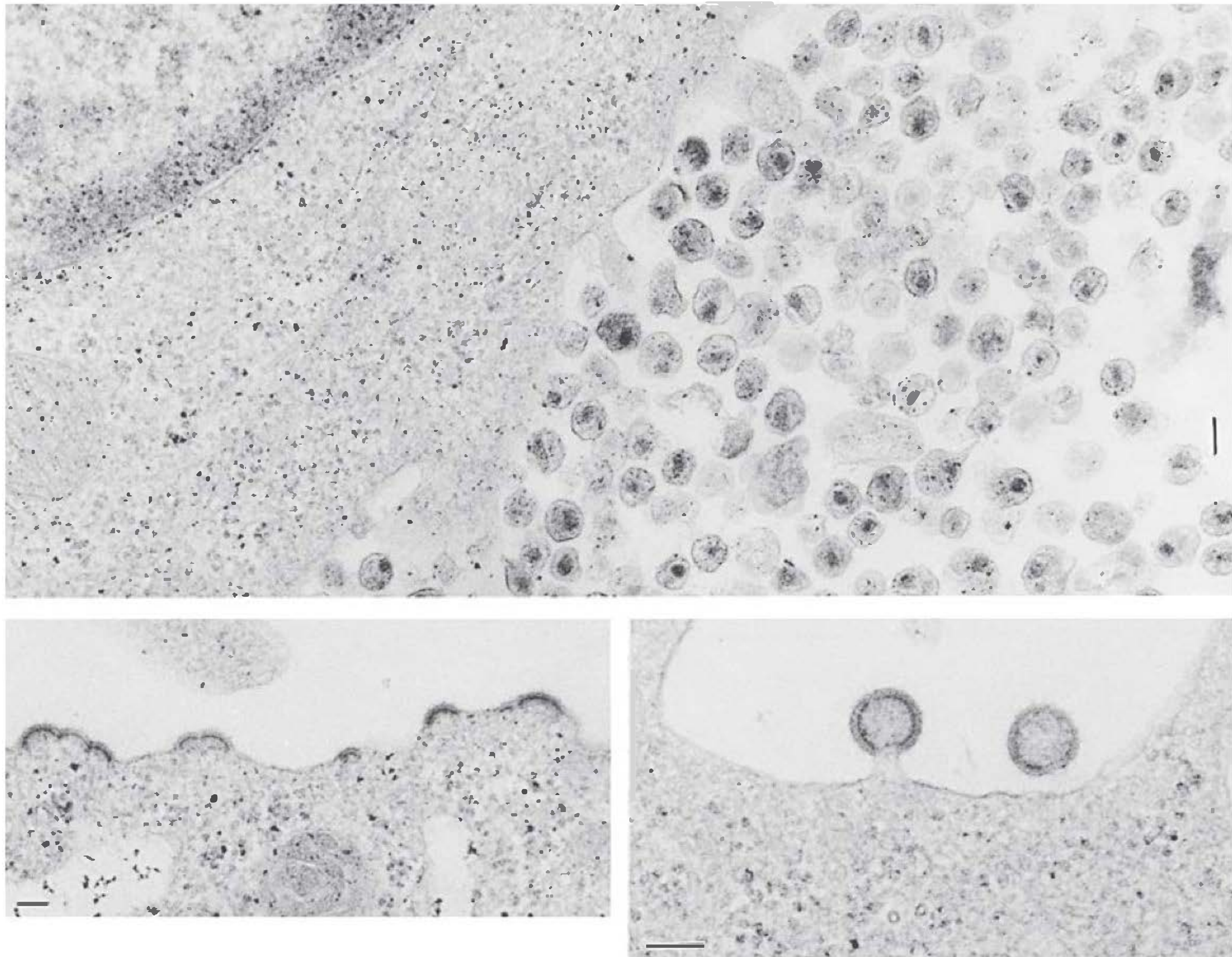


FIGURA 44.1 Micrografias eletrônicas de linfócitos infectados pelo HIV, mostrando um grande acúmulo de vírus recém-produzidos na superfície da célula (**em cima**, ampliada 46.450 vezes; barra = 100 nm); vírus recém-formados brotando a partir da membrana citoplasmática (**embaixo, à esquerda**, ampliada 49.000 vezes; barra = 100 nm); e dois virions que estão para serem eliminados da superfície celular (**embaixo, à direita**, ampliada 75.140 vezes; barra = 100 nm).

uma citidina desaminase que inibe a replicação do HIV. A proteína Vif promove a infectividade viral pela supressão dos efeitos de APOBEC3G. Outra proteína inibitória é a TRIM5 α , que se liga na entrada de partículas retrovirais e as recruta para os proteossomas antes de a síntese do DNA viral ocorrer.

Os inúmeros HIV isolados não são idênticos, mas parecem englobar um espectro de vírus relacionados (ver Classificação). São encontradas populações heterogêneas de genomas virais em um indivíduo infectado. Essa heterogeneidade reflete as altas taxas de replicação viral e a taxa de erro elevada da transcriptase reversa viral. As regiões de maior divergência entre os diferentes vírus isolados localizam-se no gene *env*, que codifica as proteínas do envelope viral (Fig. 44.3). O produto SU (gp120) do gene *env* contém domínios de ligação responsáveis pela fixação do vírus à molécula CD4 e correceptores; além disso, determina tropismos para os linfócitos e macrófagos, bem como apresenta os principais determinantes antigênicos que induzem a produção de anticorpos neutralizantes. A glicoproteína do HIV tem cinco regiões variáveis (V) que divergem entre os vírus isolados, sendo a região V3 importante na neutralização. O produto de *env*, TM (gp41), contém um domínio transmembrana, que fixa a glicoproteína no envelope viral, e um domínio de fusão, que facilita a penetração do vírus nas células-alvo. A divergência

no envelope do HIV complica os esforços no desenvolvimento de uma vacina eficaz contra a Aids.

Os lentivírus são vírus totalmente exógenos; diferente dos retrovírus transformadores, o genoma dos lentivírus não contém quaisquer genes celulares conservados (ver Cap. 43). Os indivíduos tornam-se infectados em consequência da introdução do vírus a partir de fontes externas.

Classificação

Os lentivírus foram isolados de muitas espécies (Quadro 44.2), inclusive de mais de duas dúzias de diferentes espécies de primatas africanos não humanos. Existem dois tipos distintos de vírus da Aids humana, o HIV-1 e o HIV-2, diferenciados com base na organização do genoma e em relações filogenéticas (evolutivas) com outros lentivírus de primatas. A divergência entre as sequências de HIV-1 e HIV-2 excede a 50%.

Com base nas sequências do gene *env*, o HIV-1 compreende três grupos distintos de vírus (M, N e O); o grupo M predominante contém pelo menos 10 subtipos ou “clades” (A a J). Formas recombinantes do vírus também são encontradas na circulação dos seres humanos, em diferentes regiões geográficas. De modo semelhante, foram identificados cinco subtipos de HIV-2 (A a E). Em cada subtipo, observa-se

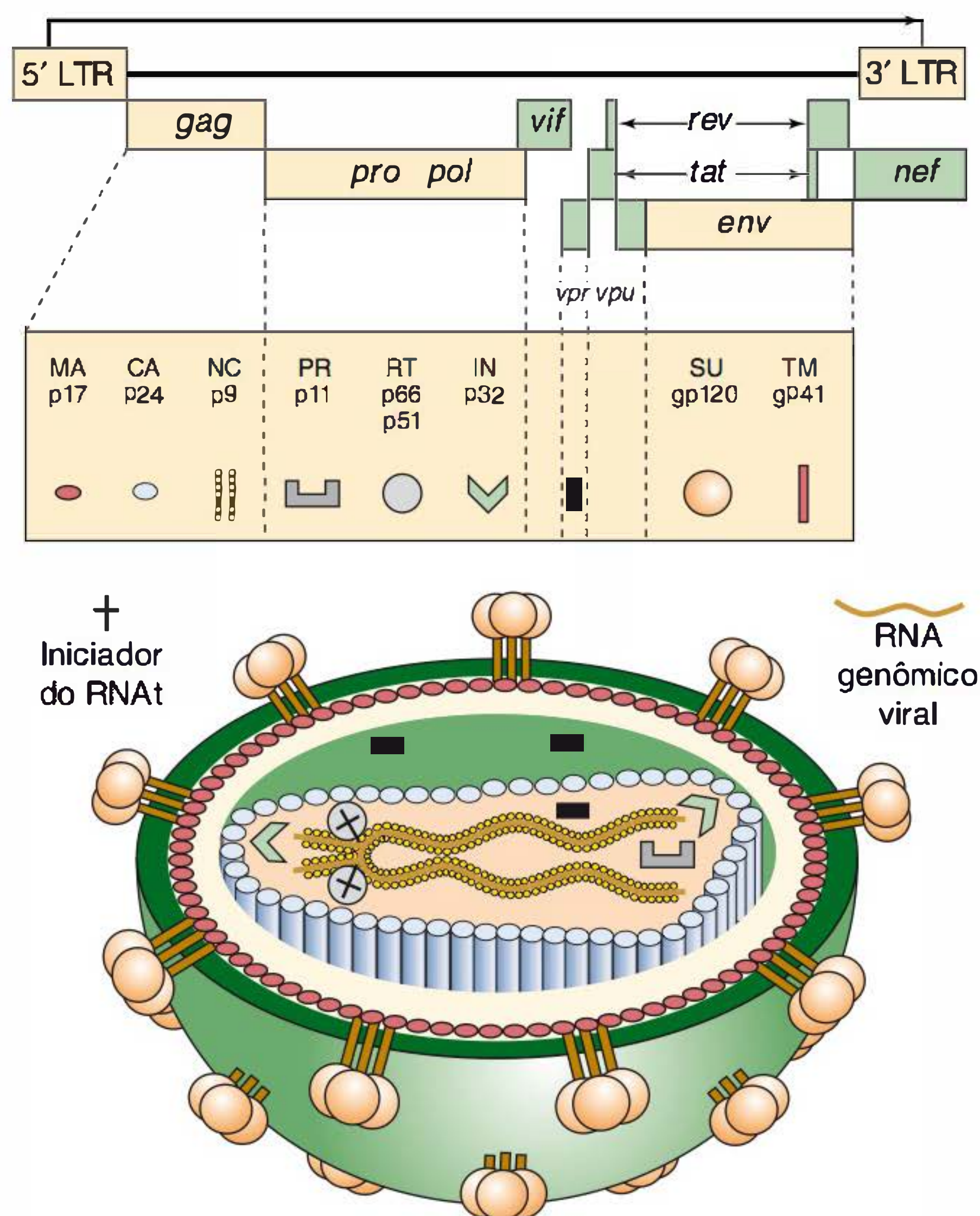


FIGURA 44.2 Genoma e estrutura do virion do HIV. O genoma do HIV-1 é apresentado na parte superior. As proteínas virais são sintetizadas em forma de poliproteínas precursoras (Gag-Pol [Pr160], Gag [Pr55] e Env [gp160]), enzimaticamente processadas para produzir proteínas do virion maduro. A Gag-Pol e a Gag são clivadas pela protease viral PR, produzindo as proteínas menores indicadas. A Env é clivada por uma PR celular, produzindo SU gp120 e TM gp41. As localizações das proteínas do virion na partícula viral estão indicadas por símbolos (parte inferior da figura). As posições exatas das proteínas PR, RT e IN no cerne viral não são conhecidas. O HIV-2 e o SIV não possuem o gene *vpu*, mas contêm o gene *vpx*. (Reproduzida de Peterlin BM: *Molecular biology of HIV*. In: *The Viruses*. Vol. 4: *The Retroviridae*. Levy JA [editor]. Plenum, 1995. Modificada, de Luciw PA, Shacklett BL. In: *HIV: Molecular Organization, Pathogenicity and Treatment*. Morrow WJW, Haigwood NL [editors.]. Elsevier, 1993.)

extensa variabilidade. As *clades* genéticas não parecem corresponder a grupos de sorotipos de neutralização nem existem evidências de que os subtipos diferem quanto à biologia ou à patogênese.

Foram isolados inúmeros lentivírus de espécies primatas não humanas. Os lentivírus de primatas são divididos em seis linhagens filogenéticas principais (Quadro 44.2). O SIV dos *mangabeys* cor de fuligem (um tipo de macaco da África Ocidental) e o HIV-2 são considerados variantes do mesmo vírus assim como os vírus isolados do chimpanzé e o HIV-1. Os SIV de macacos verdes da África, macacos *sykes*, o mandril e os macacos *colobus* representam linhagens discretas adicionais.

A organização dos genomas dos lentivírus de primatas (humanos e símios) é muito semelhante. Uma diferença está na presença de um gene *vpu* no HIV-1 e no vírus do chimpanzé, enquanto o HIV-2 e o grupo dos SIV_{sm} apresentam um gene

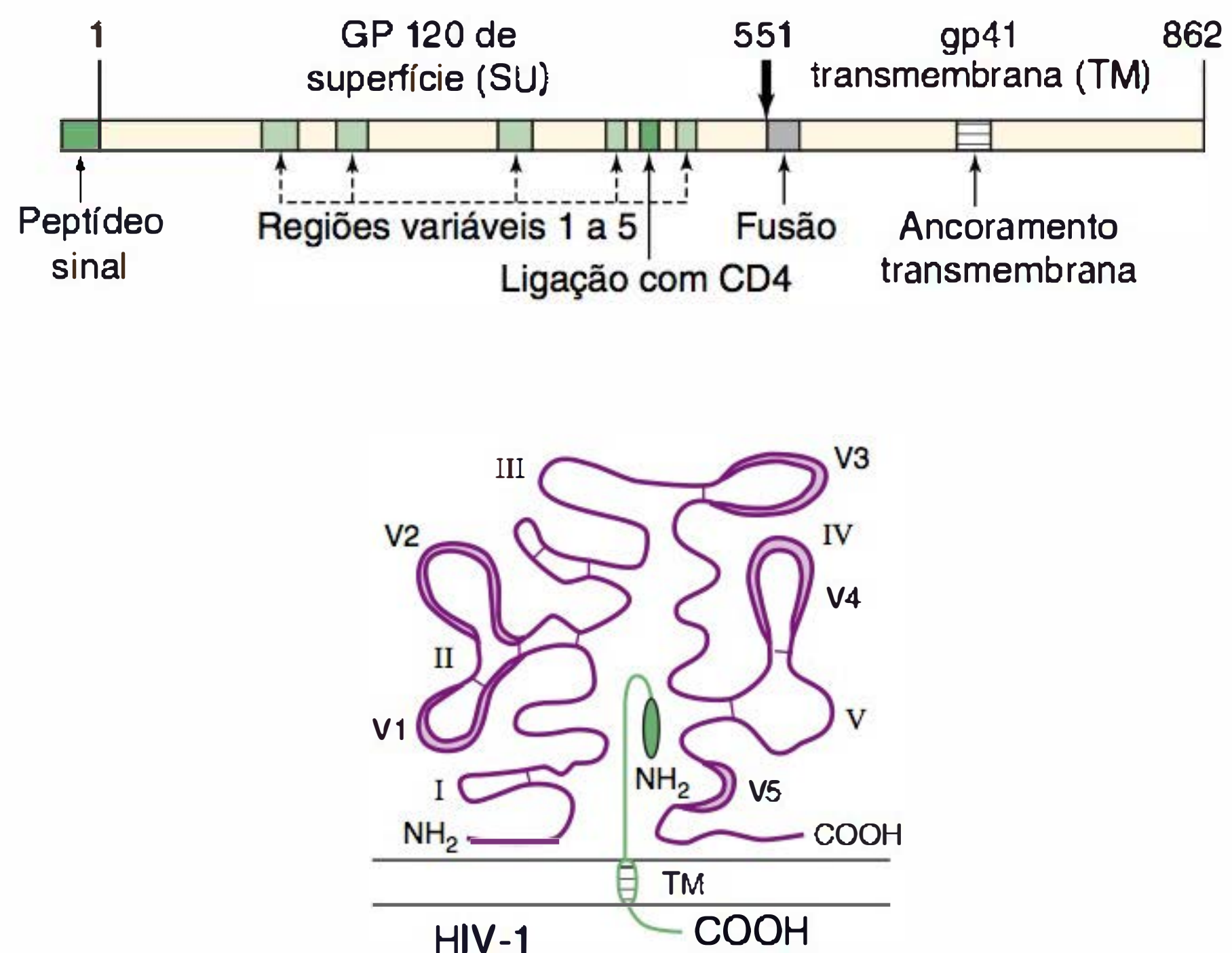


FIGURA 44.3 Proteínas do envelope do HIV. O polipeptídeoprecursor gp160 é mostrado na parte superior. A subunidade gp120 encontra-se no lado externo da célula, enquanto a gp41 é uma proteína transmembrana. Os domínios hipervariáveis na gp120 são designados por V1 a V5; as posições das ligações dissulfeto estão indicadas como linhas de conexão nas alças. As regiões importantes na subunidade gp41 constituem o domínio de fusão na extremidade aminoterminal e domínio transmembrana (TM). As extremidades aminoterminal (NH₂) e carboxiterminal (COOH) estão indicadas para ambas as subunidades. (Reproduzida, de Peterlin BM: *Molecular biology of HIV*. In: *The Viruses*. Vol. 4: *The Retroviridae*. Levy JA [editor]. Plenum, 1995. Modificada, de Myers G *et al.*: *Human Retroviruses and Aids 1993: A Compilation and Analysis of Nucleic Acid and Amino Acid Sequences*. Theoretical Biology and Biophysics Group T-10, Los Alamos National Library, Los Alamos, New Mexico.)

vpx. Outros isolados de SIV também não possuem nem o gene *vpu* nem o gene *vpx*. As sequências dos genes *gag* e *pol* são altamente conservadas. Existe uma significativa divergência entre os genes da glicoproteína do envelope; as sequências da porção proteica transmembrana são mais conservadas do que as sequências externas da glicoproteína (o componente proteico exposto no exterior da partícula viral).

Os SIV não parecem ser patogênicos em seus hospedeiros de origem (chimpanzé, macaco verde da África, *mangabe y* cor de fuligem); sabe-se que estas espécies são infectadas em seus habitats naturais. Contudo, o SIV_{cpz} (precursor do HIV-1) é patogênico em chimpanzés, causando patologia semelhante à Aids e morte prematura. Já os macacos *rhesus* não são naturalmente infectados na Ásia, porém mostram-se suscetíveis à indução da Aids de símios por vários SIV isolados. O vírus isolado pela primeira vez de macacos *rhesus* cativos (SIV_{mac}) é a cepa do *mangabe y* cor de fuligem/HIV-2.

Os lentivírus de animais não primatas estabelecem infecções persistentes, afetando diversas espécies animais. Esses vírus provocam doenças debilitantes crônicas e, algumas vezes, imunodeficiência. O agente protótipo, o vírus visna (também denominado vírus *maedi*), causa sintomas neurológicos ou pneumonia em carneiros na Islândia. Outros vírus provocam anemia infecciosa em cavalos, bem como artrite e encefalite em cabras. Os lentivírus felinos e bovinos podem causar imunodeficiência. Os lentivírus de animais não primatas não infectam quaisquer primatas, nem mesmo os seres humanos.

QUADRO 44.2 Membros representativos do gênero *Lentivirus*

Origem dos isolados	Vírus	Doenças
Seres humanos	HIV-1 (SIV _{cpz}) ^a HIV-2 (SIV _{sm})	Aids
Primatas não humanos ^b		Aids de símios
Chimpanzé	SIV _{cpz}	
Mangabey cor de fuligem	SIV _{sm}	
Macacos ^c	SIV _{mac}	
Macaco verde africano	SIV _{agm}	
Macaco sykes	SIV _{syk}	
Mandril	SIV _{mnd}	
Macaco l'Hoest ^c	SIV _{lhoest}	
Macaco colobo	SIV _{col}	
Não primatas ^d		
Gato	Vírus da imunodeficiência felina	Aids em felinos
Vaca	Vírus da imunodeficiência bovina	
Ovinos	Vírus visna/ <i>maedi</i>	Pulmão, doença do sistema nervoso central
Equinos	Vírus da anemia infecciosa equina	Anemia
Caprinos	Vírus da artrite e encefalite caprinas	Artrite, encefalite

^aAs origens do HIV-1 e do HIV-2 foram transmissões entre espécies cruzadas do SIV_{cpz} e do SIV_{sm}, respectivamente.

^bA doença não é causada pelo SIV do hospedeiro de origem, mas requer a transmissão para uma espécie diferente de macaco (os macacos *rhesus* são mais suscetíveis à doença). Os macacos asiáticos (*rhesus*) não exibem evidências de infecção pelo SIV_{sm} na natureza; o SIV_{sm} provavelmente foi introduzido por acidente em macacos em cativeiro.

^cO recuo indica que o vírus pertence à mesma linhagem filogenética do anterior.

^dOs lentivírus de não primatas provocam doença nas espécies de origem.

Origem da Aids

O HIV em seres humanos originou-se de infecções de espécies cruzadas por vírus de símios nas áreas rurais da África, provavelmente devido ao contato humano direto com sangue de primata infectado. A evidência atual é de que os correspondentes dos HIV-1 e HIV-2 de primatas foram transmitidos a seres humanos em várias (pelo menos sete) ocasiões diferentes. As análises de evolução de sequências situam a introdução do SIV_{cpz} em seres humanos, dando origem ao grupo M do HIV-1, em torno de 1930, embora algumas estimativas retrocedam esta data para 1908. Presumivelmente, tais transmissões ocorreram repetidamente, porém determinadas mudanças sociais, econômicas e comportamentais observadas em meados do século XX propiciaram circunstâncias que permitiram a expansão dessas infecções virais e seu estabelecimento nos seres humanos, atingindo proporções epidêmicas.

Desinfecção e inativação

O HIV é totalmente inativado ($\geq 10^5$ unidades de infecciosidade) mediante tratamento, durante 10 minutos na temperatura ambiente, com qualquer um dos seguintes agentes: desinfetante doméstico a 10%, etanol a 50%, isopropanol a 35%; Nonidet P40 a 1%, Lysol a 0,5%, paraformaldeído a 0,5% ou peróxido de hidrogênio a 0,3%. O vírus também é inativado por extremos de pH (1 e 13). Quando o HIV está presente em sangue coagulado ou não coagulado em uma agulha ou seringa, é necessária a exposição a desinfetante não diluído durante pelo menos 30 s para sua inativação.

O vírus não é inativado por Tween 20 a 2,5%. Apesar de o paraformaldeído inativar o vírus livre em solução, não se sabe

se ele penetra nos tecidos o suficiente para inativar todos os vírus que podem estar presentes em células cultivadas ou em amostras de tecido.

O HIV é rapidamente inativado em líquidos ou soro a 10% por aquecimento a 56°C durante 10 min; todavia, o material proteináceo desidratado proporciona notável proteção. Os hemoderivados liofilizados precisam ser aquecidos a 68°C durante 72 h para garantir a inativação dos vírus contaminantes.

Sistemas de lentivírus de animais

Foram adquiridos conhecimentos sobre as características biológicas das infecções por lentivírus a partir de infecções experimentais, inclusive carneiros pelo vírus visna (Quadro 44.2). Os padrões da doença natural variam entre as espécies, porém são reconhecidas certas características comuns.

1. Os vírus são transmitidos pela troca de líquidos orgânicos.
2. O vírus persiste indefinidamente no hospedeiro, embora possa estar presente em níveis muito baixos.
3. Os vírus apresentam elevada taxa de mutação, e ocorre seleção de diferentes mutantes em diferentes condições (fatores do hospedeiro, respostas imunológicas, tipos teciduais). Os hospedeiros infectados contêm grande quantidade de genomas virais estreitamente relacionados, conhecidos como quasiespécies.
4. A infecção viral evolui lentamente através de estágios específicos. As células na linhagem dos macrófagos desempenham papel central na infecção. Os lentivírus diferem dos outros retrovírus pela sua capacidade de infectar células totalmente diferenciadas que não sofrem mais divisão. Entretanto, essas células precisam ser ativadas para

que ocorra replicação viral, com a produção da progênie de vírus. O vírus está associado a célula nos monócitos e macrófagos, mas apenas cerca de uma célula por milhão é infectada. Os monócitos transportam o vírus pelo corpo em uma forma impossível de ser reconhecida pelo sistema imunológico, disseminando-o para outros tecidos. As cepas linfocitotrópicas do vírus tendem a causar infecções altamente produtivas, enquanto a replicação do vírus macrofagotrópico é restrita.

- Podem ser necessários vários anos para haver o desenvolvimento de doença. Em geral, os hospedeiros infectados produzem anticorpos que, todavia, não eliminam a infecção, de modo que o vírus persiste durante toda a vida do hospedeiro. Periodicamente, surgem novas variantes antigênicas nos hospedeiros infectados, ocorrendo a maioria das mutações nas glicoproteínas do envelope. Podem surgir sintomas clínicos a qualquer momento, desde 3 meses até muitos anos após a infecção. As exceções, ao longo do período de incubação para a doença causada por lentivírus, são a Aids em crianças, a anemia infecciosa em cavalos e a encefalite em cabras novas.

Os fatores do hospedeiro importantes na patogênese da doença são a idade (o indivíduo jovem corre maior risco), o estresse (que pode desencadear a doença), a genética (certas raças de animais são mais suscetíveis) e as infecções concomitantes (que podem exacerbar a doença ou facilitar a transmissão do vírus).

As doenças em ungulados (equinos, bovinos, ovinos e caprinos) não são complicadas por infecções oportunistas secundárias. O vírus da anemia infecciosa equina pode ser transmitido entre cavalos por moscas mutucas hematófagas, constituindo o único lentivírus conhecido transmitido por um inseto vetor.

Os lentivírus de símios compartilham características moleculares e biológicas com o HIV, provocando uma doença semelhante à Aids em macacos *rhesus*. O modelo do SIV é importante para a compreensão da patogênese da doença bem como para o desenvolvimento de vacinas e estratégias de tratamento.

Receptores do vírus

Todos os lentivírus de primatas utilizam como receptor a molécula CD4, expressa nos macrófagos e linfócitos T. Além da molécula CD4, é necessário um segundo correceptor para a penetração do HIV-1 nas células. O segundo receptor é necessário à fusão do vírus com a membrana celular. O vírus liga-se inicialmente à molécula CD4 e, em seguida, ao correceptor. Essas interações produzem alterações estruturais no envelope viral, ativando o peptídeo de fusão gp41 e deflagrando a fusão da membrana. Os receptores de quimiocina atuam como segundos receptores para o HIV-1. (As quimiocinas são fatores solúveis com propriedades quimioatraentes e das citocinas.) O CCR5, o receptor das quimiocinas RANTES, MIP-1 α e MIP-1 β , é o correceptor predominante das cepas macrofagotrópicas do HIV-1, enquanto o CXCR4, o receptor da quimiocina SDF-1, é o correceptor das cepas linfocitotrópicas do HIV-1. Os receptores de quimiocinas utilizados pelo HIV para penetração na célula são encontrados em linfócitos, macrófagos e timócitos, bem como em neurônios e células no colo e no colo do útero. Os

indivíduos que apresentam deleções homozigotas em CCR5 e produzem formas mutantes da proteína podem ser protegidos contra a infecção pelo HIV-1; as mutações no promotor do gene CCR5 parecem retardar a evolução da doença. A necessidade de um correceptor para a fusão do HIV com as células proporciona novos alvos para as estratégias terapêuticas antivirais, tendo sido o primeiro inibidor de entrada do HIV licenciado nos EUA, em 2003.

Outra molécula, a integrina α -4 β -7, parece funcionar como um receptor para o HIV nos intestinos. Uma lectina específica da célula dendrítica, DC-SIGN, parece ligar-se ao HIV-1, porém não medeia a entrada do vírus na célula. Na verdade, ela pode facilitar o transporte do HIV pelas células dendríticas até os órgãos linfoides, aumentando a infecção das células T.

INFECÇÕES PELO HIV EM SERES HUMANOS

Patogênese e patologia

A. Resumo da evolução da infecção pelo HIV

A evolução típica da infecção pelo HIV não tratada estende-se por cerca de uma década (Fig. 44.4). Os estágios consistem em infecção primária, disseminação do vírus para os órgãos linfoides, latência clínica, expressão elevada do HIV, doença clínica e morte. A duração entre a infecção primária e a evolução para doença clínica é, em média, de cerca de 10 anos. Nos casos não tratados, a morte em geral ocorre 2 anos após o aparecimento dos sintomas clínicos.

Após a infecção primária, observa-se um período de 4 a 11 dias entre a infecção das mucosas e a viremia inicial. A viremia pode ser detectada durante cerca de 8 a 12 semanas. O vírus encontra-se amplamente disseminado por todo o corpo nessa fase, e os órgãos linfoides são invadidos. Em muitos pacientes (50 a 75%), verifica-se o desenvolvimento de uma síndrome semelhante à mononucleose aguda 3 a 6 semanas após a infecção primária. Nesse estágio inicial, observa-se uma queda significativa no número de células T CD4 circulantes. Ocorre uma resposta imunológica ao HIV 1 semana a 3 meses após a infecção, a viremia plasmática cai, e verifica-se um rebote nos níveis de células CD4. Entretanto, a resposta imunológica é incapaz de eliminar a infecção por completo, e as células infectadas pelo vírus persistem nos linfonodos.

Tal período de latência clínica pode estender-se por até 10 anos. Durante esse período, verifica-se alto nível de replicação viral. Estima-se que 10 bilhões de partículas de HIV sejam produzidas e destruídas diariamente. A meia-vida do vírus no plasma é de cerca de 6 horas, e o ciclo de vida do vírus (desde o momento da infecção de uma célula até a produção de uma nova progênie de vírus que infectam outras células) é, em média, de 2,6 dias. Os linfócitos T CD4+, os principais alvos responsáveis pela produção do vírus, parecem ter alta taxa de renovação similar. Uma vez infectado produtivamente, o linfócito CD4+ apresenta meia-vida de cerca de 1,6 dia. Estudos sobre diversidade viral têm demonstrado que, na maioria dos casos de transmissão sexual, um único variante viral estabelece uma nova infecção. No início da infecção, as sequências virais são homogêneas. Porém, devido à rápida proliferação viral e a taxa de erro inerente da transcriptase reversa do HIV, estima-

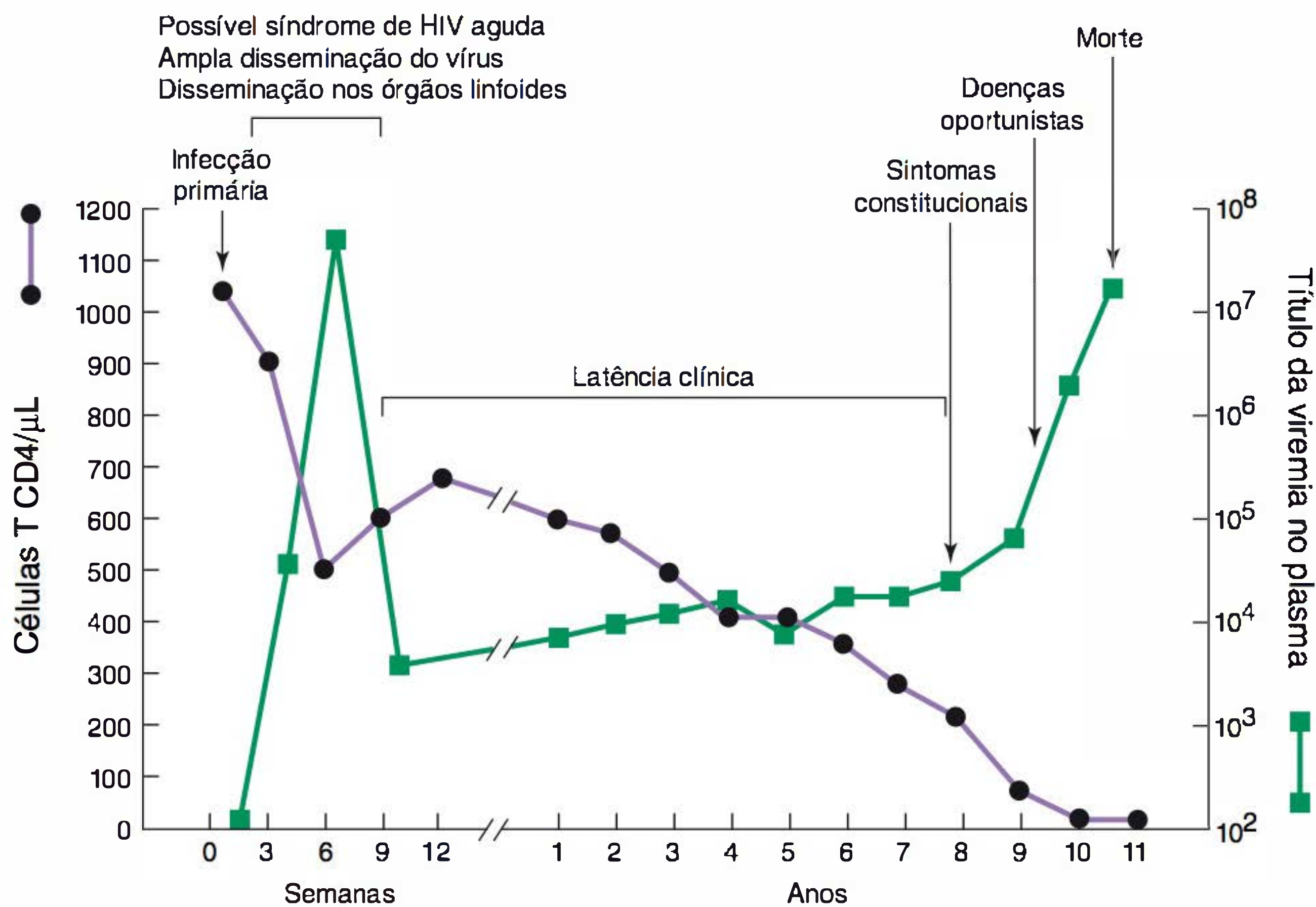


FIGURA 44.4 Evolução típica da infecção pelo HIV sem tratamento. Durante o período inicial após a infecção primária, ocorre ampla disseminação do vírus bem como acentuada redução do número de células T CD4 no sangue periférico. Surge uma resposta imunológica contra o HIV, com redução da viremia detectável, seguida de latência clínica prolongada. Os ensaios sensíveis para a determinação do RNA viral revelam a presença contínua do vírus no plasma. A contagem de células T CD4 continua a diminuir nos anos seguintes até atingir um nível crítico, abaixo do qual ocorre um risco significativo de doenças oportunistas. (Reproduzida, com autorização, de Fauci AS, Lane HC: Human immunodeficiency virus disease: Aids and related disorders. In Longo DL, Fauci AS, Kasper DL et al. (editors). *Harrison's Principles of Internal Medicine*, 18th ed. McGraw-Hill, 2012. © The McGraw-Hill Companies, Inc.)

se que todo o genoma do HIV provavelmente sofra mutações diárias.

Por fim, o paciente desenvolve sintomas constitucionais e doença clinicamente aparente, como infecções oportunistas ou neoplasias. Níveis mais elevados do vírus são facilmente detectados no plasma, durante os estágios avançados da infecção. Em geral, o HIV encontrado em pacientes com doença de estágio avançado é muito mais virulento e citopático do que as cepas do vírus detectadas no início da infecção. Com frequência, a progressão para Aids é acompanhada de um desvio das cepas de HIV-1 monocitotrópicas ou macrófagotrópicas (M trópicas) para variantes linfocitotrópicas (T-trópicas).

B. Linfócitos T CD4+, células de memória e latência

A característica essencial da infecção pelo HIV consiste na depleção dos linfócitos T auxiliares-indutores — resultado da replicação do HIV por essa população de linfócitos bem como da morte de células T não infectadas por mecanismos indiretos. As células T expressam o marcador fenotípico CD4 em sua superfície. A molécula CD4 é o principal receptor do HIV, tendo alta afinidade com o envelope do vírus. O correceptor do HIV nos linfócitos é o receptor de quimiocina CXCR4.

Na fase inicial da infecção, os HIV primários isolados são M trópicos. Entretanto, todas as cepas de HIV infectam os linfócitos T CD4 primários (mas não as linhagens de células T immortalizadas *in vitro*). Com a evolução da infecção, os vírus M trópicos dominantes são substituídos por vírus T trópicos. A adaptação laboratorial desses vírus primários isolados em

linhagens de células T immortalizadas resulta em perda da capacidade de infectar os monócitos e macrófagos.

As consequências da disfunção das células T CD4+, causada pela infecção pelo HIV, são devastadoras, uma vez que o linfócito T CD4+ desempenha papel fundamental na resposta imunológica humana. Esta célula é responsável, direta ou indiretamente, pela indução de ampla variedade de funções celulares linfoides e não linfoides. Tais efeitos consistem em ativação dos macrófagos, indução de funções das células T citotóxicas, células destruidoras naturais e células B, bem como secreção de uma variedade de fatores solúveis que induzem o crescimento e a diferenciação das células linfoides, e que afetam as células hematopoiéticas.

Em determinado momento, somente uma pequena fração de células CD4 se mostra produtivamente infectada. Muitas células T infectadas são mortas, mas uma fração sobrevive e reverte para um estado de memória quiescente. Ocorre pouca ou nenhuma expressão dos genes virais nas células de memória, onde servem como reservatório latente, estável e de longa duração para o vírus. Menos de uma célula por milhão de células CD4 quiescentes abrigam o provírus HIV-1 latente em pacientes sob terapia antirretroviral. Mesmo após 10 anos de tratamento, os pacientes mostram poucas mudanças no tamanho do reservatório, pois o reservatório latente das células de memória infectadas diminui muito lentamente. Quando expostas ao antígeno ou quando a terapia com fármacos é interrompida, as células de memória tornam-se ativadas e liberam o vírus infeccioso. É possível que outros reservatórios insensíveis aos fármacos também possam existir entre macrófagos, células

hematopoiéticas germinativas ou neurônios. É improvável que uma infecção pelo HIV possa ser eliminada. Se existissem um milhão de células de memória infectadas no corpo, seriam necessários cerca de 70 anos para a sua redução. Houve, recentemente, relatos de curas aparentes. Por exemplo, um homem infectado pelo vírus HIV, na Alemanha, desenvolveu leucemia mieloide aguda e foi submetido a transplante de medula, em 2007. Após procedimento de aplasia medular por radioterapia, ele foi submetido a um transplante com células provenientes de um doador homocigoto para a mutação no receptor CCR5, que protegeu suas células da infecção pelo vírus HIV. O tratamento com antirretrovirais foi interrompido e a carga viral tem sido indetectável nos últimos 5 anos. Esse fenômeno tem sido, desde então, profundamente analisado, na tentativa de desenvolver alternativas para eliminar reservatórios de infecções latentes em indivíduos infectados pelo vírus HIV.

C. Monócitos e macrófagos

Os monócitos e os macrófagos desempenham importante papel na disseminação e na patogênese da infecção pelo HIV. Determinados subgrupos de monócitos expressam o antígeno de superfície CD4 e, por conseguinte, ligam-se ao envelope do HIV. O correceptor do HIV nos monócitos e macrófagos é o receptor de quimiocina CCR5. No cérebro, os principais tipos celulares infectados pelo HIV parecem ser os monócitos e macrófagos, o que pode ter importantes consequências para o desenvolvimento das manifestações neuropsiquiátricas associadas à infecção pelo HIV.

As cepas de HIV macrofagotrópicas predominam logo após a infecção, sendo responsáveis por infecções iniciais mesmo quando a fonte de transmissão contém vírus tanto M trópicos quanto T trópicos.

Acredita-se que os monócitos e macrófagos atuem como importantes reservatórios do HIV no organismo. Diferente do linfócito T CD4+, o monócito é relativamente refratário aos efeitos citopáticos do HIV, de modo que o vírus pode não apenas sobreviver nessa célula como também ser transportado para vários órgãos do organismo (como os pulmões e o cérebro). Os macrófagos infectados podem continuar a produzir vírus por um longo tempo.

D. Órgãos linfoides

Os órgãos linfoides desempenham papel central na infecção pelo HIV. Os linfócitos no sangue periférico representam apenas cerca de 2% do reservatório total de linfócitos, estando o restante localizado principalmente nos órgãos linfoides. É nos órgãos linfoides que são produzidas as respostas imunológicas específicas. A rede de células dendríticas foliculares nos centros germinativos dos linfonodos captura antígenos e estimula a resposta imunológica. Durante toda a evolução da infecção sem tratamento — mesmo no estágio de latência clínica —, ocorre a replicação ativa do HIV nos tecidos linfoides. O microambiente do linfonodo é ideal para o estabelecimento e a disseminação da infecção pelo HIV. Ocorre a liberação de citocinas com a ativação de um grande reservatório de células T CD4+ altamente suscetíveis à infecção pelo HIV. Com a evolução dos estágios avançados da doença pelo HIV, verifica-se desorganização da arquitetura dos linfonodos.

E. Coinfecções virais

São necessários sinais de ativação para o estabelecimento de infecção produtiva pelo HIV. No indivíduo infectado pelo HIV, uma ampla variedade de estímulos antigênicos *in vivo* parece atuar como ativadores celulares. Por exemplo, a infecção ativa por *Mycobacterium tuberculosis* aumenta significativamente a viremia plasmática. Os efeitos danosos do HIV ao sistema imunológico deixam os pacientes vulneráveis a muitos tipos de infecção. A Organização Mundial de Saúde relata que a infecção pelo HIV aumenta o risco de se contrair tuberculose em mais de 20 vezes. Dos 9 milhões de novos casos de tuberculose ocorridos no mundo em 2007, estima-se que 15% ocorreram em pessoas infectadas com HIV.

Outras infecções virais concomitantes — pelo Epstein-Barr vírus, citomegalovírus, herpes-vírus simples ou vírus da hepatite B — podem atuar como cofatores da Aids. A coinfeção com o vírus da hepatite C, que ocorre em cerca de 15 a 30% dos casos de HIV nos EUA, resultando com frequência em doença hepática, é uma das principais causas de morbidade e mortalidade em pessoas infectadas pelo HIV. Verifica-se, também, alta prevalência de infecção por citomegalovírus em indivíduos HIV-positivos.

Pode ocorrer coinfeção com duas linhagens diferentes de HIV. Existem casos documentados de superinfecção com uma segunda linhagem em um indivíduo infectado pelo HIV, mesmo na presença de uma forte resposta por células CD8 contra a primeira linhagem. A superinfecção pelo HIV é considerada um evento raro.

Manifestações clínicas

Os sintomas da infecção aguda pelo HIV são inespecíficos, consistindo em fadiga, erupção cutânea, cefaleia, náuseas e pesadelos. A Aids caracteriza-se por supressão pronunciada do sistema imunológico e pelo desenvolvimento de ampla variedade de infecções oportunistas graves ou neoplasias incomuns (particularmente o sarcoma de Kaposi). Em adultos, os sintomas mais graves são com frequência precedidos de um pródromo (“diarreia e emagrecimento”), que pode incluir fadiga, mal-estar, perda de peso, febre, dificuldade respiratória, diarreia crônica, placas brancas na língua (leucoplaquia pilosa, candidíase oral) e linfadenopatia. Os sintomas da doença no trato gastrointestinal, desde o esôfago até o colo, constituem uma importante causa de debilidade. Na ausência de tratamento, o intervalo entre a infecção primária pelo HIV e o aparecimento da doença clínica em geral é longo em adultos, sendo em média de cerca de 8 a 10 anos. Ocorre morte aproximadamente 2 anos mais tarde.

A. Carga viral no plasma

A quantidade de HIV no sangue (carga viral) tem valor significativo em termos de prognóstico. São observados ciclos contínuos de replicação viral e destruição celular em cada paciente, e o nível do vírus no sangue em estado de equilíbrio dinâmico (ponto de corte viral) varia de um indivíduo para outro durante o período assintomático, refletindo o número total de células ativamente infectadas e seu tamanho médio. Com efeito, uma única determinação da carga viral plasmática, após cerca de 6 meses da infecção, é capaz de prever o risco subsequente de

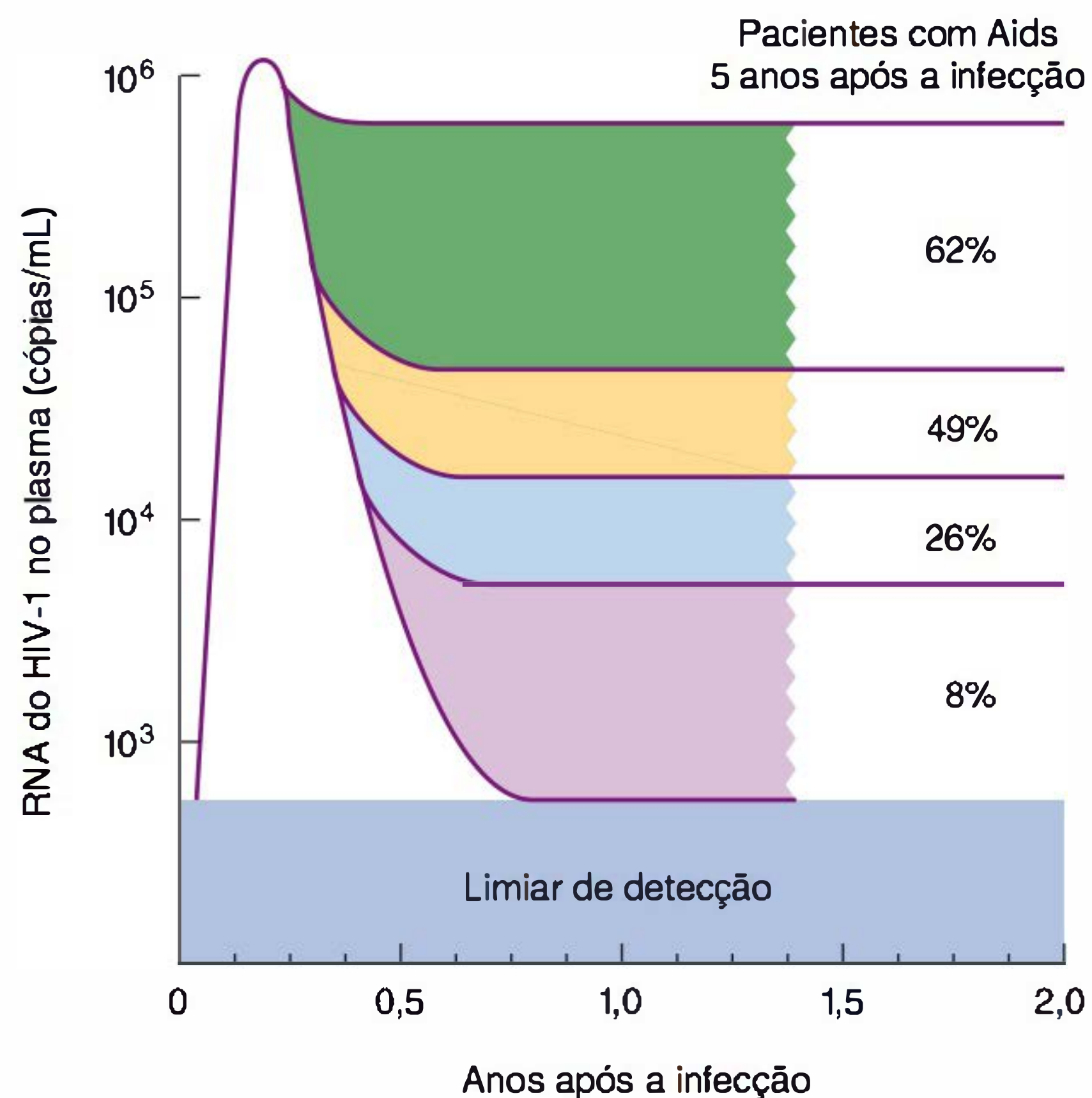


FIGURA 44.5 Valor prognóstico dos níveis de RNA do HIV-1 no plasma (carga viral). O ponto de ajuste virológico indica a evolução clínica em longo prazo. (Reproduzida, com autorização, de Ho DD: Viral counts count in HIV infection. *Science*, 1996;272:1124. Reimpresso, com permissão, da AAAS.)

desenvolvimento da Aids, em homens, depois de alguns anos de ausência de tratamento (Fig. 44.5). Altos pontos de corte tendem a correlacionar-se com progressão rápida da doença e fraca resposta ao tratamento. Entretanto, dados recentes sugerem uma diferença nesse parâmetro em ambos os sexos — em mulheres, a carga viral pode ser menos preditiva da progressão para Aids. Os níveis plasmáticos de RNA do HIV podem ser determinados através de uma variedade de ensaios comercialmente disponíveis. A carga viral plasmática parece constituir o melhor indicador da evolução clínica em longo prazo, enquanto as contagens de linfócitos CD4+ representam o melhor indicador de risco em curto prazo de desenvolver infecção oportunista. As determinações da carga viral no plasma constituem um elemento fundamental na avaliação da eficácia da terapia com agentes antirretrovirais.

B. Aids pediátrica

As respostas dos recém-nascidos infectados são diferentes daquelas observadas em adultos infectados pelo HIV. A Aids pediátrica — adquirida de mães infectadas — em geral manifesta-se em forma de sintomas clínicos em torno dos 2 anos de idade, ocorrendo morte em 2 anos. O recém-nascido mostra-se particularmente suscetível aos efeitos devastadores do HIV, visto que o sistema imunológico ainda não está desenvolvido por ocasião da infecção primária. As manifestações clínicas podem consistir em pneumonite intersticial linfóide, pneumonia, candidíase oral grave, encefalopatia, debilitação, linfadenopatia generalizada, sepse bacteriana, hepatoesplenomegalia, diarreia e atraso do crescimento.

As crianças com infecção perinatal adquirida pelo HIV-1 — se não forem tratadas — apresentam prognóstico muito

sombrio. Observa-se elevada taxa de evolução da doença nos primeiros anos de vida. A presença de altos níveis de carga plasmática do HIV-1 parece indicar alto risco de rápida evolução da doença em lactentes. O padrão de replicação viral nos lactentes difere do que se observa nos adultos. Em geral, os níveis de RNA viral mostram-se baixos ao nascimento, sugerindo uma infecção adquirida perto da época do parto. Em seguida, os níveis de RNA aumentam rapidamente nos primeiros 2 meses de vida, seguidos de lento declínio até 24 meses de idade, sugerindo que o sistema imunológico imaturo tem dificuldade de conter a infecção. Uma pequena porcentagem de lactentes ($\leq 5\%$) exibe infecções transitórias pelo HIV, sugerindo que alguns lactentes são capazes de eliminar o vírus.

C. Doença neurológica

A ocorrência de disfunção neurológica é frequentemente observada em indivíduos infectados pelo HIV. Em 40 a 90% dos pacientes, surgem sintomas neurológicos, e muitos apresentam anormalidades neuropatológicas à necropsia.

Com frequência, ocorrem várias síndromes neurológicas distintas, como encefalite subaguda, mielopatia vacuolar, meningite asséptica e neuropatia periférica. O complexo de demência da Aids, que constitui a síndrome neurológica mais comum, ocorre como manifestação tardia em 25 a 65% dos pacientes com Aids e caracteriza-se por memória deficiente, incapacidade de concentração, apatia, atraso psicomotor e alterações de comportamento. Outras doenças neurológicas associadas à infecção pelo HIV são toxoplasmose, criptococose, linfoma primário do sistema nervoso central e leucoencefalopatia multifocal progressiva induzida pelo vírus JC. O tempo de sobrevivência médio, a partir do início da demência grave, geralmente é inferior a 6 meses.

Os pacientes pediátricos com Aids também apresentam anormalidades neurológicas, que consistem em distúrbios convulsivos, perda progressiva dos marcos de desenvolvimento comportamental, encefalopatia, transtorno de déficit de atenção e atraso do desenvolvimento. Pode ocorrer encefalopatia pelo HIV em até 12% das crianças, geralmente acompanhada de imunodeficiência profunda. Os patógenos bacterianos predominam na Aids pediátrica como causa comum de meningite.

Como muitas crianças que nascem soropositivas para o HIV vivem a adolescência e a vida adulta sob terapia antirretroviral, muitas apresentam alto risco de desenvolver transtornos psiquiátricos. Os problemas mais comuns são transtornos como a ansiedade.

D. Infecções oportunistas

As causas predominantes de morbidade e mortalidade entre pacientes com infecção pelo HIV no estágio avançado consistem em infecções oportunistas, isto é, infecções graves induzidas por patógenos que raramente provocam doença grave em indivíduos imunocompetentes. De modo geral, as infecções oportunistas não ocorrem em pacientes infectados pelo HIV até que a contagem de células T CD4 tenha caído do nível normal, de cerca de 1.000 células/ μL , para menos de 200 células/ μL . Com o desenvolvimento de tratamentos para alguns patógenos oportunistas comuns e o tratamento dos pacientes com Aids permitindo uma sobrevivência mais prolongada, serão observadas mudanças no espectro das infecções oportunistas.

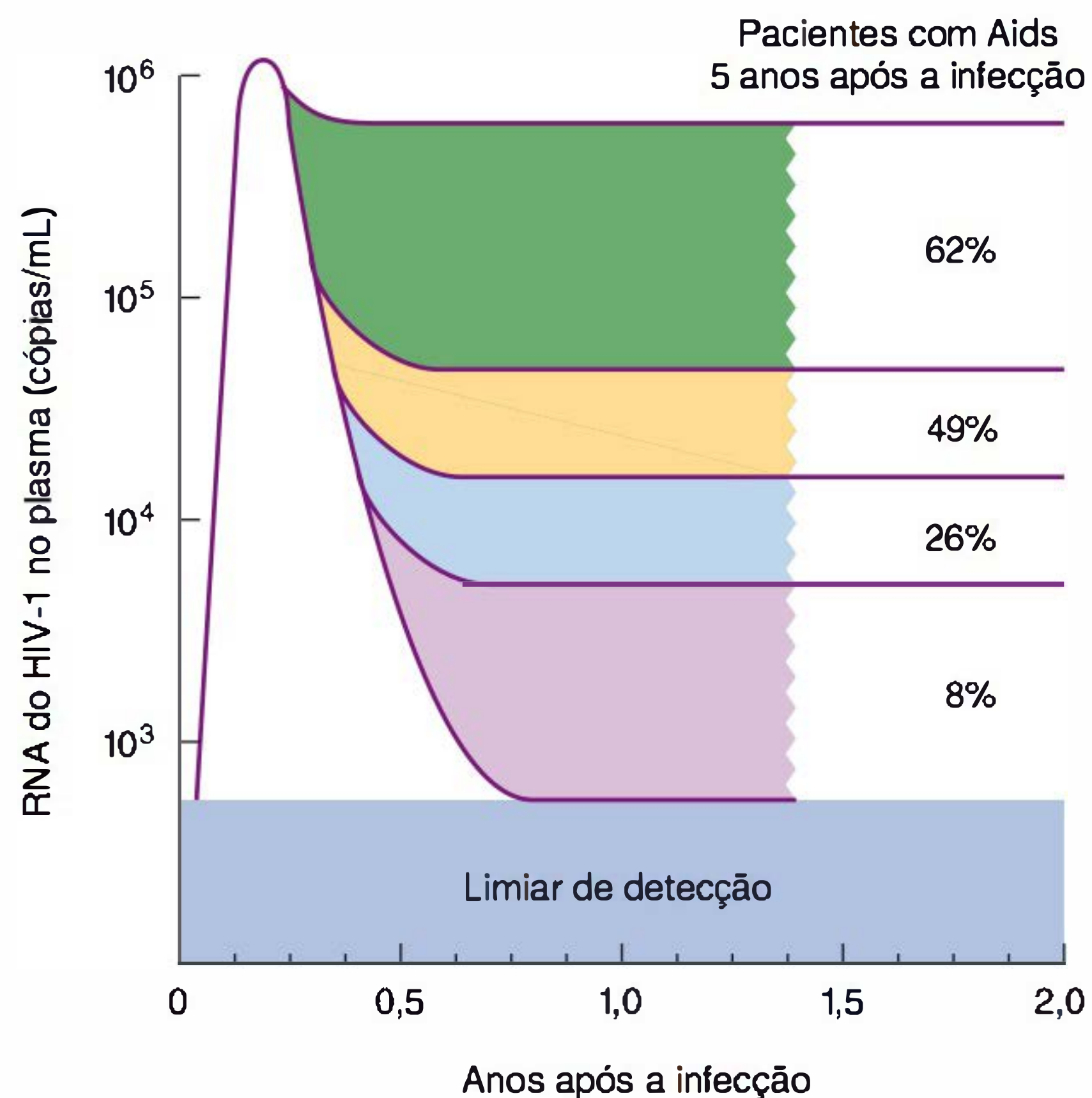


FIGURA 44.5 Valor prognóstico dos níveis de RNA do HIV-1 no plasma (carga viral). O ponto de ajuste virológico indica a evolução clínica em longo prazo. (Reproduzida, com autorização, de Ho DD: Viral counts count in HIV infection. *Science*, 1996;272:1124. Reimpresso, com permissão, da AAAS.)

desenvolvimento da Aids, em homens, depois de alguns anos de ausência de tratamento (Fig. 44.5). Altos pontos de corte tendem a correlacionar-se com progressão rápida da doença e fraca resposta ao tratamento. Entretanto, dados recentes sugerem uma diferença nesse parâmetro em ambos os sexos — em mulheres, a carga viral pode ser menos preditiva da progressão para Aids. Os níveis plasmáticos de RNA do HIV podem ser determinados através de uma variedade de ensaios comercialmente disponíveis. A carga viral plasmática parece constituir o melhor indicador da evolução clínica em longo prazo, enquanto as contagens de linfócitos CD4+ representam o melhor indicador de risco em curto prazo de desenvolver infecção oportunista. As determinações da carga viral no plasma constituem um elemento fundamental na avaliação da eficácia da terapia com agentes antirretrovirais.

B. Aids pediátrica

As respostas dos recém-nascidos infectados são diferentes daquelas observadas em adultos infectados pelo HIV. A Aids pediátrica — adquirida de mães infectadas — em geral manifesta-se em forma de sintomas clínicos em torno dos 2 anos de idade, ocorrendo morte em 2 anos. O recém-nascido mostra-se particularmente suscetível aos efeitos devastadores do HIV, visto que o sistema imunológico ainda não está desenvolvido por ocasião da infecção primária. As manifestações clínicas podem consistir em pneumonite intersticial linfóide, pneumonia, candidíase oral grave, encefalopatia, debilitação, linfadenopatia generalizada, sepse bacteriana, hepatoesplenomegalia, diarreia e atraso do crescimento.

As crianças com infecção perinatal adquirida pelo HIV-1 — se não forem tratadas — apresentam prognóstico muito

sombrio. Observa-se elevada taxa de evolução da doença nos primeiros anos de vida. A presença de altos níveis de carga plasmática do HIV-1 parece indicar alto risco de rápida evolução da doença em lactentes. O padrão de replicação viral nos lactentes difere do que se observa nos adultos. Em geral, os níveis de RNA viral mostram-se baixos ao nascimento, sugerindo uma infecção adquirida perto da época do parto. Em seguida, os níveis de RNA aumentam rapidamente nos primeiros 2 meses de vida, seguidos de lento declínio até 24 meses de idade, sugerindo que o sistema imunológico imaturo tem dificuldade de conter a infecção. Uma pequena porcentagem de lactentes ($\leq 5\%$) exibe infecções transitórias pelo HIV, sugerindo que alguns lactentes são capazes de eliminar o vírus.

C. Doença neurológica

A ocorrência de disfunção neurológica é frequentemente observada em indivíduos infectados pelo HIV. Em 40 a 90% dos pacientes, surgem sintomas neurológicos, e muitos apresentam anormalidades neuropatológicas à necropsia.

Com frequência, ocorrem várias síndromes neurológicas distintas, como encefalite subaguda, mielopatia vacuolar, meningite asséptica e neuropatia periférica. O complexo de demência da Aids, que constitui a síndrome neurológica mais comum, ocorre como manifestação tardia em 25 a 65% dos pacientes com Aids e caracteriza-se por memória deficiente, incapacidade de concentração, apatia, atraso psicomotor e alterações de comportamento. Outras doenças neurológicas associadas à infecção pelo HIV são toxoplasmose, criptococose, linfoma primário do sistema nervoso central e leucoencefalopatia multifocal progressiva induzida pelo vírus JC. O tempo de sobrevivência médio, a partir do início da demência grave, geralmente é inferior a 6 meses.

Os pacientes pediátricos com Aids também apresentam anormalidades neurológicas, que consistem em distúrbios convulsivos, perda progressiva dos marcos de desenvolvimento comportamental, encefalopatia, transtorno de déficit de atenção e atraso do desenvolvimento. Pode ocorrer encefalopatia pelo HIV em até 12% das crianças, geralmente acompanhada de imunodeficiência profunda. Os patógenos bacterianos predominam na Aids pediátrica como causa comum de meningite.

Como muitas crianças que nascem soropositivas para o HIV vivem a adolescência e a vida adulta sob terapia antirretroviral, muitas apresentam alto risco de desenvolver transtornos psiquiátricos. Os problemas mais comuns são transtornos como a ansiedade.

D. Infecções oportunistas

As causas predominantes de morbidade e mortalidade entre pacientes com infecção pelo HIV no estágio avançado consistem em infecções oportunistas, isto é, infecções graves induzidas por patógenos que raramente provocam doença grave em indivíduos imunocompetentes. De modo geral, as infecções oportunistas não ocorrem em pacientes infectados pelo HIV até que a contagem de células T CD4 tenha caído do nível normal, de cerca de 1.000 células/ μL , para menos de 200 células/ μL . Com o desenvolvimento de tratamentos para alguns patógenos oportunistas comuns e o tratamento dos pacientes com Aids permitindo uma sobrevivência mais prolongada, serão observadas mudanças no espectro das infecções oportunistas.

Diagnóstico laboratorial

As evidências de infecção pelo HIV podem ser detectadas de três maneiras: (1) pelo isolamento do vírus, (2) pela determinação sorológica dos anticorpos antivirais e (3) pela determinação do ácido nucleico ou dos antígenos virais.

A. Isolamento do vírus

O HIV pode ser cultivado a partir de linfócitos do sangue periférico (e, em certas ocasiões, de amostras obtidas de outros locais). O número de células infectadas circulantes varia de acordo com o estágio da doença (Fig. 44.4). São observados títulos mais elevados do vírus no plasma e em células do sangue periférico de pacientes com Aids, em comparação com indivíduos assintomáticos. A magnitude da viremia plasmática parece constituir melhor correlato do estágio clínico da infecção pelo HIV do que a presença de qualquer anticorpo (Fig. 44.6). A técnica mais sensível de isolamento do vírus consiste em cocultura da amostra com células mononucleares do sangue periférico não infectadas e estimuladas por mitógenos. Os HIV primários isolados crescem muito lentamente em comparação com cepas adaptadas em laboratório. O crescimento do vírus é detectado ao se testar o líquido sobrenadante da cultura depois de cerca de 7 a 14 dias para a presença de atividade da transcriptase reversa viral ou antígenos específicos do vírus (p24).

Na maioria dos indivíduos positivos para os anticorpos anti-HIV-1, é possível cultivar o vírus a partir de células sanguíneas. Todavia, as técnicas de isolamento do vírus são demoradas e trabalhosas, estando limitadas aos estudos de pesquisa. As técnicas de amplificação com a PCR são comumente utilizadas para a detecção do vírus em amostras clínicas.

B. Sorologia

Existem kits de testes comercialmente disponíveis para determinação dos anticorpos por ensaio imunoabsorvente ligado

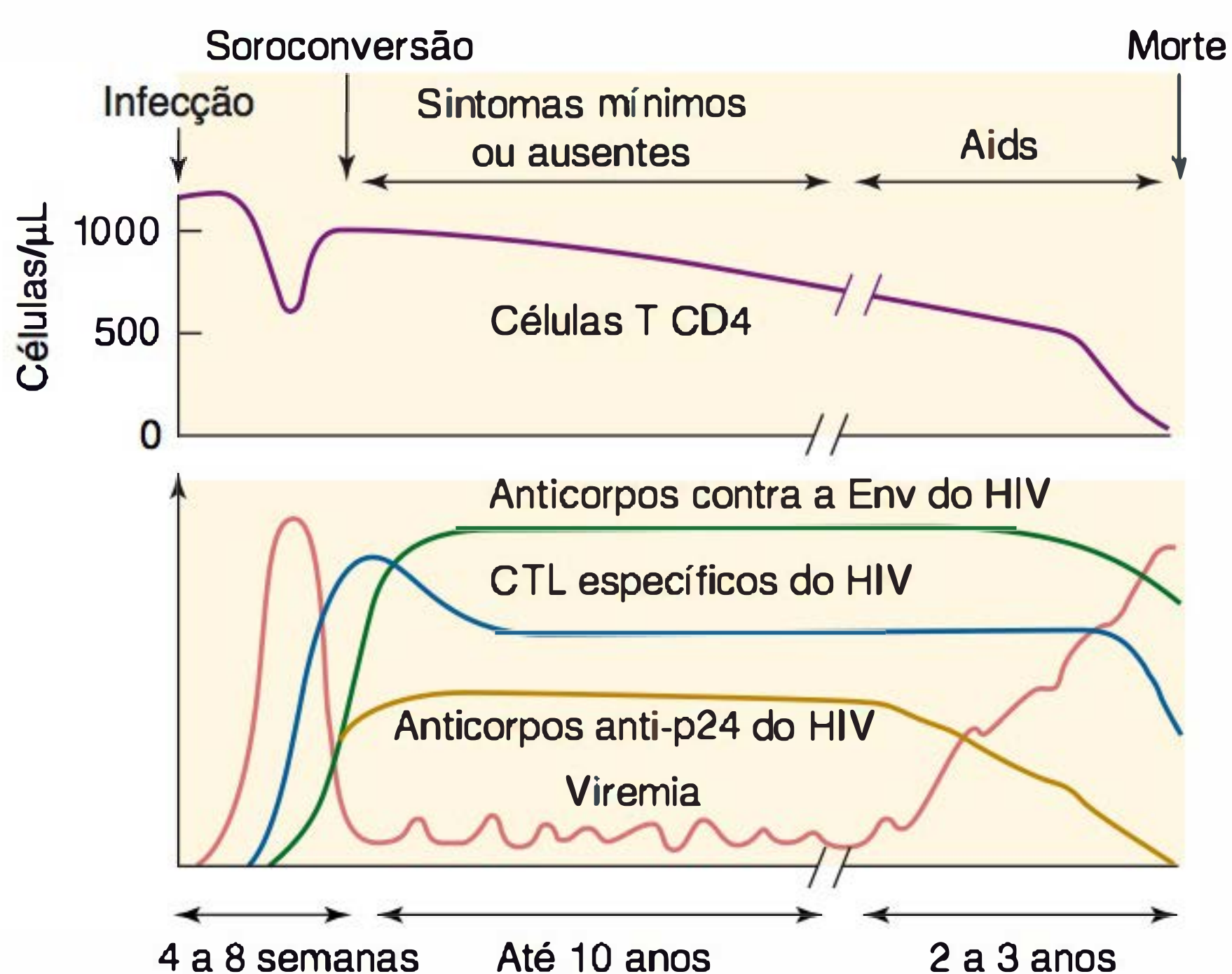


FIGURA 44.6 Padrão de respostas humorais do HIV relacionadas com a evolução da infecção pelo HIV. (PBL, linfócitos do sangue periférico; CTL, linfócitos T citotóxicos.) (Reproduzida, com autorização, de Weiss RA: How does HIV cause Aids? *Science* 1993;260:1273. Reimpresso, com permissão, da AAAS.)

a enzima (Elisa)*. Quando adequadamente executados, esses testes apresentam sensibilidade e especificidade que ultrapassam 98%. Quando se utilizam testes de anticorpos baseados no método Elisa para o rastreamento de populações com baixa prevalência de infecção pelo HIV (p. ex., doadores de sangue), a obtenção de um resultado positivo em uma amostra de soro deve ser confirmada por repetição do teste. Se o teste de Elisa novamente executado for reativo, deverá ser efetuado um teste para confirmação ou ser descartados resultados falsos-positivos. O ensaio para confirmação mais amplamente utilizado é a técnica *Western blot*, que permite a detecção de anticorpos contra proteínas do HIV de pesos moleculares específicos. É mais comum a detecção de anticorpos contra a proteína do cerne viral p24 ou as glicoproteínas do envelope gp41, gp120 ou gp160.

O padrão de resposta contra os antígenos virais específicos varia de acordo com o tempo e a evolução da Aids nos pacientes. Os anticorpos para as glicoproteínas do envelope (gp41, gp120, gp160) são mantidos, mas os anticorpos dirigidos contra as proteínas Gag (p17, p24, p55) declinam. O declínio dos anticorpos anti-p24 pode marcar o início dos sinais clínicos e outros marcadores imunológicos de progressão (Fig. 44.6).

Testes simples e rápidos para detecção de anticorpos anti-HIV estão disponíveis para uso em laboratórios equipados para realização de testes de Elisa e serviços em que se necessita dos resultados em menor prazo. Os testes podem ser realizados no sangue ou em fluidos orais, e são baseados em princípios tais como aglutinação de partículas ou reações de *immunodot*. Existem testes rápidos que podem detectar anticorpos anti-HIV em amostras de sangue total que não requerem processamento. Esses testes podem ser realizados fora dos laboratórios tradicionais.

Existem também testes disponíveis para a realização em casa. O procedimento consiste em pingar algumas gotas de sangue em um cartão especial, enviado por correio para um laboratório especializado para processar a amostra.

O tempo médio de soroconversão após a infecção é de 3 a 4 semanas. A maioria dos indivíduos terá anticorpos detectáveis 6 a 12 semanas após a infecção, enquanto praticamente todos serão positivos em 6 meses. É muito raro haver infecção pelo HIV de mais de 6 meses de duração na ausência de resposta humoral detectável.

C. Detecção do ácido nucleico ou dos antígenos virais

Para a detecção do RNA viral em amostras clínicas, utilizam-se comumente ensaios de amplificação, como a RT-PCR, DNA-PCR e o teste do bDNA. O ensaio RT-PCR utiliza um método enzimático para amplificar o RNA do HIV, enquanto o ensaio do bDNA amplifica o RNA viral através de etapas em

* N. de R.T. Os ensaios de Elisa de terceira geração, amplamente utilizados, hoje, como testes de rastreamento, utilizam antígenos recombinantes correspondentes ao gene *env* (gp41, gp120 e gp160) do HIV 1 (grupo O e grupo M) e do HIV 2 e ao gene *gag* (p24 do HIV 1), além de dois peptídeos sintéticos correspondentes ao envelope de ambos os tipos virais. Essa composição aumenta ainda mais a sensibilidade e a especificidade do teste, detectando níveis muito baixos de anticorpos do isótipo IgM e IgG, além de peptídeos sintéticos de ambos os envelopes virais. Finalmente, os testes de quarta geração detectam simultaneamente anticorpos anti-HIV, como nos testes de terceira geração, e o antígeno p24 que é utilizado como marcador presente em indivíduos com infecção recente, antes da soroconversão. Dessa maneira, reduzem a janela imunológica entre 4 a 9 dias, quando comparados com os testes de terceira geração.

sequência de hibridização dos oligonucleotídeos. Esses testes de base molecular são muito sensíveis, formando o pilar para as determinações da carga viral no plasma. A heterogeneidade das sequências do HIV pode limitar a sensibilidade desses ensaios para a detecção de infecções pelo HIV. Os níveis de RNA do HIV constituem importantes marcadores de previsão da evolução da doença e fornecem uma valiosa ferramenta para monitoramento da eficácia das terapias antivirais. Sangue seco pode ser uma alternativa ao uso de plasma, para o monitoramento viral em locais de poucos recursos.

Pode-se estabelecer o diagnóstico precoce de infecção pelo HIV em lactentes nascidos de mães infectadas, utilizando-se o teste dos níveis plasmáticos de RNA do HIV-1. A presença de anticorpos maternos invalida os testes sorológicos para o fornecimento de dados.

Podem ser detectados baixos níveis de antígeno p24 do HIV-1 no plasma pouco depois da infecção através do ensaio Elisa. Com frequência, o antígeno torna-se indetectável após a produção de anticorpos (devido à formação de complexo entre a proteína p24 e os anticorpos contra a p24), mas pode reaparecer em uma fase avançada da evolução da infecção, indicando um prognóstico sombrio.

Epidemiologia

A. Propagação mundial da Aids

A Aids foi reconhecida pela primeira vez nos EUA, em 1981, como nova entidade patológica em homens homossexuais. Vinte anos depois, transformou-se em epidemia mundial, que continua se expandindo. O Joint United Nations Program on HIV/Aids calculou que, no final de 2009, 33,3 milhões de pessoas no mundo eram portadoras do HIV/Aids, tendo a maioria sido infectada em decorrência de contato heterossexual (Fig. 44.7). Foi estimado que, em 1 ano, 1,8 milhões de pessoas morreram de Aids, ocorrendo 2,6 milhões de novas infecções pelo HIV, inclusive mais de 370,000 crianças, muitas das quais

eram lactentes infectados no período perinatal. Em 2005, a Organização Mundial de Saúde estimou que mais de 30 milhões de pessoas em todo o mundo morreram de Aids e mais de 16,6 milhões de crianças ficaram órfãs, 14 milhões destas vivendo na África Subsaariana.

A epidemia varia de acordo com a localização geográfica. Com base nos dados de 2007, a África Subsaariana deteve o maior número de infecções pelo HIV (Fig. 44.7). Em certas cidades do continente em que se verifica alta prevalência do HIV, 1 em cada 3 adultos está infectado pelo vírus. A epidemia parece ter se estabilizado, embora frequentemente em altos níveis. As terapias antirretrovirais estão sendo introduzidas em alguns desses países. As infecções propagaram-se também no Sul e no Sudeste Asiáticos (principalmente na Índia, China e Rússia). Como a Aids tende a atacar adultos e pessoas profissionalmente ativas na plenitude da vida, a epidemia da Aids está tendo efeitos devastadores sobre as estruturas social e econômica de alguns países.

Os vírus do grupo M são responsáveis pela maior parte das infecções pelo HIV-1 no mundo inteiro, mas a distribuição de subtipos varia. O subtipo C predomina no sul da África, o subtipo A na África Ocidental, e o subtipo B nos EUA, na Europa e na Austrália. O HIV-2 permanece localizado principalmente na África Ocidental.

A Organização Mundial de Saúde estimou que, dos quase 2,7 milhões de novas infecções pelo HIV anualmente, 90% estão sendo registrados nos países em desenvolvimento, em que a Aids é, em sua maior parte, uma doença de transmissão heterossexual, observando-se um número quase igual de casos em ambos os sexos.

Foi formulada a hipótese de que a rápida disseminação do HIV no mundo, na segunda parte do século XX, foi favorecida pela migração maciça de habitantes das áreas rurais para os centros urbanos, associada ao movimento internacional de indivíduos infectados em consequência de guerras civis, turismo e viagens de negócio.

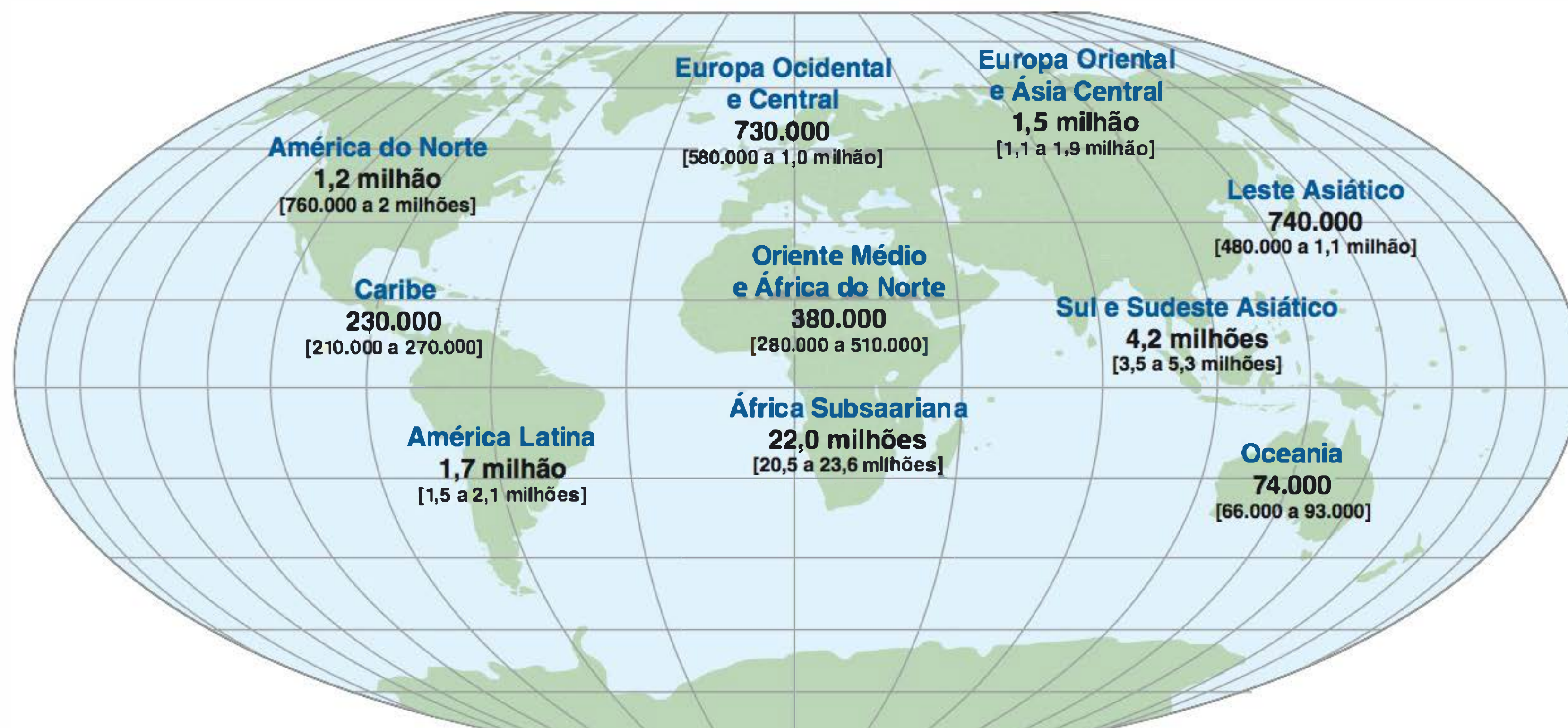


FIGURA 44.7 Estimativa dos adultos e crianças que viviam com HIV/Aids por continente ou região em dezembro de 2007. Estima-se que cerca de 2,0 milhões de pessoas morreram de Aids em 2007. (Dados obtidos do Joint United Nations Program on HIV/Aids).

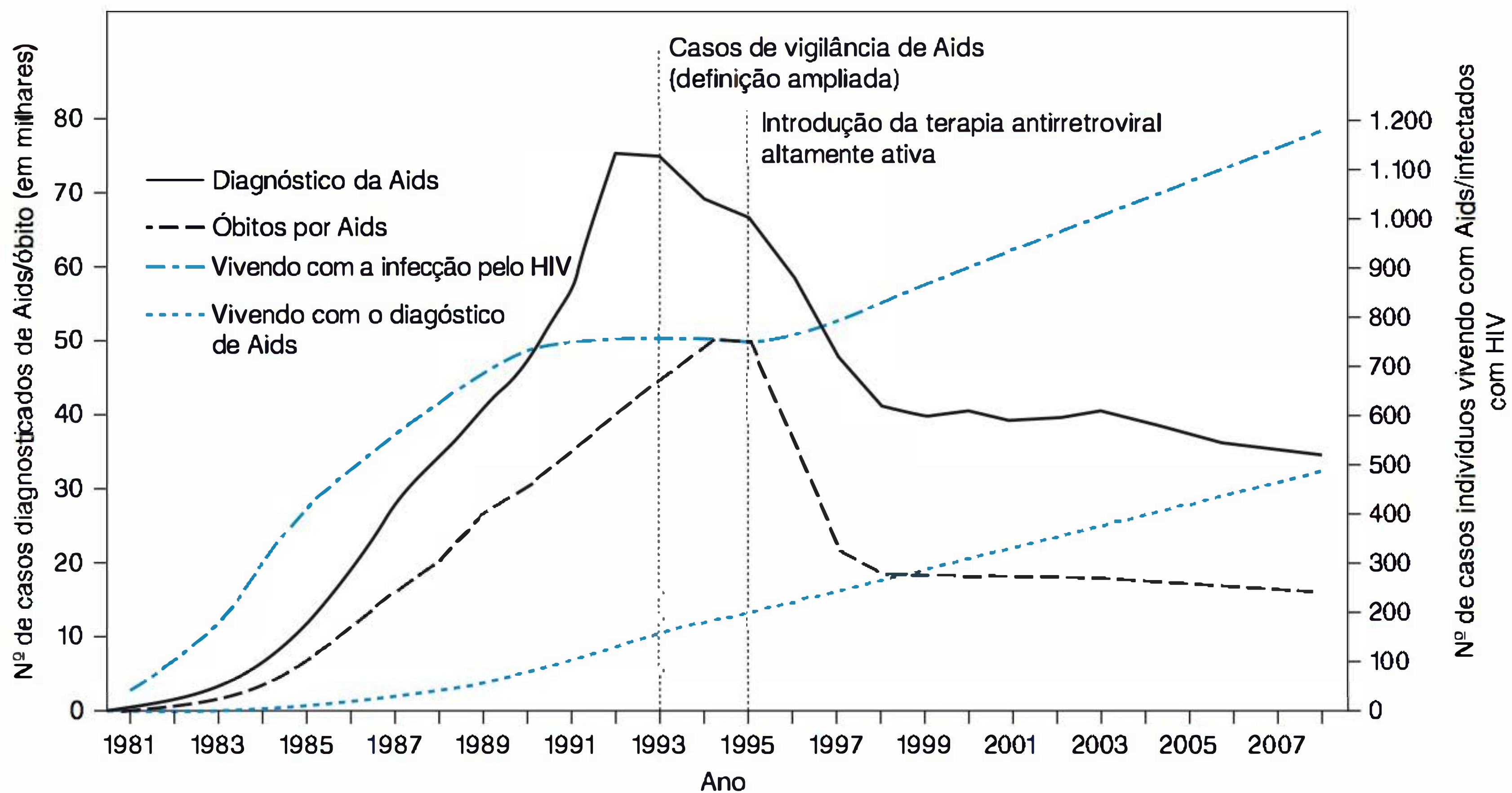


FIGURA 44.8 Número estimado de indivíduos vivendo com HIV/Aids e de óbitos causados por Aids nos Estados Unidos no período de 1981 a 2008 (Fonte: HIV surveillance - United States, 1981-2008. *MMWR Morb Wkly Rep* 2011;60:689).

B. Estados Unidos

A situação da epidemia da Aids nos EUA modificou-se desde 1981. A princípio, a maioria dos casos era observada em homens homossexuais. Em seguida, a doença foi identificada em usuários de drogas intravenosas. Em 2005, as minorias raciais e étnicas foram desproporcionalmente afetadas, respondendo por cerca de 66% dos casos relatados de HIV/Aids. A transmissão heterossexual tornou-se gradativamente mais comum, e cerca de 25% dos novos diagnósticos foram em mulheres. A maioria dos casos de aquisição heterossexual de Aids foi atribuída a contato sexual com usuários de drogas injetáveis ou com um parceiro infectado pelo HIV. Apesar das recomendações dadas pelo Centers for Disease Control and Prevention (CDC) em 2006, para os testes de rastreamento do HIV, serem parte da rotina de atendimento médico para pessoas com idade entre 13 e 64 anos, estima-se que em 2011 20% dos indivíduos que viviam com o HIV não tinham conhecimento de que estavam infectados.

Estima-se que, no final de 2007, ocorreu mais de 1,5 milhão de casos de HIV/Aids (dos quais cerca de 500.000 resultaram em morte). Cerca de 1 milhão de pessoas estão vivendo com HIV/Aids nos EUA, e estima-se que ocorram 50.000 novos casos por ano. A taxa de mortalidade diminuiu pela primeira vez em 1996, refletindo o uso da terapia de combinação antirretroviral e a prevenção das infecções oportunistas secundárias (Fig. 44.8).

A Aids pediátrica aumentou com o número de mulheres infectadas pelo HIV. Estima-se que 1,650 recém-nascidos adquiriram o vírus em 1991, nos EUA. O número de novas infecções tem sido reduzido significativamente com a introdução, em 1994, da terapia pré-natal, intraparto e neonatal com zidovudina (ver adiante). Das taxas de transmissão de 25 a 30% sem intervenção, o tratamento medicamentoso reduziu as taxas de

transmissão nos EUA para menos de 2%. A transmissão de mãe para filho continua a ocorrer devido às infecções pelo HIV não diagnosticadas em mães sem tratamento médico.

O sucesso na redução da transmissão perinatal do HIV alcançado nos EUA não tem sido atingido em muitos países pobres. Especialmente na África Subsaariana, as taxas de transmissão da mãe para o filho permanecem elevadas.

C. Vias de transmissão

São encontrados altos títulos de HIV em dois fluidos corporais — sangue e sêmen. O HIV é transmitido durante o contato sexual (inclusive sexo orogenital), por exposição parenteral a sangue ou hemoderivados contaminados, e da mãe para o filho durante o período perinatal. A presença de outras doenças sexualmente transmissíveis, como sífilis, gonorreia ou herpes simples tipo 2, aumenta até 100 vezes o risco de transmissão sexual do HIV, uma vez que a inflamação e as úlceras facilitam a transferência do HIV através das barreiras mucosas. Os indivíduos assintomáticos, mas positivos para o HIV podem transmitir o vírus. Desde a primeira descrição da Aids, a atividade homossexual promíscua foi reconhecida como importante fator de risco para a doença. O risco aumenta de acordo com o número de contatos sexuais com diferentes parceiros.

A transfusão de sangue ou hemoderivados infectados constitui uma via efetiva de transmissão do vírus. Assim, por exemplo, mais de 90% dos hemofílicos que receberam concentrados de fatores da coagulação contaminados nos EUA (antes da detecção do HIV) desenvolveram anticorpos anti-HIV. Os usuários de drogas ilícitas são comumente infectados pelo uso de agulhas contaminadas. O uso de drogas injetáveis responde por uma proporção substancial de novos casos de Aids.

São necessários testes cuidadosos para se assegurar um suprimento de sangue seguro. A Organização Mundial de Saúde

relatou que a doação de sangue por voluntários não remunerados é muito mais segura que a de doadores pagos. Em 1996, foi relatado que o risco de infecção pelo HIV transmitido por meio de transfusões nos EUA foi muito pequeno (cerca de 1:500.000).

As taxas de transmissão da mãe para o lactente variam de 13 a 40% em mulheres não tratadas. Os lactentes podem tornar-se infectados *in utero*, durante o parto ou, mais comumente, pela amamentação. Na ausência de amamentação, cerca de 30% das infecções ocorrem *in utero*, e 70% durante o parto. Os dados indicam que 33 a 50% das infecções perinatais pelo HIV na África são decorrentes da amamentação. Em geral, a transmissão durante a amamentação ocorre precocemente (em torno dos 6 meses de vida). As elevadas cargas virais na mãe constituem fator de risco para a transmissão.

Os profissionais de saúde têm sido infectados pelo HIV após picada de agulhas com sangue contaminado. O número de infecções é relativamente pequeno em comparação com o número de picadas de agulha envolvendo sangue contaminado (o risco estimado de transmissão é de cerca de 0,3%). O risco de transmissão é mais baixo após a exposição da mucosa ao sangue infectado (cerca de 0,09%). Isto contrasta com o risco de infecção pelo vírus da hepatite C por picada de agulha, que é de cerca de 1,8%, e de infecção pelo vírus da hepatite B, de 6 a 30%.

As vias de transmissão (sangue, sexo e nascimento) já descritas são responsáveis por quase todas as infecções pelo HIV. Entretanto, existe considerável preocupação quanto à possibilidade de haver outros tipos de transmissão em circunstâncias raras, como, por exemplo, contato “casual” com indivíduos infectados pelo HIV ou insetos vetores; todavia, não há evidências de transmissão do vírus nessas condições casuais.

Prevenção, tratamento e controle

A. Fármacos antivirais

Um número crescente de antivirais está sendo aprovado para tratamento da infecção pelo HIV (ver Cap. 30). As classes de fármacos abrangem os inibidores nucleosídeos e os não nucleosídeos da enzima viral transcriptase reversa, bem como os inibidores da enzima protease viral. Os inibidores da protease são antivirais potentes, visto que a atividade dessa enzima é absolutamente essencial para a produção do vírus infeccioso, sendo a enzima viral distinta das proteases das células humanas. As novas classes de fármacos incluem os inibidores de fusão, aprovados em 2003, que bloqueiam a entrada do vírus nas células; inibidores de entrada, aprovados em 2007, que bloqueiam a ligação do correceptor CCR5 pelo HIV; e inibidores de integrase, aprovados em 2007, que interferem na enzima viral necessária para a replicação do HIV.

A terapia com combinações de agentes antirretrovirais, conhecida como terapia antirretroviral altamente ativa (HAART), tornou-se disponível em 1996. Com frequência, consegue suprimir a replicação viral abaixo dos limites de detecção no plasma, diminuir a carga viral nos tecidos linfoides, permitir a recuperação da resposta imunológica contra os patógenos oportunistas e prolongar a sobrevida do paciente. Entretanto, a HAART foi incapaz de curar a infecção pelo HIV-1. O vírus persiste em reservatórios de células de longa vida com infecção latente, inclusive células T CD4 de memória. Quando a

HAART é interrompida ou ocorre falha do tratamento, verifica-se um efeito de rebote na produção do vírus.

Enquanto a monoterapia em geral resulta em rápido aparecimento de mutantes de HIV resistentes a fármacos, a poliquimioterapia, que tem como alvo várias etapas da replicação viral, geralmente retarda a seleção de mutantes do HIV. Todavia, os mutantes que surgem e se mostram resistentes a um inibidor da protease com frequência também exibem resistência a outros inibidores da protease.

A transmissão de variantes resistentes a fármacos pode afetar o futuro das opções terapêuticas. Em 2004 e 2005, entre os pacientes com infecções pelo HIV recém-diagnosticadas foram encontrados portadores de vírus com mutações resistentes a fármacos em 8 e 10% dos casos nos EUA e na Europa, respectivamente. Entre as crianças infectadas durante o nascimento nos EUA em 2002, 19% tinham vírus com mutações resistentes a fármacos.

Os resultados obtidos com a poliquimioterapia têm sido bem-sucedidos e vêm mudando o perfil da infecção pelo HIV para uma doença crônica e tratável. A prolongada supressão da replicação viral pode ser alcançada, permitindo a restauração da função imunológica, mas o tratamento precisa ser mantido pela vida toda e pode ocorrer resistência ao fármaco. Além disso, os atuais esquemas de fármacos frequentemente são caros, não sendo tolerados por todos os pacientes, e podem apresentar efeitos colaterais (como a lipodistrofia). O mais grave é o fato de que a maioria dos indivíduos infectados em todo o mundo não tem acesso a nenhum desses fármacos anti-HIV.

Constatou-se que a zidovudina (AZT) pode reduzir significativamente a transmissão do HIV da mãe para o lactente. Um esquema de tratamento da mãe com AZT durante a gravidez e o parto, bem como do lactente após o nascimento, reduziu em 65 a 75% o risco de transmissão perinatal (*i. e.*, de cerca de 25% para menos de 2%). Esse tratamento diminuiu a transmissão vertical em todos os níveis de carga viral materna. Constatou-se, também, que a administração de um esquema de AZT de menor duração em mães infectadas, ou um regime único de nevirapina, reduziu a transmissão em 50% e mostraram-se seguros para uso nos países em desenvolvimento. Entretanto, as altas taxas de transmissão de HIV pelo aleitamento materno podem reduzir os benefícios do tratamento materno perinatal.

B. Vacinas contra o HIV

A maior esperança para o controle da epidemia mundial da Aids consiste na disponibilidade de uma vacina segura e eficaz. As vacinas virais são tipicamente preventivas, isto é, são administradas a indivíduos não infectados para evitar a infecção ou a doença. Entretanto, todas as vacinas candidatas anti-HIV testadas em 2009 mostraram-se ineficazes na prevenção da infecção.

O desenvolvimento da vacina é difícil, visto que o HIV sofre mutação rapidamente, não se expressa em todas as células infectadas e não é totalmente eliminado pela resposta imunológica do hospedeiro após a infecção primária. Os HIV isolados exibem acentuada variação, particularmente nos antígenos do envelope — variabilidade que pode promover o aparecimento de mutantes resistentes à neutralização. Como os correlatos da imunidade protetora não são conhecidos, não se sabe ao certo quais respostas imunológicas celular e/ou humoral deverão ser desencadeadas pela vacina.

Um dos objetivos de pesquisas de novas vacinas é o desenvolvimento de imunógenos capazes de induzir uma ampla produção de anticorpos neutralizantes para diferentes isolados do vírus HIV.

Devido à preocupação quanto à segurança, as vacinas produzidas a partir do HIV atenuado ou inativado, ou em vírus isolados de símios são vistas com apreensão. As proteínas virais recombinantes — particularmente as das glicoproteínas do envelope — são provavelmente candidatas, sejam administradas com adjuvantes ou com vetores virais heterólogos. Muitos métodos novos de vacinação também se encontram em fase de pesquisa. Estão sendo desenvolvidas abordagens de terapia gênica destinadas a obter uma “imunização intracelular”, isto é, alterar geneticamente células-alvo de modo a torná-las resistentes ao HIV.

Um grande obstáculo ao desenvolvimento de uma vacina reside na falta de um modelo animal apropriado para o HIV. Os chimpanzés são os únicos animais suscetíveis ao HIV. Não apenas o suprimento é escasso como também os chimpanzés desenvolvem apenas viremia e anticorpos, não apresentando imunodeficiência. O modelo de SIV de *Macaca* para a Aids de símios desenvolve a doença, mostrando-se útil para os estudos de desenvolvimento da vacina.

C. Microbicidas tópicos

Em muitos países do mundo as mulheres compõem pelo menos 50% das pessoas que vivem com HIV/Aids, e a maioria infectou-se através de contato heterossexual. Estão sendo feitos esforços para se desenvolverem microbicidas tópicos seguros e eficazes para prevenir a transmissão sexual do HIV. Resultados promissores foram publicados relatando que um gel vaginal, contendo o antirretroviral tenofovir, reduziu a contaminação pelo HIV em 39%.

D. Medidas de controle

Sem o controle obtido por fármacos ou vacinas, a única maneira de evitar a propagação epidêmica do HIV consiste em manter um estilo de vida capaz de minimizar ou eliminar os fatores de alto risco anteriormente discutidos. Não foi documentado caso algum em decorrência de exposições comuns, como espirros, tosse, compartilhamento de refeições ou outros contatos casuais.

Como o HIV pode ser transmitido pelo sangue, todos os doadores devem ser submetidos a testes para pesquisa de anticorpos. Os testes para anticorpos, quando adequadamente efetuados, parecem detectar quase todos os portadores de HIV-1 e HIV-2. Nos locais com rastreamento disseminado dos doadores de sangue à procura de exposição ao vírus e rejeição do sangue contaminado, a transmissão do HIV por meio de transfusões praticamente desapareceu.

As autoridades de saúde pública recomendaram que as pessoas notificadas como portadoras de infecção pelo HIV recebam as seguintes informações e conselhos:

1. Quase todas as pessoas permanecem infectadas por toda a vida e irão desenvolver a doença.
2. Apesar de assintomáticos, esses indivíduos podem transmitir o HIV a outras pessoas. Aconselha-se a realização de avaliação médica e acompanhamento regulares.
3. Os indivíduos infectados não devem doar sangue, plasma, órgãos, outros tecidos ou esperma.
4. Existe o risco de infectar outras pessoas por meio de relação sexual (vaginal ou anal), contato orogenital ou uso comum de agulhas. A utilização constante e correta de preservativos pode reduzir a transmissão do vírus, embora a proteção não seja absoluta.
5. Escovas de dentes, lâminas de barbear e outros objetos de uso pessoal passíveis de serem contaminados com sangue não devem ser compartilhados.
6. As mulheres soropositivas e aquelas com parceiros sexuais soropositivos correm maior risco de adquirir o HIV. Se forem engravidar, o filho também irá correr um risco elevado de contrair HIV.
7. Após acidentes que resultam em sangramento, as superfícies contaminadas devem ser limpas com desinfetante doméstico diluído em água na proporção de 1:10.
8. Objetos que tenham perfurado a pele — como, por exemplo, agulhas hipodérmicas e de acupuntura — devem ser esterilizados por autoclavagem antes de serem novamente utilizados ou descartados com segurança. Os instrumentos dentários devem ser esterilizados por calor entre o uso em um paciente e outro. Sempre que possível, devem-se utilizar agulhas e equipamentos descartáveis.
9. Ao procurarem assistência médica ou odontológica devido a alguma doença intercorrente, os indivíduos infectados devem informar os responsáveis pelo seu tratamento de que são soropositivos, de modo que se possa efetuar uma avaliação adequada e que sejam tomadas as precauções necessárias para evitar a transmissão.
10. O teste para anticorpo anti-HIV deve ser oferecido a pessoas que podem ter sido infectadas em decorrência de contato com indivíduos soropositivos (p. ex., parceiros sexuais, pessoas com as quais foram compartilhadas agulhas, lactentes nascidos de mães soropositivas).
11. A maioria das pessoas com teste positivo para o HIV não precisa mudar de emprego, a não ser que seu trabalho envolva um significativo potencial de exposição de outras pessoas ao seu sangue ou outros líquidos corporais. Não há evidências de transmissão do HIV por manipulação de alimentos.
12. As pessoas soropositivas que trabalham na área de saúde e efetuam procedimentos invasivos ou apresentam lesões cutâneas devem tomar as precauções necessárias, semelhantes às recomendadas para os portadores do vírus da hepatite B, a fim de proteger os pacientes contra o risco de infecção.
13. As crianças com testes positivos devem frequentar a escola, visto que o contato casual entre crianças em idade escolar não está associado a risco.

E. Educação sanitária

Na ausência de vacina ou de tratamento, a prevenção de casos de Aids baseia-se no sucesso de projetos de educação envolvendo mudanças de comportamento. As mensagens educativas de saúde para o público em geral estão resumidas da seguinte maneira: (1) qualquer relação sexual (exceto a mutuamente monogâmica entre pessoas negativas para anticorpo anti-HIV) deve ser protegida com o uso de preservativo; (2) não se deve

compartilhar agulhas ou seringas não esterilizadas; (3) todas as mulheres que foram potencialmente expostas devem fazer o teste para anticorpo anti-HIV antes de engravidar; se o teste for positivo, devem considerar a necessidade de evitar a gravidez; e (4) as mães infectadas pelo HIV devem evitar amamentar o filho, a fim de reduzir a transmissão do vírus, se houver disponibilidade de opções alternativas e seguras de alimentação.

RESUMO DO CAPÍTULO

- O vírus da imunodeficiência adquirida (HIV) causa a Aids, doença que foi primeiramente reconhecida em 1981.
- O HIV/Aids é hoje uma epidemia mundial. Dados mostram que, em 2009, 33 milhões de indivíduos viviam com HIV/Aids.
- A maioria das infecções pelo HIV ocorre em países em desenvolvimento. Nesses países, muitas dessas infecções não são diagnosticadas e nem tratadas. Em 2009, um elevado número de infecções ocorreu na África Subsaariana seguido pelo Sul e Sudeste Asiático.
- O HIV é um lentivírus pertencente à família dos retrovírus.
- Os vírus HIV-1 e HIV-2 são derivados dos lentivírus de primatas comuns na África.
- O HIV é transmitido durante contato sexual, por meio de exposição parenteral com sangue e hemoderivados contaminados e de mãe para lactente durante o período perinatal.
- Uma vez infectado, o indivíduo permanece nessa condição, até o momento, por toda sua vida.
- O vírus HIV usa a molécula de CD4 como receptor (que é expressada na superfície dos macrófagos e linfócitos) e como correceptores os receptores de quimiocinas CCR5 (nos macrófagos) e CXR4 (nos linfócitos).
- O curso típico de uma infecção pelo HIV não tratada dura cerca de uma década. A morte do indivíduo ocorre entre dois anos, após o começo das manifestações clínicas (infecções oportunistas, neoplasias e manifestações neurológicas).
- Se não tratada, a infecção pediátrica pelo HIV evolui rapidamente.
- Durante a fase de latência clínica há uma elevada replicação viral e um declínio do número dos linfócitos CD4.
- Infecções latentes com pouca ou nenhuma expressão de genes virais ocorrem em um pequeno número de células de memória latentes, em indivíduos infectados. Caso essas células se tornem ativadas, a replicação viral é retomada.
- Indivíduos infectados desenvolvem tanto resposta humoral quanto resposta de base celular contra antígenos do vírus HIV, porém a resposta imune não elimina completamente o vírus do organismo.
- A maior causa de morbidade e mortalidade entre os indivíduos infectados pelo HIV são as infecções oportunistas (raramente, observadas em indivíduos imunocompetentes) e os sintomas neurológicos, que, geralmente, ocorrem quando a contagem de linfócitos CD4 fica abaixo de 200 células/ μ L.
- A terapia com diferentes fármacos antirretrovirais pode converter a infecção pelo HIV, em doença crônica. O tratamento é mantido por toda a vida do indivíduo, é oneroso e apresenta diversos efeitos colaterais. Além disso, o uso contínuo predispõe a mutações no genoma viral, resultando em resistência a esses antirretrovirais.
- A quantidade de HIV no sangue (carga viral) é de valor prognóstico e é crucial para a monitoração da eficácia da terapia com o fármaco.
- As neoplasias características da Aids ocorrem em indivíduos não tratados e incluem o sarcoma de Kaposi, câncer cervical e linfoma não Hodgkin. Por outro lado, pacientes submetidos à terapia antirretroviral prolongada apresentam risco de se desenvolverem neoplasias não associadas à Aids, incluindo neoplasias de cabeça e pescoço, hepático e oral.
- Fármacos antirretrovirais podem ser usados na prevenção da infecção viral.
- Medicamentos tópicos contendo antirretrovirais se mostram promissores no bloqueio da transmissão do HIV.
- Até o momento, não há vacinas contra o HIV disponíveis.

QUESTÕES DE REVISÃO

1. O HIV-1 é classificado como um membro do gênero *Lentivirus* da família *Retroviridae*. Os lentivírus:
 - (A) Contêm um genoma do DNA
 - (B) Causam tumores em camundongos
 - (C) Infectam células do sistema imunológico
 - (D) Possuem sequências similares endógenas em células normais
 - (E) Causam doença neurológica de rápida progressão
2. O HIV-1 codifica uma glicoproteína de envelope, a gp120. Esta proteína:
 - (A) Causa a fusão de membrana
 - (B) Liga o correceptor viral na superfície da célula
 - (C) É altamente conservada entre diferentes isolados
 - (D) Não consegue produzir anticorpos neutralizantes
 - (E) Induz a produção de quimiocinas
3. A Aids/HIV tornou-se uma epidemia mundial que continua a se expandir. Em 2007, a área geográfica que abrigava o maior número de pessoas infectadas pelo HIV, depois da região da África Subsaariana, era(m):
 - (A) As Américas Central e do Sul, bem como o Caribe
 - (B) A Ásia oriental, inclusive a China
 - (C) A América do Norte
 - (D) O Sul e o Sudeste Asiáticos
 - (E) Europa oriental e Ásia central
4. O curso típico de uma infecção pelo HIV não tratada estende-se por 10 anos ou mais. Geralmente, ocorre um longo período (latência clínica) entre o período da infecção primária e o desenvolvimento da Aids. Durante esse período de latência clínica:
 - (A) O HIV não é detectável no plasma
 - (B) As contagens de células CD4 permanecem inalteradas
 - (C) O vírus não pode ser transmitido a outras pessoas
 - (D) O vírus está presente nos órgãos linfóides
 - (E) Não são produzidos anticorpos neutralizantes
5. Coinfecções virais ocorrem em indivíduos infectados pelo HIV-1, podendo contribuir para a morbidade e a mortalidade. A coinfeção mais comum em pessoas soropositivas para o HIV-1 nos EUA envolve o:
 - (A) Vírus da hepatite C
 - (B) Vírus da hepatite D
 - (C) HIV tipo 2
 - (D) Vírus linfotrópico T humano
 - (E) Herpes-vírus do sarcoma de Kaposi

6. Qual dos seguintes indivíduos pode estar em maior risco de adquirir uma infecção pelo HIV?
- Uma avó que vive na mesma casa com parentes HIV-positivos
 - Um turista em Botswana que praticou sexo com uma prostituta
 - Uma recepcionista em uma clínica de Aids em um hospital
 - Uma professora com uma criança HIV-positiva em sua classe
 - Um jogador de beisebol cujo colega de equipe é HIV-positivo
7. Uma enfermeira de 36 anos de idade feriu-se com agulha suja de sangue de um paciente HIV-positivo. Seis meses depois, o soro dela mostrou-se positivo em um teste de ensaio imunoenzimático, dando um resultado de confirmação negativo pelo mesmo ensaio imunoenzimático, sendo negativo por *Western blot*. A enfermeira:
- Provavelmente está infectada pelo HIV
 - Encontra-se no período de janela entre a infecção aguda com o HIV e a soroconversão
 - Provavelmente não está infectada pelo HIV
 - Pode estar infectada com uma cepa multirresistente do HIV
 - Pode estar em um longo período de não progressão
8. Um homem de 41 anos de idade, infectado pelo HIV, que se recusou a seguir a terapia antirretroviral, recebe diagnóstico de infecção por *Pneumocystis jiroveci*. Este paciente:
- Provavelmente teve uma contagem de células T CD4 abaixo de 200 células/ μ L
 - Tem elevado risco de câncer de pulmão
 - Tem uma expectativa de vida de cerca de 5 anos de idade
 - Provavelmente está com um declínio dos níveis de viremia plasmática
 - É incapaz de desenvolver demência neste estágio
9. Um homem de 48 anos de idade, HIV-positivo, com contagem de células T CD4 de 40 células/ μ L, queixa-se ao médico de perda de memória. Quatro meses depois, sofre paralisia e morre. A necropsia do cérebro revela desmielinização de muitos neurônios e a microscopia eletrônica mostra aglomerados de partículas virais sem envelope nos neurônios. A causa mais provável da doença é:
- Adenovírus tipo 12
 - Vírus Coxsackie B2
 - Parvovírus B19
 - Vírus Epstein-Barr
 - Vírus JC
10. A terapia antiviral altamente ativa para infecção pelo HIV (HAART) em geral inclui um inibidor de protease, como o saquinavir. Um inibidor de protease
- É efetivo contra o HIV-1, mas não contra o HIV-2
 - Raramente dá origem a mutantes resistentes do HIV
 - Inibe a última etapa da replicação viral
 - Degrada os receptores CD4 das células
 - Interfere na interação do vírus com o correceptor
11. Em uma pessoa com uma infecção pelo HIV, os fluidos potencialmente infecciosos incluem todos os seguintes, *exceto*:
- Sangue
 - Saliva visivelmente contaminada com sangue
 - Urina sem contaminação visível por sangue
 - Secreções genitais
 - Líquido amniótico
12. Entre mais de um milhão de pessoas estimadas que, segundo se estimava, viviam com HIV nos EUA até o final de 2007, quantas sabiam da existência de sua infecção?
- Cerca de 5%
 - Cerca de 10%
 - Cerca de 20%
 - Cerca de 25%
 - Cerca de 30%
 - Cerca de 50%
13. Todas as afirmações sobre o HIV estão corretas, *exceto*:
- Os testes de rastreamento para pesquisa de anticorpos são úteis na prevenção da transmissão do HIV por meio de transfusões sanguíneas
 - As infecções oportunistas observadas na Aids são fundamentalmente decorrentes da perda da imunidade de base celular
 - A zidovudina (azidotimidina) inibe a DNA polimerase dependente de RNA
 - A presença de anticorpos circulantes, que neutralizam o vírus HIV, é uma evidência que o indivíduo está protegido contra a infecção viral
14. A terapia antirretroviral altamente ativa (HAART) não é plenamente indicada, pois:
- Não elimina a infecção latente pelo HIV
 - É um custo maior para mais de 90% dos indivíduos infectados
 - Frequentemente, apresenta graves efeitos colaterais
 - Alguns isolados do vírus HIV são resistentes à terapia
 - Todas as alternativas acima
15. Todas as afirmações sobre o HIV estão corretas, *exceto*:
- A molécula CD4 na superfície das células T é o receptor para o vírus HIV
 - Há uma considerável diversidade das glicoproteínas do envelope viral
 - Um dos genes virais codifica para uma proteína que aumenta a atividade do promotor viral
 - O maior problema com os testes para detecção de anticorpos contra o vírus HIV é a sua reação cruzada com o vírus HTLV-1

Respostas

- | | | | |
|------|------|-------|-------|
| 1. C | 5. A | 9. E | 13. D |
| 2. B | 6. B | 10. C | 14. E |
| 3. D | 7. C | 11. C | 15. D |
| 4. D | 8. A | 12. D | |

REFERÊNCIAS

- Aberg JA, Kaplan JE, Libman H. et al. Primary care guidelines for the management of persons infected with human immunodeficiency virus: 2009 update by the HIV Medicine Association of the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis* 2009;49:651.
- Apetrei C, Robertson DL, Marx PA: The history of SIVs and AIDS: Epidemiology, phylogeny, and biology of isolates from naturally SIV infected non-human primates (NHP) in Africa. *Front Biosci* 2004;9:225.

- Arens MQ (guest editor): Update on HIV diagnostic testing algorithms. *J Clin Virol* 2011;52(Suppl 1). [Entire issue.]
- Desrosiers RC: Nonhuman lentiviruses. In Knipe DM, Howley PM (editors-in-chief). *Fields Virology*, 5th ed. Lippincott Williams and Wilkins, 2007.
- Freed EO, Martin MA: HIVs and their replication. In Knipe DM, Howley PM (editors-in-chief). *Fields Virology*, 5th ed. Lippincott Williams and Wilkins, 2007.
- Guidelines for the prevention and treatment of opportunistic infections among HIV-exposed and HIV-infected children. Recommendations from CDC, the National Institutes of Health, the HIV Medicine Association of the Infectious Diseases Society of America, the Pediatric Infectious Diseases Society, and the American Academy of Pediatrics. *MMWR Recomm Rep* 2009;58 (No. RR-11).
- Patel K, Hernán MA, Williams PL et al. Long-term effectiveness of highly active antiretroviral therapy on the survival of children and adolescents with HIV infection: A 10-year follow-up study. *Clin Infect Dis* 2008;46:507.
- Patrick MK, Johnston JB, Power C: Lentiviral neuropathogenesis: Comparative neuroinvasion, neurotropism, neurovirulence, and host neurosusceptibility. *J Virol* 2002;76:7923.
- Paul ME, Schearer WT: Pediatric human immunodeficiency virus infection. In Leung DYM, Sampson HA, Geha RS, Szefer SJ (editors). *Pediatric Allergy: Principles and Practice*. Mosby, 2003.
- Primary HIV-1 infection. *J Infect Dis* 2010;202(Suppl 2). [Entire issue.]
- Revised recommendations for HIV testing of adults, adolescents, and pregnant women in health-care settings. *MMWR Recomm Rep* 2006;55(RR-14):1.
- Special issue: 25 years of HIV. *Trends Microbiol* 2008;16(No. 12). [Entire issue.]
- Synergistic pandemics: Confronting the global HIV and tuberculosis epidemics. *Clin Infect Dis* 2010;50(Suppl 3). [Entire issue.]
- Twenty-five years of HIV/AIDS—United States, 1981–2006. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2006;55(No. 21):585.
- Updated U.S. Public Health Service guidelines for the management of occupational exposures to HIV and recommendations for post-exposure prophylaxis. *MMWR Recomm Rep* 2005;54(RR-9):1.

Micologia médica

A micologia é o estudo dos fungos — organismos eucariotos que evoluíram em paralelo com o reino animal. Contudo, ao contrário dos animais, a maioria dos fungos é imóvel. Possuem uma rígida parede celular, que envolve suas células e, ao contrário das plantas, não são fotossintéticos. Aproximadamente 80.000 espécies de fungos foram descritas, porém pouco mais de 400 têm importância médica e menos de 50 espécies causam mais de 90% das infecções fúngicas em seres humanos e nos animais. Por outro lado, a maioria das espécies de fungos é benéfica para os seres humanos. São encontrados na natureza, sendo essenciais à degradação e reciclagem da matéria orgânica. Alguns fungos melhoram acentuadamente nossa qualidade de vida ao contribuir para a produção de alimentos e bebidas alcoólicas, como o queijo, o pão e a cerveja. Outros já prestaram serviço à medicina, fornecendo metabólitos secundários bioativos de grande utilidade, como os antibióticos (penicilinas) e imunossupressores (p. ex., ciclosporina). Os fungos também foram explorados pela genética e pela biologia molecular como modelo de sistemas para a investigação de uma variedade de processos eucarióticos, incluindo a biologia molecular, a celular e a de desenvolvimento. De modo geral, exercem seu maior impacto econômico como fitopatógenos e a agricultura sofre enormes perdas anualmente em consequência de doenças fúngicas do arroz, de grãos e outras plantas.

Como todos os eucariontes, as células fúngicas possuem pelo menos um núcleo e uma membrana nuclear, retículo endoplasmático, mitocôndrias e aparelho secretor. Em sua maioria, os fungos são aeróbios obrigatórios ou facultativos.

São quimiotróficos e secretam enzimas que degradam ampla variedade de substratos orgânicos em nutrientes solúveis, que em seguida são absorvidos passivamente ou capturados na célula por transporte ativo.

As infecções fúngicas são denominadas **micoses**. Em sua maioria, os fungos patogênicos são exógenos, e a água, o solo e os resíduos orgânicos constituem seus *habitats* naturais. As micoses de maior incidência — a candidíase e a dermatofitose — são causadas por fungos que fazem parte da microbiota normal, ou que estão altamente adaptados à sobrevivência no hospedeiro humano. Por conveniência didática, as micoses podem ser classificadas como superficiais, cutâneas, subcutâneas e sistêmicas, que invadem os órgãos internos (Quadro 45.1). As micoses sistêmicas podem ser causadas por fungos endêmicos (geralmente patógenos primários), ou por fungos ubíquos frequentemente patógenos oportunistas secundários. A classificação das micoses nessas categorias reflete sua porta habitual de entrada e local de comprometimento inicial. Todavia, existe considerável superposição, visto que as micoses sistêmicas podem frequentemente apresentar manifestações subcutâneas e vice-versa. Na maioria dos casos, os pacientes que desenvolvem infecções oportunistas são portadores de doenças subjacentes graves e apresentam comprometimento das defesas do hospedeiro. Entretanto, também ocorrem micoses sistêmicas primárias nesses pacientes, enquanto os fungos oportunistas igualmente podem infectar indivíduos imunocompetentes. Durante a infecção, a maioria dos pacientes desenvolve respostas imunológicas celulares e humorais significativas contra os antígenos fúngicos.

GLOSSÁRIO

Artroconídeos (artrósporos): conídios que resultam da fragmentação de hifas (Fig. 45.1).

Ascósporos: no filo *Ascomycota*, após a meiose, formam-se 4 a 8 meiosporos no interior de um **asco**.

Basidiósporos: no filo *Basidiomycota*, após a meiose, geralmente se formam quatro meiosporos sobre a superfície de uma estrutura especializada, denominada **basídeo**, em forma de clava.

Blastoconídeos (blastósporos): formação de conídios por um processo de brotamento (p. ex., leveduras).

Bolor: colônia de hifas ou micélios ou forma de crescimento.

Clamidósporos (clamidoconídios): grandes conídios geralmente esféricos, de paredes espessas, produzidos a partir de hifas terminais ou intercaladas.

Conídeos: estruturas reprodutivas assexuadas (mitósporos), produzidas pela transformação de levedura vegetativa ou hifa, ou de célula conidiogênica especializada, que pode ser simples ou complexa e elaborada. Os conídeos podem ser formados em hifas especializadas, denominadas **conidióforos**. Os **microconídios** são pequenos, enquanto os **macroconídeos** são grandes ou multicelulares.

Esporangiósporos: estruturas assexuadas características da ordem *Mucorales*; trata-se dos esporos mitóticos produzidos dentro de um **esporângio** fechado, frequentemente sustentado por um **esporangióforo** (Figs. 45.2 e 45.3).

Esporo: propágula especializada com valor de sobrevivência ampliado, como resistência a condições adversas ou características estruturais que promovem a dispersão. Os esporos podem resultar de reprodução assexuada (p. ex., conídeos, esporangiósporos) ou sexuada (ver adiante).

Esporo sexual: durante a reprodução sexuada, células haploides de cepas compatíveis unem-se mediante um processo de plasmogamia, cariogamia e meiose.

Fialoconídeos: conídios produzidos por célula conidiogênica “em forma de vaso”, denominada **fialide** (p. ex., *Aspergillus fumigatus*, Fig. 45.6).

Fungos demációs: fungos cujas paredes celulares contêm melanina, que lhes confere uma pigmentação castanha a negra.

Fungos dimórficos: apresentam duas formas de crescimento, como bolor e levedura, que se desenvolvem em diferentes condições de crescimento (p. ex., *Blastomyces dermatitidis*, com formas em hifas *in vitro* e leveduras em tecidos).

Fungos imperfeitos: fungos que carecem de reprodução sexuada; são representados apenas por um estado **anamorfo**, o estado reprodutivo mitótico ou assexuado. São identificados com base nas estruturas reprodutivas assexuadas (*i.e.*, mitósporos).

Fungos perfeitos: fungos com capacidade de reprodução sexuada, que representa o estado **teleomorfo**.

Hifas: filamentos tubulares e ramificados (2 a 10 μm de largura) de células fúngicas, que constituem a forma de crescimento. A maioria das hifas é separada por paredes transversais porosas ou **septos**; todavia, as hifas dos zigomicetos são tipicamente septadas de modo esparso. As hifas vegetativas ou de substrato fixam a colônia e absorvem nutrientes. As hifas aéreas projetam-se acima da colônia e exibem as estruturas reprodutivas.

Leveduras: células fúngicas unicelulares, esféricas a elipsoides (3 a 15 μm), que geralmente se reproduzem por brotamento.

Micélio: massa ou emaranhado de hifas, colônia de bolores.

Pseudo-hifas: cadeias de brotos alongados ou blastoconídios.

Septo: parede transversal das hifas, tipicamente perfurada.

Zigósporos: na ordem *Mucorales*, após a meiose, forma-se um grande **zigósporo** de parede espessa.

Como os avanços médicos têm prolongado a sobrevivência de pacientes com câncer, Aids e receptores de células-tronco ou de transplante de órgãos, a incidência das micoses oportunistas tem aumentado significativamente. Os fungos patogênicos não produzem toxinas potentes e os mecanismos da patogenicidade fúngica são complexos e poligênicos. É difícil tratar a maioria das micoses. Por serem eucariotos, os fungos partilham inúmeros genes homólogos, produtos gênicos e vias metabólicas com seus hospedeiros humanos. Consequentemente, existem poucos alvos específicos para quimioterapia e antibióticos efetivos. Felizmente, há um interesse crescente por fungos clinicamente importantes e pela pesquisa dos fatores de virulência e alvos terapêuticos potenciais.

PROPRIEDADES GERAIS E CLASSIFICAÇÃO DOS FUNGOS

Os fungos crescem em duas formas básicas: **leveduras** e **bolores**. O crescimento em forma de bolor (fungos filamentosos)

ocorre pela produção de colônias filamentosas multicelulares que consistem em túbulos cilíndricos ramificados, denominados **hifas**, cujo diâmetro varia de 2 a 10 μm . A massa de hifas emaranhadas que se acumula durante o crescimento ativo é conhecida como **micélio**. Algumas hifas são divididas em células por paredes transversais ou **septos**, que tipicamente aparecem a intervalos regulares durante o crescimento das hifas. Contudo, membros da ordem *Mucorales* produzem hifas raramente septadas. As hifas vegetativas ou de substrato penetram no meio nutritivo e absorvem nutrientes. Por sua vez, as hifas aéreas projetam-se acima da superfície do micélio e, em geral, apresentam as estruturas reprodutivas do fungo filamentoso. Quando um fungo filamentoso é isolado de um espécime clínico, sua taxa de crescimento, aparência macroscópica e morfologia microscópica são suficientes para determinar seu gênero e espécie. As características fenotípicas mais úteis são a ontogenia e a morfologia de seus esporos reprodutivos assexuados ou conídios. (Ver Figs. 45.2 a 45.8.)

As leveduras são células isoladas, geralmente de forma esférica a elipsoide, cujo diâmetro varia de 3 a 15 μm . A reprodução

QUADRO 45.1 Principais micoses e fungos causadores

Categoria	Micose	Agente causador (fungo)
Superficial	Pitíriase versicolor	Espécies de <i>Malassezia</i>
	Tinea negra	<i>Hortaea werneckii</i>
	Piedra branca	Espécies de <i>Trichosporon</i>
	Piedra negra	<i>Piedraia hortae</i>
Cutânea	Dermatofitose	Espécies de <i>Microsporum</i> , <i>Trichophyton</i> e <i>Epidermophyton floccosum</i>
	Candidíase de pele, mucosa ou unhas	<i>Candida albicans</i> e outras espécies de <i>Candida</i>
Subcutânea	Esporotricose	<i>Sporothrix schenckii</i>
	Cromoblastomicose	<i>Phialophora verrucosa</i> , <i>Fonsecae pedrosoi</i> e outros
	Micetoma	<i>Pseudallescheria boydii</i> , <i>Madurella mycetomatis</i> e outros
	Fofofomicose	<i>Exophiala</i> , <i>Bipolaris</i> , <i>Exserohillum</i> e outros bolores demácios
Endêmica (primária, sistêmica)	Coccidioomicose	<i>Coccidioides posadasii</i> e <i>Coccidioides immitis</i>
	Histoplasmose	<i>Histoplasma capsulatum</i>
	Blastomicose	<i>Blastomyces dermatitidis</i>
	Paracoccidioomicose	<i>Paracoccidioides brasiliensis</i>
Oportunistas	Candidíase sistêmica	<i>Candida albicans</i> e outras espécies de <i>Candida</i>
	Criptococose	<i>Cryptococcus neoformans</i> e <i>Cryptococcus gattii</i>
	Aspergilose	<i>Aspergillus fumigatus</i> e outras espécies de <i>Aspergillus</i>
	Hialoifomicose	Espécies de <i>Fusarium</i> , <i>Paecilomyces</i> , <i>Trichosporon</i> e outros bolores hialinos
	Fofofomicose	<i>Cladophialophora bantiana</i> ; espécies de <i>Alternaria</i> , <i>Cladosporium</i> , <i>Bipolaris</i> , <i>Exserohillum</i> e inúmeros outros bolores demácios
	Mucormicose (zigomicose)	Espécies de <i>Rhizopus</i> , <i>Absidia</i> , <i>Cunninghamella</i> e outros zigomicetos
	Pneumonia por <i>Pneumocystis</i>	<i>Pneumocystis jirovecii</i>
	Peniciliose	<i>Penicillium marneffei</i>

da maioria das leveduras ocorre por brotamento. Algumas espécies produzem brotamentos que tipicamente não se desprendem, tornando-se alongados. A continuação do processo de brotamento produz então uma cadeia de células alongadas de levedura, denominada **pseudo-hifa**. Em geral, as colônias

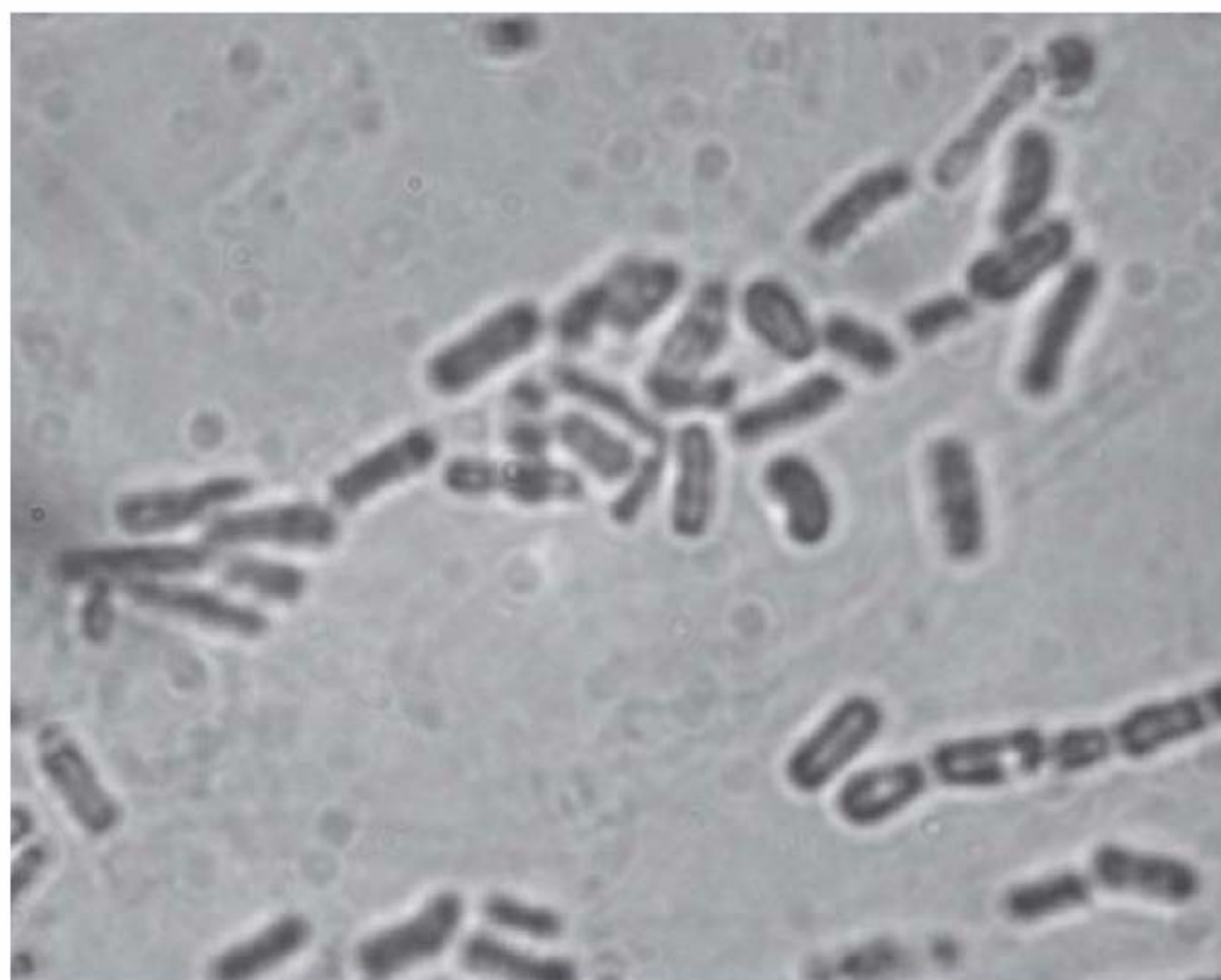


FIGURA 45.1 Artroconídio formado pela fragmentação de células de hifas em conídios compactos. Ampliada 400 vezes.

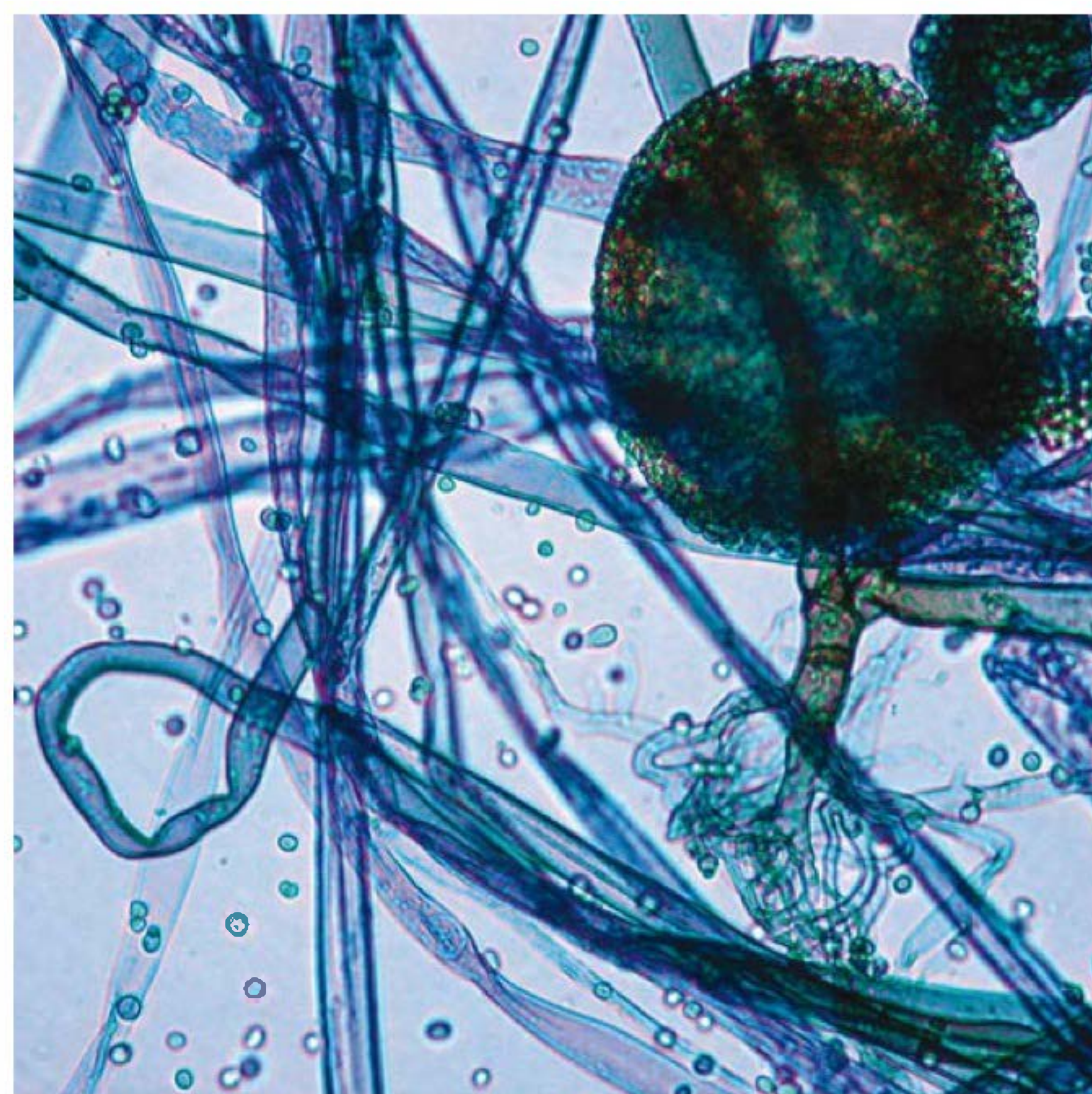


FIGURA 45.2 *Rhizopus*. O esporângio deste bolor liberou seus esporangiósporos, mas permanece ligado ao esporangióforo de suporte e os rizoides estão aparentes na base do esporangióforo. Ampliada 200 vezes.

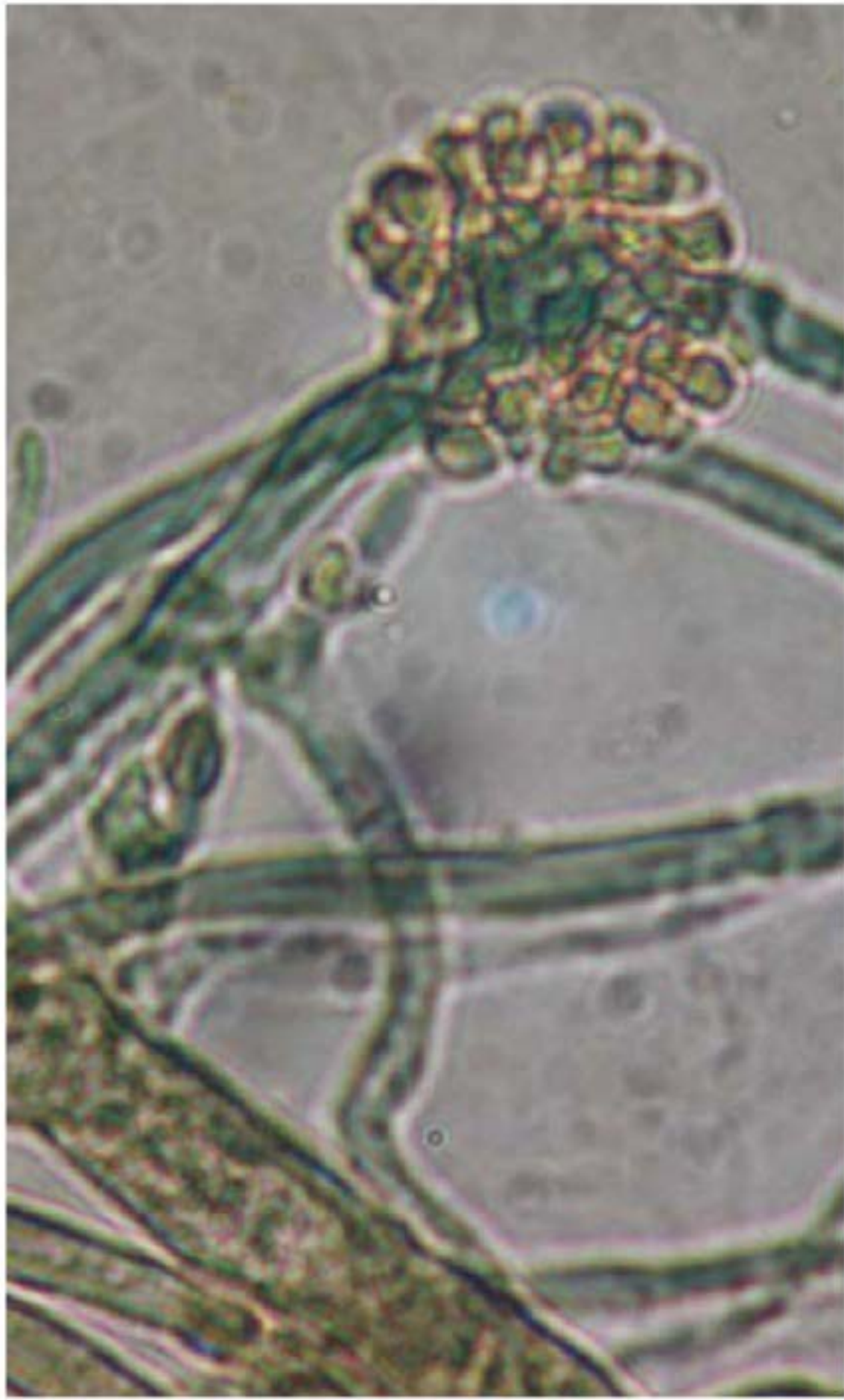


FIGURA 45.3 *Cunninghamella bertholletiae*. Seus esporangiósoros são produzidos dentro do esporângio, que está ligado a uma vesícula e sustentado por um esporangióforo. Ampliada 400 vezes.

de leveduras têm consistência mole, são opacas e de cor creme, com 1 a 3 mm de tamanho. Como as colônias e a morfologia microscópica de inúmeras leveduras são muito semelhantes, as espécies são identificadas com base em testes fisiológicos e algumas diferenças morfológicas essenciais. Certas espécies de fungos são dimórficas e têm a capacidade de crescer em forma de levedura ou bolor, dependendo das condições ambientais.



FIGURA 45.4 *Penicillium*. As cadeias de conídios são geradas por fálides, sustentadas por um conidióforo ramificado. O conídio basal é o mais novo. Ampliada 400 vezes.

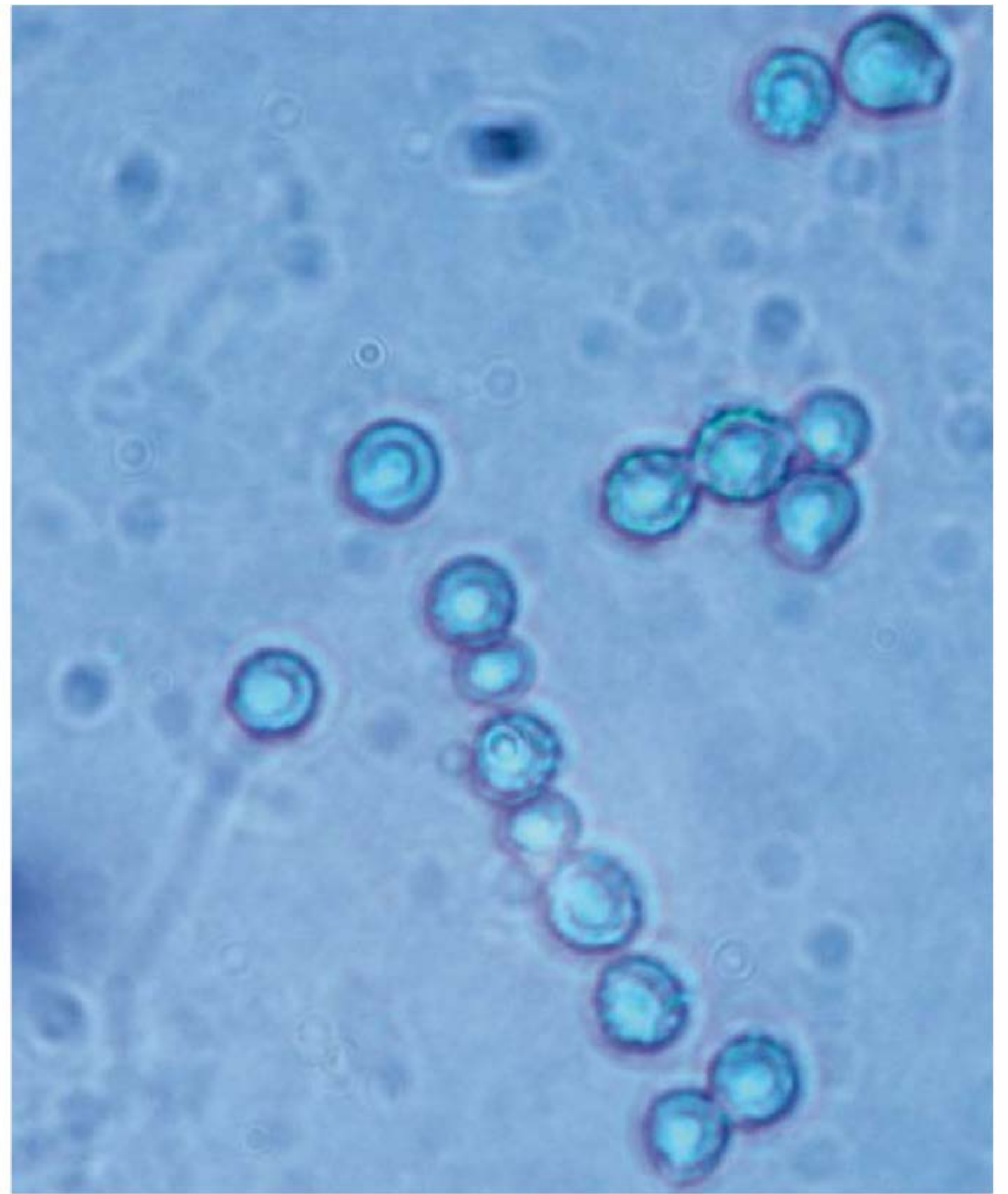


FIGURA 45.5 *Scopulariopsis*. A cadeia de conídios foi produzida por um anelídeo, que é outro tipo de célula conidiogênica. Ampliada 400 vezes.

Os fungos possuem uma **parede celular** rígida essencial que determina sua forma e os protege do estresse osmótico e ambiental. As paredes celulares são compostas, em grande parte, de camadas de carboidratos e cadeias longas de polissacarídeos, bem como de glicoproteínas e lipídeos. Alguns polímeros de açúcares são encontrados na parede celular de muitos fungos, tais como a quitina (polímero não ramificado de β -1,4 *N*-acetil- β -D-glicosamina [GlcNAc]); glucanas com polímeros de glicose [p. ex. β -1,3 glucana e β -1,6 glucana]; mananas e polímeros de manose [p. ex. α 1-6 manose]. Além disso, outros polímeros podem ser únicos em diferentes espécies de fungos. Durante a infecção, as paredes celulares dos fungos exibem importantes propriedades biopatológicas. Os componentes de superfície da parede celular medeiam a fixação do fungo às células hospedeiras. Unidades específicas da parede celular dos fungos medeiam a ligação a receptores de reconhecimento de padrões em membranas das células hospedeiras, tais como TLRs que estimulam a resposta imune inata. As glucanas da parede celular e os polissacarídeos da parede celular podem ativar a cascata do complemento e provocar reação inflamatória. A maioria desses polissacarídeos é ineficientemente degradada pelo hospedeiro, pode ser detectada com corantes histológicos especiais. As paredes celulares liberam antígenos imunodominantes, que podem desencadear respostas imunológicas celulares e a produção de anticorpos diagnósticos. Além disso, algumas leveduras e bolores possuem paredes celulares melanizadas, que lhes conferem uma pigmentação castanha ou negra nas colônias fúngicas. Esses fungos são **demácios**. Em



FIGURA 45.6 *Aspergillus fumigatus*. Formam-se fiáides no topo de uma vesícula intumescida na extremidade de um conidióforo longo. O conídio basal é o mais novo. Os conídios maduros apresentam paredes rugosas. Ampliada 400 vezes.

vários estudos, foi constatado que a melanina é um importante fator de virulência, protegendo esses fungos das defesas do hospedeiro.

O ciclo de vida dos fungos é marcadamente variado. Dependendo da espécie, a contagem cromossômica pode ser haploide ou diploide. Algumas espécies existem apenas por expansão clonal ou reprodução assexuada, em que cada célula é um clone genético. Já outras espécies são capazes de reprodução sexual, que pode ou não requerer indivíduos geneticamente diversos para reprodução e meiose. Tanto a reprodução assexuada, quanto a sexual resultam na produção de esporos que aumentam a sobrevivência do fungo. Os esporos, geralmente, no estado de dormência, podem ser facilmente dispersos, tornam-se mais resistentes a condições adversas e germinar para a forma vegetativa quando as condições para crescimento mostram-se favoráveis. Os esporos gerados por reprodução assexuada ou sexuada são denominados anamórficos e teleomórficos, respectivamente. Como as células vegetativas, os esporos assexuados representam uma progênie mitótica (*i.e.*, mitósporos) e geneticamente idêntica. Os fungos de importância clínica produzem dois tipos principais de esporos assexuados, os **conídios** (que são produzidos pela maioria dos fungos patogênicos) e os **esporangiósporos**, na ordem *Mucorales* (ver glossário). As características singulares dos esporos incluem sua ontogenia (alguns bolores produzem estruturas conidiogênicas complexas) bem como sua morfologia (tamanho, forma, textura, cor ou constituição unicelular ou multicelular). Em alguns fungos, as células vegetativas podem transformar-se em conídios (p. ex.,



FIGURA 45.7 *Bipolaris*. Bolores demácios que produzem macroconídios característicos de parede espessa. Ampliada 400 vezes.

artroconídios, clamidósporos). Em outros, os conídios são produzidos por uma célula conidiogênica, como a fiáide, que pode ligar-se a uma hifa especializada, denominada conidióforo. Os esporangiósporos resultam da divisão mitótica e da produção de esporos no interior de uma estrutura em forma de saco, denominada esporângio, sustentada por um esporangióforo.

Classificação

As primeiras classificações dos fungos em filos eram baseadas por características fenotípicas. Essa abordagem foi substituída pela sistemática molecular, que reflete com maior acurácia as complexas relações filogenéticas. Há algumas ambiguidades sobre a divergência entre fungos e animais e seus ancestrais. Os fungos inferiores foram alocados no filo *Zygomycota*, porém esses organismos mostraram ser polifiléticos*, sendo realocados em um novo filo denominado *Glomerulomycota* com quatro subfilos. Dois subfilos contêm as ordens dos fungos filamentosos zoopatogênicos, *Mucorales* e *Enomophthorales*. Por outro lado, os dois maiores filos, *Ascomycota* e *Basidiomycota*, são bem definidos, baseados em análises filogenéticas. O filo *Ascomycota* (ou ascomicetos) abrange mais de 60% dos fungos conhecidos

* N. de R.T. Em filogenética, chama-se polifilético a um grupo que não inclui o ancestral comum de todos os indivíduos. Assim, em um grupo polifilético, seus integrantes possuem vários ancestrais comuns, um para cada grupo monofilético. É um táxon definido por uma semelhança que não foi herdada de um antepassado comum. Trata-se de um termo da linguagem corrente, que designa um conjunto de espécies que apresentam caracteres comuns, mas que agrupam clados de origens variadas.

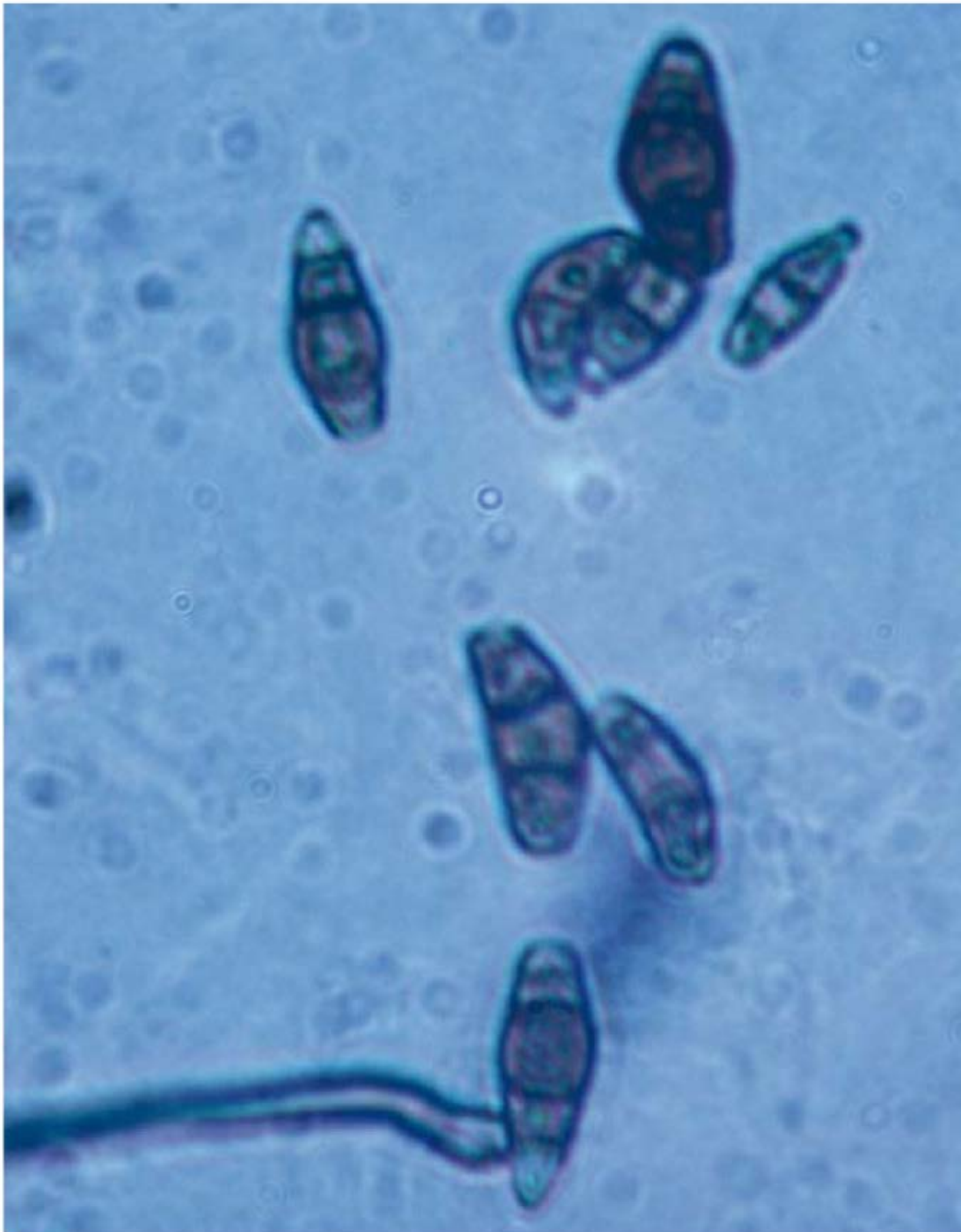


FIGURA 45.8 *Curvularia*. Bolores de mácios que produzem macroconídios curvados característicos com grandes células centrais. Ampliada 400 vezes.

e cerca de 85% dos patógenos humanos. Os demais fungos patogênicos são membros do filo *Basidiomycota* (basidiomicetos), ou da ordem *Mucorales* do filo *Glomerulomycota*.

As espécies, a partir de um espécime clínico, podem ser identificadas por métodos fenotípicos e moleculares disponíveis em um laboratório clínico (p. ex., identificação de sequências de DNA, morfologia das estruturas reprodutivas e propriedades fisiológicas). A reprodução sexual pode ser útil e tipicamente ocorre quando as amostras de uma espécie compatível são estimuladas por ferormônios e submetidas à cariogamia, plasmogamia e meiose, resultando em troca de informação genética. Como os isolados clínicos quase sempre representam uma infecção por um único clone, esses organismos possuem reprodução assexuada quando isolados em laboratório. Consequentemente, muitos fungos patogênicos foram inicialmente classificados com base em suas estruturas reprodutivas assexuais. Durante a infecção para se tornarem um patógeno de sucesso, alguns fungos aparentemente perderam a habilidade de reprodução sexual. A seguinte classificação é simplificada e somente representa os grupos taxonômicos que incluem os principais patógenos humanos.

A. Filo *Glomerulomycota*, ordem *mucorales*

A reprodução sexual resulta em um zigósporo. Ocorre reprodução assexuada através de esporângios. As hifas vegetativas apresentam septos esparsos. Exemplos: *Rhizopus*, *Lichtheimia*, *Mucor*, *Cunninghamella*.

B. Filo *Ascomycota* (ascomicetos)

A reprodução sexual envolve um saco, ou asco, no interior do qual ocorrem cariogamia e meiose, produzindo ascósporos. A reprodução assexuada se dá através de conídios. Os ascomicetos apresentam hifas septadas. Exemplos: a maioria das leveduras patogênicas (*Saccharomyces* e *Candida*) e dos bolores (*Coccidioides*, *Blastomyces*, *Tricophyton*).

C. Filo *Basidiomycota* (basidiomicetos)

A reprodução sexual resulta na formação de hifas dicarióticas e quatro basidiósporos sustentados por um basídio em forma de clava. As hifas possuem septos completos. Exemplos: cogumelos, *Cryptococcus*.

CRESCIMENTO E ISOLAMENTO DOS FUNGOS

A maioria dos fungos é encontrada na natureza e cresce facilmente na presença de fontes simples de nitrogênio e carboidrato. O meio micológico tradicional, o ágar de Sabouraud, que contém glicose e peptona modificada (pH de 7,0), tem sido utilizado, visto que não favorece o crescimento de bactérias. As características morfológicas dos fungos utilizadas para sua identificação foram descritas com base no crescimento dos microrganismos em ágar de Sabouraud. Entretanto, outros meios de cultura, como ágar inibidor de bolores, facilitam o isolamento dos fungos de amostras clínicas. Para o cultivo de fungos clínicos a partir de amostras não estéreis, são adicionados antibióticos antibacterianos (p. ex., gentamicina, clo-ranfenicol) e cicloeximida aos meios para inibir as bactérias e bolores saprofíticos, respectivamente. As amostras utilizadas para o isolamento de fungos e outros meios empregados para seu isolamento são discutidos no Cap. 47.

MICOSES SUPERFICIAIS

Pitiríase versicolor

A pitiríase versicolor é uma infecção superficial leve e crônica do extrato córneo, causada por *Malassezia globosa*, *Malassezia restricta* e outros membros do complexo *Malassezia furfur*. Tanto a invasão da pele do extrato córneo quanto as respostas do hospedeiro são mínimas. Ocorrem máculas isoladas, serpiginosas, hiper ou hipopigmentadas na pele, geralmente no tórax, nas costas, nos braços ou no abdome. As lesões são crônicas e aparecem em forma de placas maculares de pele pigmentada que podem aumentar e coalescer, embora a descamação, a inflamação e a irritação sejam mínimas. Com efeito, essa condição comum representa, em grande parte, um problema estético.

As espécies de *M. furfur* são leveduras lipofílicas, e a maior parte exige a presença de lipídeos no meio para seu crescimento. O diagnóstico pode ser confirmado por exame microscópico direto de raspados da pele infectada, tratados com hidróxido de potássio (KOH) a 10 a 20% ou corados com calcofluorado branco. Observa-se a presença de hifas curtas não ramificadas e células esféricas. As lesões também fluorescem sob a lâmpada de Wood. A pitiríase versicolor é tratada com aplicações diárias de sulfeto de selênio. Os azóis tópicos ou orais também são

eficazes. Em situações raras, *Malassezia* pode causar fungemia oportunista em pacientes, geralmente lactentes, que recebem nutrição parenteral total, em decorrência de contaminação da emulsão de lipídeos. Na maioria dos casos, a fungemia é transitória e corrigida mediante a substituição do líquido e do cateter intravenoso. Alguns indivíduos desenvolvem foliculite causada por *Malassezia*. As espécies de *Malassezia* são consideradas partes da microbiota cutânea, podendo ser isoladas da pele e do couro cabeludo normais, tendo sido implicadas como causa ou fator contribuinte da dermatite seborreica, hipótese apoiada pela observação de que muitos casos são aliviados pelo tratamento com cetoconazol.

Tínea negra

A tínea negra (ou tínea negra palmar) é uma infecção superficial crônica e assintomática do estrato córneo, causada pelo fungo dematiáceo *Hortaea (Exophiala) werneckii*, mais prevalente em regiões costeiras quentes e entre mulheres jovens. As lesões aparecem com pigmentação escura (castanho-negra), frequentemente nas palmas das mãos. O exame microscópico de raspados da pele da periferia da lesão revela a presença de hifas septadas ramificadas e de células leveduriformes em brotamento, com paredes celulares melaninizadas. A tínea negra responde ao tratamento com soluções ceratolíticas, ácido salicílico ou antifúngicos azóis.

Piedra

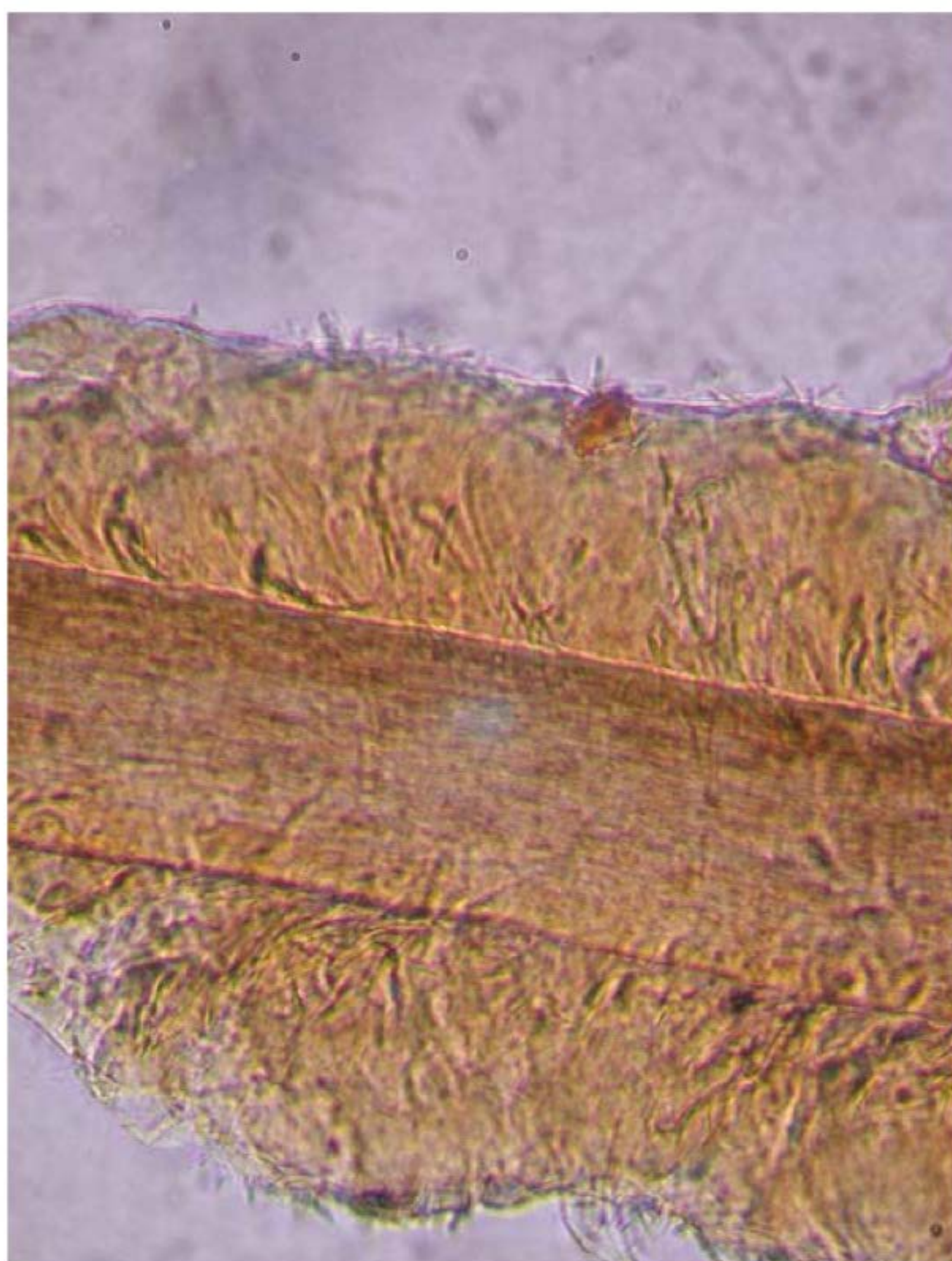
A *piedra* negra é uma infecção nodular dos fios de cabelo causada por *Piedraia hortae* (Fig. 45.9B). A *piedra* branca, decorrente da infecção por espécies de *Trichosporon*, manifesta-se em forma de nódulos amarelados maiores e de consistência

mais mole nos pelos (Fig. 45.9A). Os pelos axilares e púbicos, a barba e os cabelos podem ser infectados. O tratamento para ambos os tipos consiste na remoção dos pelos infectados e na aplicação de um agente antifúngico tópico. A *piedra* é endêmica em países tropicais.

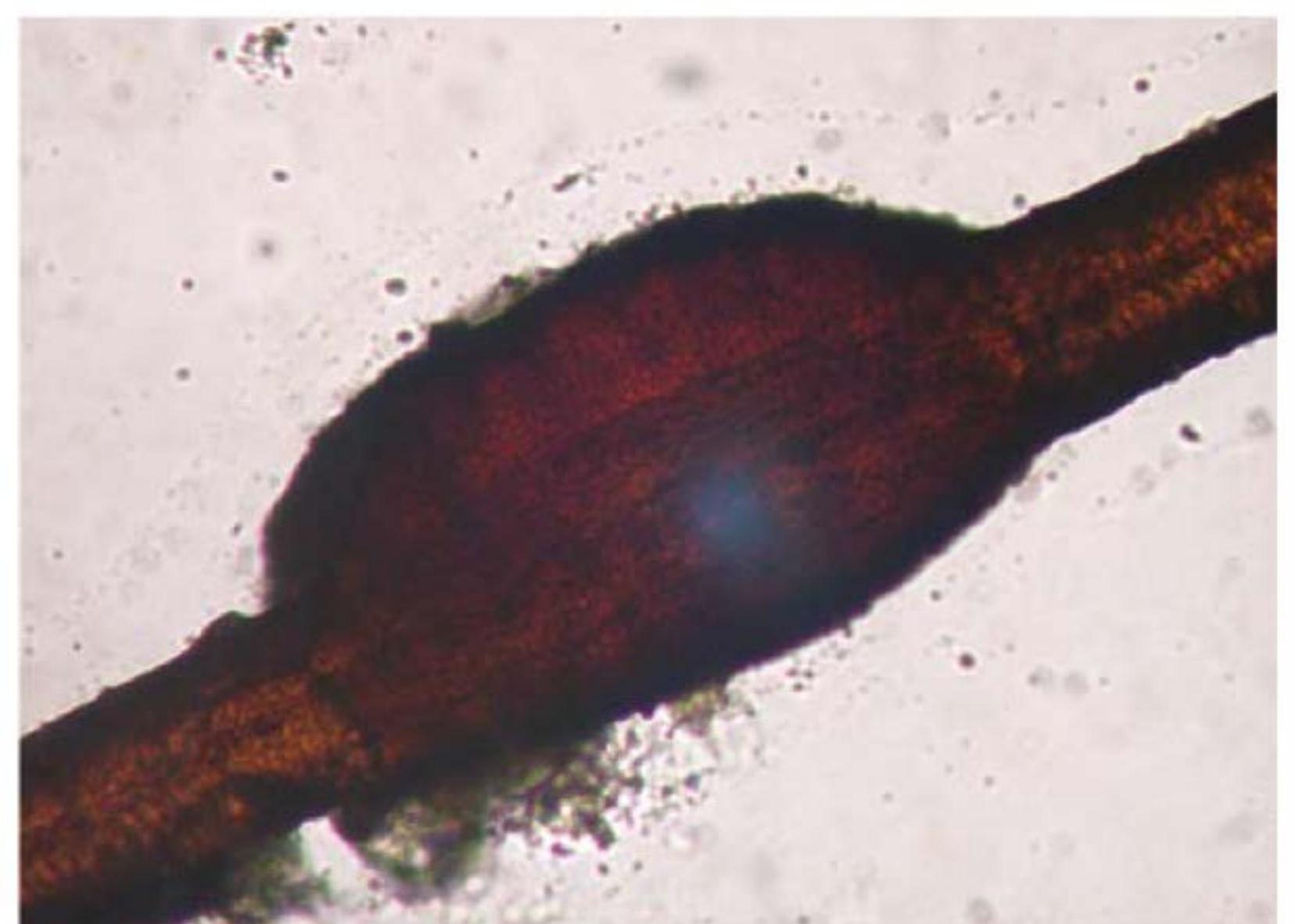
MICOSES CUTÂNEAS

Dermatofitoses

As micoses cutâneas são causadas por fungos que só infectam o tecido ceratinizado (pele, cabelos e unhas). Entre os fungos, os mais importantes são os dermatófitos, um grupo de cerca de 40 fungos relacionados que pertencem a três gêneros: *Microsporum*, *Trichophyton* e *Epidermophyton*. Os dermatófitos provavelmente limitam-se à pele não viável, visto que a maioria é incapaz de crescer a 37°C ou na presença de soro. As dermatofitoses estão entre as infecções mais prevalentes no mundo. Embora possam ser persistentes e incômodas, não se mostram debilitantes nem potencialmente fatais, embora anualmente sejam gastos bilhões de dólares no seu tratamento. Por serem superficiais, as infecções dermatófitas já eram reconhecidas na Antiguidade. Na pele, são diagnosticadas pela presença de hifas hialinas, septadas e ramificadas, ou cadeias de artroconídios. Em cultura, as várias espécies são estreitamente relacionadas, e sua identificação é frequentemente difícil. A espécie é determinada com base em diferenças sutis no aspecto das colônias e na morfologia microscópica, bem como em algumas exigências vitamínicas. Apesar de suas semelhanças na morfologia, nas necessidades nutricionais, nos antígenos de superfície e em outras características, muitas espécies desenvolveram várias ceratinases, elastases e outras enzimas que as tornam específicas do hospedeiro. A identificação



A



B

FIGURA 45.9 Piedra. (A) Cabelo com *piedra* branca e nódulo devido ao crescimento de *Trichosporon*. Ampliada 200 vezes. (B) Cabelo com *piedra* negra e sólido nódulo escuro causado pelo crescimento de um bolor demáceo, *Hortaea werneckii*. Ampliada 200 vezes.

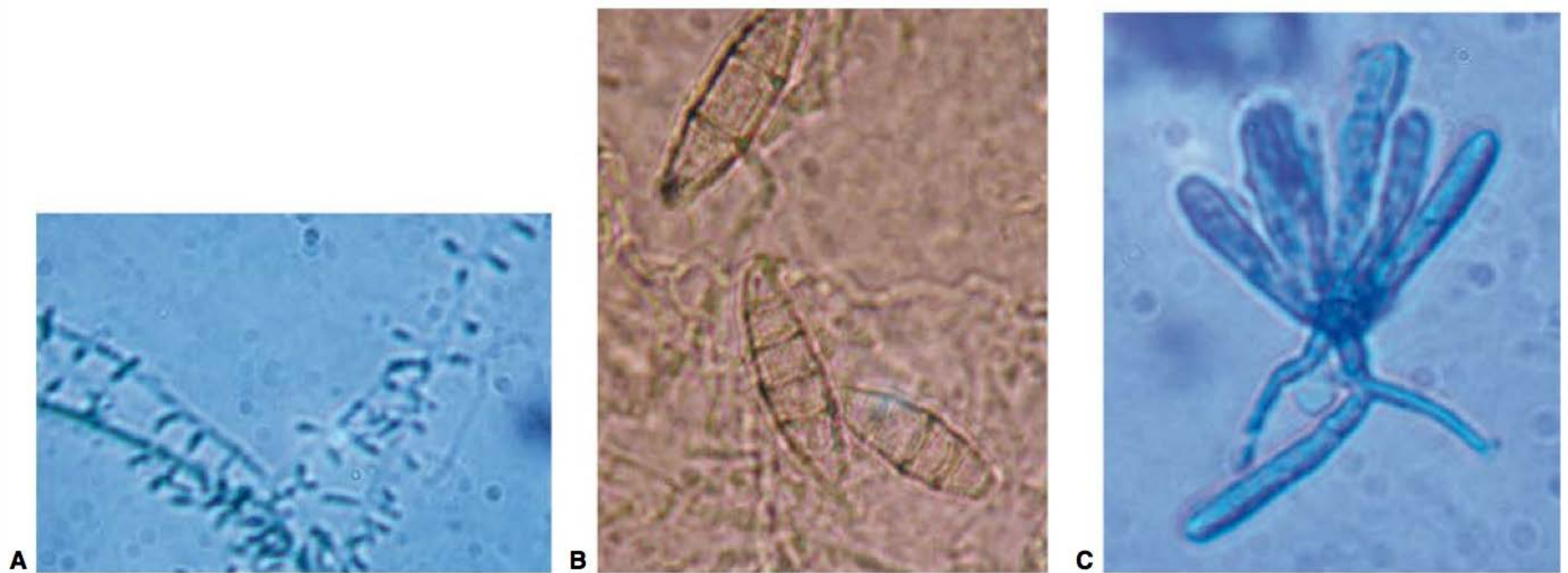


FIGURA 45.10 Exemplos de três gêneros de dermatófitos. (A) *Trichophyton tonsurans* caracteriza-se pela produção de um microconídio alongado ligado a uma hifa de sustentação. (B) *Microsporum gypseum* produz macroconídios individuais, finos e de parede rugosa. (C) *Epidermophyton floccosum* possui macroconídios em forma de bastão e de parede fina e lisa que aparecem tipicamente em pequenos aglomerados.

de amostras intimamente relacionadas e de amostras associadas a surtos foi enormemente facilitada pela análise da sequência de DNA. Em algumas espécies de dermatófitos, foi identificado um estado reprodutivo sexuado, e todos os dermatófitos com uma forma sexuada produzem ascósporos e pertencem ao gênero telemórfico *Arthroderma*.

Os dermatófitos são classificados como geofílicos, zoofílicos ou antropílicos, dependendo de o *habitat* normal ser o solo, animais ou seres humanos. Vários dermatófitos que normalmente residem no solo ou estão associados a determinadas espécies animais ainda são capazes de provocar infecções em seres humanos. Em geral, quando uma espécie que habita o solo evolui para um hospedeiro animal específico ou humano, ela perde a capacidade de produzir conídios assexuados e de se reproduzir sexualmente. As espécies antropílicas, responsáveis pelo maior número de infecções humanas, causam infecções relativamente leves e crônicas em seres humanos, produzem poucos conídios em cultura e podem ser difíceis de erradicar. Já os dermatófitos geofílicos e zoofílicos, menos adaptados aos hospedeiros humanos, provocam mais infecções inflamatórias agudas, que tendem a sofrer resolução mais rápida. Os dermatófitos são adquiridos por contato com solo contaminado ou com animais ou seres humanos infectados.

Algumas espécies antropílicas têm distribuição geográfica restrita, enquanto outras, como *Epidermophyton floccosum*, *Trichophyton mentagrophytes* variante *interdigitale*, *Trichophyton rubrum* e *Trichophyton tonsurans*, são de distribuição mundial. A espécie geofílica mais comum que provoca infecções em seres humanos é o *Microsporum gypseum*. As espécies zoofílicas cosmopolitas (e seu hospedeiro natural) são o *Microsporum canis* (cães e gatos), *Microsporum gallinae* (aves domésticas), *Microsporum nanum* (suínos), *Trichophyton equinum* (equinos) e *Trichophyton verrucosum* (bovinos).

Morfologia e identificação

Os dermatófitos mais comuns são identificados pelo aspecto de suas colônias e pela morfologia microscópica após crescimento

durante 2 semanas a 25°C em ágar dextrose de Sabouraud. As espécies de *Trichophyton*, que podem infectar os cabelos, a pele ou as unhas, desenvolvem macroconídios cilíndricos de parede lisa e microconídios característicos (Fig. 45.10A). Dependendo da variedade, as colônias de *T. mentagrophytes* podem apresentar aspecto de algodão a granuloso; ambos os tipos exibem inúmeros agrupamentos de microconídios esféricos, semelhantes a cachos de uvas, nas ramificações terminais. Nos microrganismos isolados primários, é comum a observação de hifas espiraladas. A colônia típica do *T. rubrum* apresenta uma superfície branca com aspecto de algodão e um pigmento vermelho intenso não difusível quando observada do lado contrário. Os microconídios são pequenos e piriformes. O *T. tonsurans* forma uma colônia achatada, pulverulenta ou aveludada que se torna castanho-avermelhada do lado inverso; em sua maioria, os microconídios são alongados (Fig. 45.10A).

As espécies de *Microsporum* tendem a produzir macroconídios multicelulares distintos com paredes espinhosas (Fig. 45.10B). Ambos os tipos de conídio são produzidos isoladamente nesses gêneros. O *Microsporum canis* forma uma colônia com superfície algodonosa branca e cor amarela intensa do lado inverso; os macroconídios de parede espessa, com 8 a 15 células, frequentemente apresentam extremidades encurvadas ou em forma de gancho. O *Microsporum gypseum* forma uma colônia pulverulenta acastanhada e inúmeros macroconídios de parede delgada, com 4 a 6 células. As espécies de *Microsporum* só infectam os pelos e a pele.

O *Epidermophyton floccosum*, o único patógeno nesse gênero, só produz macroconídios claviformes, de parede lisa, com 2 a 4 células, que aparecem em pequenos agrupamentos (Fig. 45.10C). Em geral, as colônias são achatadas e de textura aveludada, com coloração castanha a verde-oliva. O *Epidermophyton floccosum* infecta a pele e as unhas, mas não os pelos.

Além da morfologia tanto macroscópica quanto microscópica, alguns testes nutricionais ou outros, como crescimento a 37°C ou perfuração dos pelos *in vitro*, mostram-se úteis na diferenciação de certas espécies. Isolados atípicos geralmente podem ser identificados por ensaios de PCR.

QUADRO 45.2 Algumas características clínicas das dermatofitoses

Doença cutânea	Localização das lesões	Manifestações clínicas	Fungos mais frequentemente responsáveis
Tínea do corpo (em forma de anel)	Pele lisa e glabra	Placas circulares com bordas vesiculadas e avermelhadas, bem como descamação central. Pruriginosas	<i>Trichophyton rubrum</i> , <i>Epidermophyton floccosum</i>
Tínea do pé (pé de atleta)	Espaços interdigitais nos pés de pessoas que usam sapatos	Aguda: pruriginosa, vesiculosa e vermelha. Crônica: pruriginosa, descamação e fissuras	<i>Trichophyton rubrum</i> , <i>Trichophyton mentagrophytes</i> , <i>Epidermophyton floccosum</i>
Tínea crural (coceira do jóquei)	Virilha	Lesão eritematosa na área intertriginosa. Pruriginosa	<i>Trichophyton rubrum</i> , <i>Trichophyton mentagrophytes</i> , <i>Epidermophyton floccosum</i>
Tínea da cabeça	Couro cabeludo. Endótrix: fungo no interior da haste do pelo. Ectótrix: fungo na superfície do cabelo	Placas circulares de alopecia com pontas de cabelo curtas ou pelos fraturados no interior do folículo piloso. Ocorrência rara de quérion. Os pelos infectados por <i>Microsporum fluorescem</i>	<i>Trichophyton mentagrophytes</i> , <i>Microsporum canis</i>
Tínea da barba	Pelos da barba	Lesão edematosa e eritematosa	<i>Trichophyton mentagrophytes</i>
Tínea da unha (onicomicose)	Unhas	Unhas espessadas ou com fragmentação distal; despigmentadas, sem brilho. Geralmente associadas à tínea do pé	<i>Trichophyton rubrum</i> , <i>Trichophyton mentagrophytes</i> , <i>Epidermophyton floccosum</i>
Dermatofítide (reação id)	Em geral nas superfícies laterais e flexoras dos dedos das mãos. Palmas. Qualquer local do corpo	Lesões vesiculares pruriginosas e com bolhas. Mais comumente associadas à tínea dos pés	Ausência de fungos na lesão. Pode tornar-se infectada secundariamente por bactérias

Epidemiologia e imunidade

As infecções causadas por dermatófitos surgem na pele após traumatismo e contato. Existem evidências de que a suscetibilidade do hospedeiro pode ser aumentada pela umidade, pelo calor, pela química específica da pele, pela composição do sebo e do suor, pela adolescência e por predisposição genética. A incidência é maior em climas quentes e úmidos, assim como em condições de aglomeração. Calçados favorecem o calor e a umidade, situação propícia à infecção dos pés. A fonte de infecção é o solo ou animais infectados no caso dos dermatófitos geofílicos e zoofílicos, respectivamente. As espécies antropofílicas podem ser transmitidas por contato direto ou fômites, como toalhas, roupas e chuveiros contaminados, bem como objetos semelhantes. Ao contrário de outras infecções fúngicas, os dermatófitos são contagiosos e frequentemente transmitidos pela exposição à pele descamada, unhas e cabelos contaminados por hifas ou conídios. Essas estruturas fúngicas podem permanecer viáveis por longo período nos fômites.

A **tricrofitina** é uma preparação antigênica não purificada que pode ser utilizada para se detectar a ocorrência de hipersensibilidade do tipo imediato ou tardio a antígenos de dermatófitos. Muitos pacientes que apresentam infecções não inflamatórias crônicas por dermatófitos exibem respostas imunológicas celulares deficientes ao antígeno do dermatófito. Com frequência, esses pacientes são atópicos e apresentam hipersensibilidade do tipo imediato assim como concentrações elevadas de IgE. No hospedeiro normal, a duração e a magnitude da imunidade à dermatofitose variam conforme o hospedeiro, o local e as espécies de fungo responsáveis pela infecção.

Manifestações clínicas

A infecção por dermatófitos era incorretamente denominada como micose ou tínea, devido à ocorrência de lesões circulares

elevadas e, por convenção, foi mantida essa terminologia. As formas clínicas baseiam-se no local de comprometimento. Uma única espécie é capaz de provocar mais de um tipo de infecção clínica. Já uma única forma clínica, como a tínea do corpo, pode ser causada por mais de uma espécie de dermatófito. O Quadro 45.2 lista as etiologias das manifestações clínicas mais comuns. Muito raramente, os pacientes imunocomprometidos podem desenvolver infecção sistêmica por dermatófito.

A. Tínea dos pés (pé de atleta)

A tínea dos pés (*tinea pedis*) é a mais prevalente das dermatofitoses. Em geral, ocorre como infecção crônica dos espaços interdigitais. Outras variedades são o tipo vesiculoso, o ulcerativo e o mocassim, com hiperqueratose das plantas dos pés. De início, ocorre prurido entre os dedos, e verifica-se o desenvolvimento de pequenas vesículas que sofrem ruptura, liberando um líquido fino. A pele dos espaços interdigitais torna-se macerada e descama, enquanto aparecem fendas propensas a infecção bacteriana secundária. Quando a infecção fúngica se torna crônica, a descamação e as fendas na pele constituem as principais manifestações, acompanhadas de dor e prurido.

B. Tínea das unhas (onicomicose)

A tínea dos pés, quando prolongada, pode ser acompanhada de infecção ungueal (*tinea unguium*). Com a invasão das hifas, as unhas tornam-se amarelas, quebradiças, espessas e friáveis. Uma ou mais das unhas dos pés ou das mãos podem ser acometidas.

C. Tínea do corpo, tínea crural e tínea da mão

A dermatofitose da pele glabra do corpo geralmente dá origem às lesões anulares da tínea, com uma área central clara e descamativa, circundada por uma borda avermelhada que avança e pode

ser seca ou vesiculosa (*tinea corporis*). Os dermatófitos só crescem em tecido ceratinizado morto, porém os metabólitos, as enzimas e os antígenos do fungo difundem-se através das camadas viáveis da epiderme, causando eritema, formação de vesículas e prurido. As infecções causadas por dermatófitos geofílicos e zoofílicos formam produtos mais irritantes e são mais inflamatórias do que as espécies antropofílicas. À medida que as hifas amadurecem, frequentemente formam cadeias de artroconídios. As lesões sofrem expansão centrífuga, e o crescimento ativo das hifas ocorre na periferia, a região mais provável para a coleta de material para diagnóstico. A penetração do fungo no extrato córneo recém-formado das superfícies plantares e palmares mais espessas é responsável pelas infecções persistentes nesses locais.

Quando a infecção ocorre na região da virilha, é denominada tinea crural (*tinea cruris*) ou “coceira do jóquei”. A maioria dessas infecções acomete homens e manifesta-se em forma de lesões secas e pruriginosas que frequentemente surgem no escroto e disseminam-se pela virilha. A tinea da mão ocorre nas mãos ou nos dedos. As lesões secas e descamativas podem afetar uma das ou ambas as mãos e um, dois ou mais dedos (*tinea manus*).

D. Tinea da cabeça e tinea da barba

A tinea da cabeça (*tinea capitis*) é a dermatofitose do couro cabeludo e dos cabelos. A infecção começa com a invasão da pele do couro cabeludo por hifas, com subsequente disseminação para a parede ceratinizada do folículo piloso. A infecção do couro cabeludo ocorre logo acima da raiz. As hifas crescem para baixo, na porção morta do cabelo e à mesma velocidade de crescimento do cabelo. A infecção resulta em placas circulares acinzentadas de alopecia, descamação e prurido. À medida que o cabelo cresce e sai do folículo, as hifas das espécies de *Microsporum* produzem uma cadeia de esporos que formam uma bainha ao redor da haste do cabelo (ectótrix), e que produzem uma fluorescência esverdeada a prateada quando os cabelos são examinados sob a lâmpada de Wood (365 nm). Por sua vez, o *T. tonsurans*, que constitui a principal causa da tinea de “pontos negros” do couro cabeludo, produz esporos no interior da haste do cabelo (endótrix). Esses cabelos não fluorescem; tornam-se fracos e tipicamente sofrem ruptura com facilidade no orifício folicular. Em crianças pré-puberais, a tinea do couro cabeludo epidêmica é habitualmente autolimitada.

As espécies zoofílicas podem induzir a uma grave reação inflamatória e de hipersensibilidade combinada, denominada **quérion**. Outra manifestação da tinea do couro cabeludo é o favo, uma infecção inflamatória aguda do folículo piloso causada pelo *T. schoenleinii*, que resulta na formação de escútulos (crostas) ao redor do folículo. Nos pelos com favo, as hifas não formam esporos, mas podem ser encontradas no interior da haste do cabelo. A tinea da barba (*tinea barbae*) afeta a região da barba. No caso de dermatófito zoofílico em particular, pode ocorrer uma reação altamente inflamatória, que se assemelha estreitamente à infecção piogênica.

E. Reação tricofítide

Durante a evolução da dermatofitose, o indivíduo pode tornar-se hipersensível a constituintes ou produtos do fungo, podendo desenvolver manifestações alérgicas, denominadas

dermatofítides (em geral, vesículas), em outras partes do corpo (mais frequentemente nas mãos). O teste cutâneo com tricofítina é acentuadamente positivo nesses indivíduos.

Exames diagnósticos laboratoriais

A. Amostras

As amostras consistem em raspados da pele e das unhas, juntamente com pelos ou cabelos arrancados das áreas afetadas. Os esporos ectótrix de *Microsporum* emitem fluorescência sob a lâmpada de Wood em ambiente escuro.

B. Exame microscópico

As amostras são colocadas em lâmina com uma gota de hidróxido de potássio a 10 a 20% com ou sem calcofluorado branco, um corante inespecífico da parede celular dos fungos, detectado com microscópio fluorescente. Coloca-se uma lamínula, e a amostra é examinada imediatamente e outra vez depois de 20 min. Na pele ou nas unhas, independentemente da espécie infectante, são observadas hifas ramificadas ou cadeias de artroconídios (artrósporos) (Fig. 45.11). Nos pelos, a maioria das espécies de *Microsporum* forma bainhas densas de esporos ao redor do pelo (ectótrix). O *T. tonsurans* e o *T. violaceum* são observados pela produção de artroconídios no interior da haste do cabelo (endótrix).

C. Cultura

A identificação da espécie de dermatófito exige a realização de culturas. As amostras são inoculadas em ágar inibidor de bolores ou ágar de Sabouraud inclinados contendo cicloeximida e cloranfenicol para suprimir o crescimento de bolores e bactérias; em seguida, são incubadas durante 1 a 3 semanas à temperatura ambiente e examinadas em culturas de lâmina, se necessário. As espécies são identificadas com base na morfologia das colônias (velocidade de crescimento, textura da superfície e presença de qualquer pigmentação), morfologia microscópica (macronídios, micronídios) e, em alguns casos, exigências nutricionais.

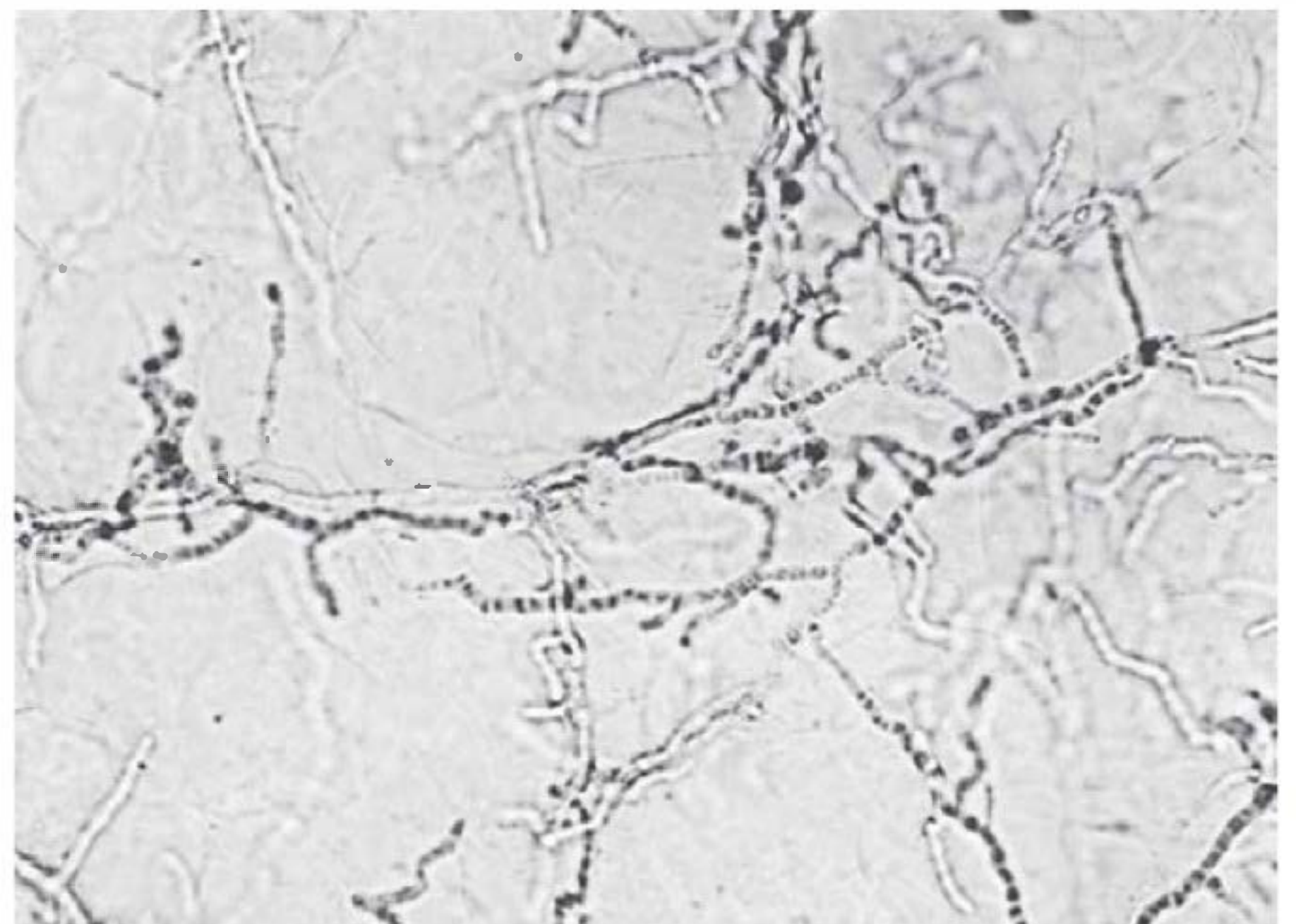


FIGURA 45.11 Dermatofitose. Microscopia da preparação com KOH de raspado cutâneo a partir da lesão micótica. As células epidérmicas são lisadas pelo KOH, revelando as ramificações das hifas septadas hialinas. 100X. (Reproduzida, com autorização, de Ryan KJ, Ray CG [editores]: *Sherris Medical Microbiology*, 5th ed. McGraw-Hill, 2010, Figure 41.6, p 700. © The McGraw-Hill Companies, Inc.)

Tratamento

A terapia consiste em remoção completa das estruturas epiteliais infectadas e mortas, assim como aplicação de antifúngico ou antibiótico tópico. Para evitar a reinfecção, a área deve ser mantida seca, evitando-se as fontes de infecção, como animais de estimação infectados ou locais de banho compartilhados.

A. Tínea da cabeça

As infecções do couro cabeludo são tratadas durante várias semanas com administração oral de griseofulvina ou terbinafina. O uso frequente de xampus e a aplicação de creme de miconazol ou outros antifúngicos tópicos podem ser eficazes quando efetuados durante várias semanas. Alternativamente, o cetoco-nazol e o itraconazol são muito eficazes.

B. Tínea do corpo, tínea dos pés e infecções relacionadas

Os fármacos mais eficazes são o itraconazol e a terbinafina. Entretanto, podem ser utilizadas diversas preparações tópicas, como nitrato de miconazol, tolnaftato e clotrimazol. Quando esses fármacos são aplicados durante pelo menos 2 a 4 semanas, as taxas de cura geralmente atingem 70 a 100%. O tratamento deve ser mantido durante 1 a 2 semanas após o desaparecimento das lesões. Para os casos problemáticos, pode-se administrar um tratamento de curta duração com griseofulvina oral.

C. Tínea da unha

As infecções das unhas são mais difíceis de tratar e, com frequência, exigem meses de tratamento com itraconazol ou terbinafina por via oral, bem como a remoção cirúrgica da unha. As recidivas são comuns.

VERIFICAÇÃO DE CONCEITOS: MICOSES SUPERFICIAIS E CUTÂNEAS

1. As micoses superficiais e cutâneas estão entre as doenças transmissíveis mais comuns.
2. A maioria das infecções fúngicas cutâneas e superficiais é causada pelas espécies de malassézias, dermatófitos ou *Candida* (discutido adiante).
3. O crescimento dos dermatófitos é favorecido pela presença de soro e pela temperatura corporal. Esses fungos raramente estão envolvidos em infecções invasivas.
4. Os dermatófitos zoofílicos e geofílicos causam inflamação aguda, que respondem a tratamento tópico dentro de algumas semanas e raramente há recidiva.
5. Os dermatófitos antropofílicos causam lesões crônicas e relativamente brandas, que podem necessitar de meses ou anos de tratamento e frequentemente há recidiva.

MICOSES SUBCUTÂNEAS

Os fungos que provocam micoses subcutâneas normalmente residem no solo ou na vegetação. Penetram na pele ou no tecido subcutâneo por inoculação traumática com material contaminado. Por exemplo, um corte superficial ou arranhões podem

introduzir um bolor ambiental com a habilidade de infectar a derme exposta. Em geral, as lesões tornam-se granulomatosas e expandem-se lentamente a partir da área da implantação. A disseminação pelos vasos linfáticos que drenam a lesão é lenta, exceto na esporotricose. Em geral, essas micoses limitam-se aos tecidos subcutâneos; todavia, em raros casos, tornam-se sistêmicas e causam doença potencialmente fatal.

ESPOROTRICOSE

O *Sporothrix schenckii* é um fungo termicamente dimórfico que vive em vegetações, associado a uma variedade de plantas — gramíneas, árvores, musgo esfagno, roseiras e outras horticulturas. À temperatura ambiente, cresce em forma de bolor, produzindo hifas septadas e ramificadas, bem como conídios; nos tecidos ou *in vitro* a 35 a 37°C, aparece como pequena levedura em brotamento. Após sua introdução traumática na pele, o *S. schenckii* provoca **esporotricose**, uma infecção granulomatosa crônica. Tipicamente, o episódio inicial é seguido de disseminação secundária, com o comprometimento dos vasos de drenagem linfáticos e linfonodos.

Morfologia e identificação

O *S. schenckii* cresce adequadamente em meios de ágar de rotina, e, à temperatura ambiente, as colônias jovens são de coloração negra e brilhantes, tornando-se enrugadas e felpudas com o envelhecimento. As cepas variam quanto à sua pigmentação, desde tonalidades de negro a acinzentadas e esbranquiçadas. O microrganismo produz hifas septadas e ramificadas, bem como pequenos conídios (3 a 5 µm) delicadamente agrupados nas extremidades dos conidióforos. Os microrganismos

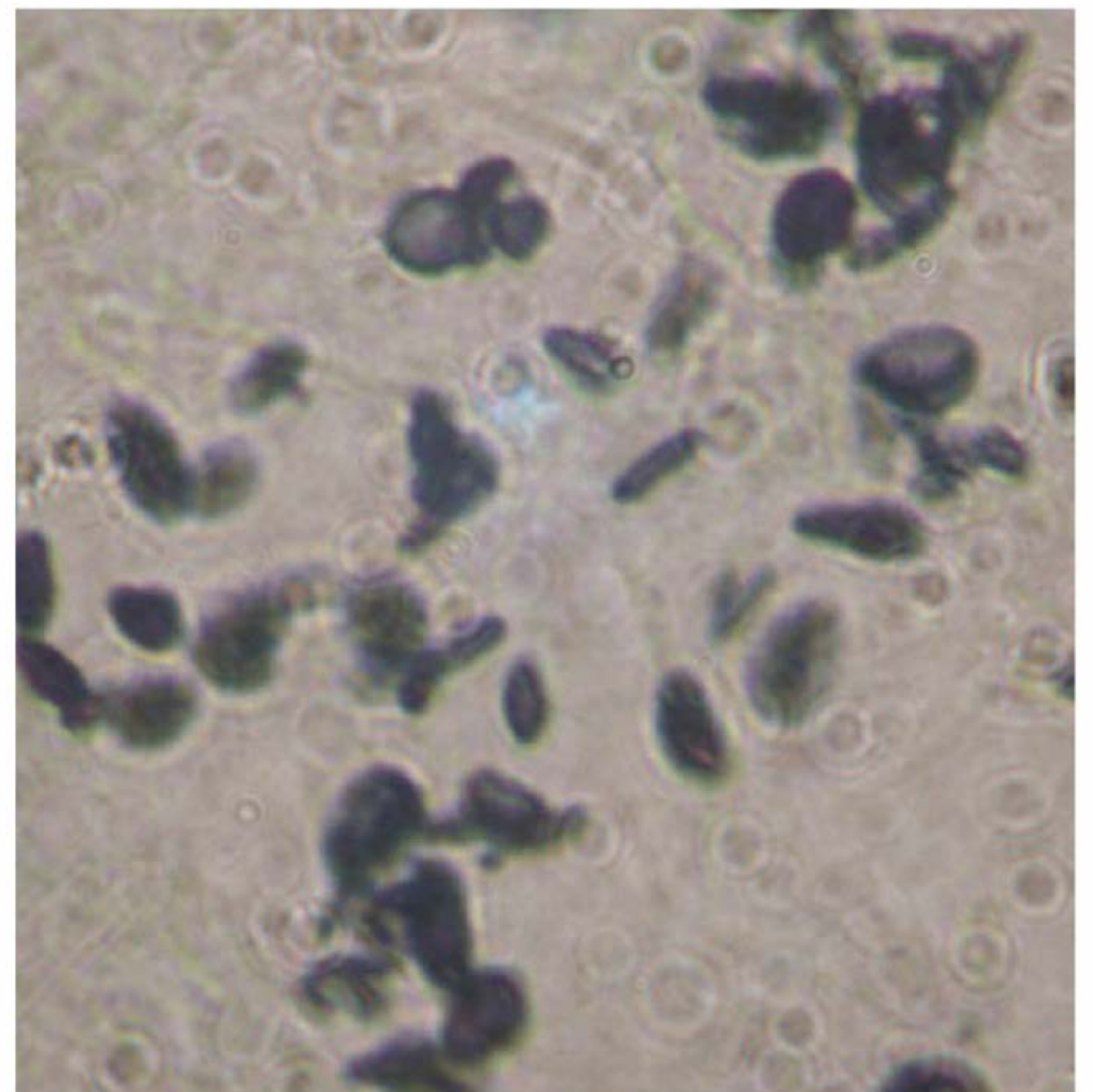


FIGURA 45.12 Esporotricose. Tecido cutâneo, revelando células de levedura esféricas (3 a 5µm), pequenas, com brotamentos alongados de *Sporothrix schenckii*, corados em preto com corante metenamiprato de Gomori (GMS). Ampliada 400 vezes.

isolados também podem formar conídios maiores diretamente a partir das hifas. O *S. schenckii* é termicamente dimórfico e, à temperatura de 35°C em meio enriquecido, cresce em forma de pequenas células leveduriformes em brotamento, de forma variável, porém frequentemente fusiforme (cerca de 1 a 3 × 3 a 10 µm), conforme ilustra a Figura 45.12.

Estrutura antigênica

As suspensões de culturas em solução salina mortas pelo calor ou frações de carboidrato (esporotriquina) produzem resultados positivos em testes cutâneos tardios efetuados em seres humanos ou animais infectados. Foram desenvolvidos diversos testes sorológicos, e a maioria dos pacientes, bem como alguns indivíduos normais, apresenta anticorpos específicos ou de reatividade cruzada.

Patogênese e manifestações clínicas

Os conídios ou fragmentos de hifas de *S. schenckii* são introduzidos na pele em decorrência de traumatismo. Com frequência, os pacientes relatam história de traumatismo geralmente associado a atividades externas e plantas. Em geral, a lesão inicial é observada nos membros, mas pode surgir em qualquer local (as crianças frequentemente apresentam lesões faciais). Cerca de 75% dos casos são linfocutâneos, isto é, a lesão inicial desenvolve-se em forma de nódulo granulomatoso que pode evoluir para lesão necrótica ou ulcerativa. Durante esse período, os vasos linfáticos de drenagem tornam-se espessos e semelhantes a uma corda. Ao longo dos vasos linfáticos, são observados vários nódulos subcutâneos e abscessos.

A esporotricose fixa consiste em um nódulo não linfático solitário, limitado e menos progressivo. A lesão fixa é mais comum em áreas endêmicas, como o México, onde há elevado nível de exposição e imunidade na população. A imunidade limita a propagação local da infecção.

Em geral, ocorre pouco comprometimento sistêmico associado a essas lesões, mas pode haver disseminação, particularmente em pacientes debilitados. Em raras ocasiões, ocorre esporotricose pulmonar primária em consequência da inalação de conídios, manifestação que imita a tuberculose cavitária crônica e tende a ocorrer em pacientes com comprometimento da imunidade celular.

Exames diagnósticos laboratoriais

A. Amostras

Consistem em material de biópsia ou exsudato de lesões granulomatosas ou ulcerativas.

B. Exame microscópico

Embora as amostras possam ser examinadas diretamente com KOH ou corante calcofluorado branco, observa-se raramente a presença de leveduras. Mesmo que estejam dispersas no tecido, a sensibilidade dos cortes histopatológicos aumenta com o uso de corantes de rotina para paredes celulares fúngicas, como a metenamina-prata de Gomori, que cora a parede celular de negro, ou o ácido periódico de Schiff, que confere uma coloração vermelha às paredes celulares. Como alternativa, o fungo pode

ser identificado por coloração com anticorpo fluorescente. As leveduras são esféricas a alongadas, com diâmetro de 3 a 5 µm.

Outra estrutura, denominada corpúsculo asteroide, é frequentemente observada em amostras de tecido, sobretudo em áreas endêmicas, como o México, a África do Sul e o Japão. No tecido corado por hematoxilina e eosina, o corpúsculo asteroide consiste em uma célula leveduriforme basofílica central, circundada por extensões de material eosinofílico que se irradiam e que consistem em deposições de complexos de antígeno-anticorpo e complemento.

C. Cultura

Constitui o método mais confiável para o estabelecimento do diagnóstico. As amostras são semeadas em ágar inibidor de bolores ou em ágar de Sabouraud contendo antibióticos antibacterianos e incubadas a 25 a 30°C. A identificação é confirmada pelo crescimento do fungo a 35°C e sua conversão à forma de levedura.

D. Sorologia

Altos títulos de anticorpos aglutinantes para suspensões de células leveduriformes, ou para partículas de látex recobertas com antígeno são detectados no soro de pacientes infectados. Contudo, esses testes geralmente não são úteis, pois os títulos elevados não ocorrem no início do curso da doença. Além disso, indivíduos não infectados ou previamente expostos podem apresentar resultados falso-positivos.

Tratamento

Em alguns casos, a infecção é autolimitada. Embora a administração oral de solução saturada de iodeto de potássio em leite seja muito eficaz, dificilmente é tolerada por muitos pacientes. O tratamento de escolha consiste em itraconazol por via oral ou outro azol. Na presença de doença sistêmica, administra-se anfotericina B.

Epidemiologia e controle

O *S. schenckii* apresenta distribuição mundial, ocorrendo em estreita associação com plantas. Assim, por exemplo, os casos relatados foram associados a contato com musgo esfagno, espinhos de rosas, madeira em decomposição, palha, gramíneas e outras vegetações. Cerca de 75% dos casos são observados em homens devido à maior exposição ou a uma diferença na suscetibilidade ligada ao X. A incidência é maior entre pessoas que trabalham na agricultura, e a esporotricose é considerada um risco ocupacional para guardas-florestais, horticultores e indivíduos que têm ocupações semelhantes. A prevenção inclui medidas destinadas a minimizar a inoculação acidental, bem como o uso de fungicidas, quando apropriado, para o tratamento das madeiras. Os animais também são suscetíveis à esporotricose.

CROMBLASTOMICOSE

A cromblastomicose (cromomicose) é uma infecção micótica subcutânea, geralmente causada por inoculação traumática de qualquer um dos cinco agentes fúngicos reconhecidos, que residem no solo ou em vegetações. Todos são fungos demácios, com paredes celulares melanizadas: *Phialophora verrucosa*,

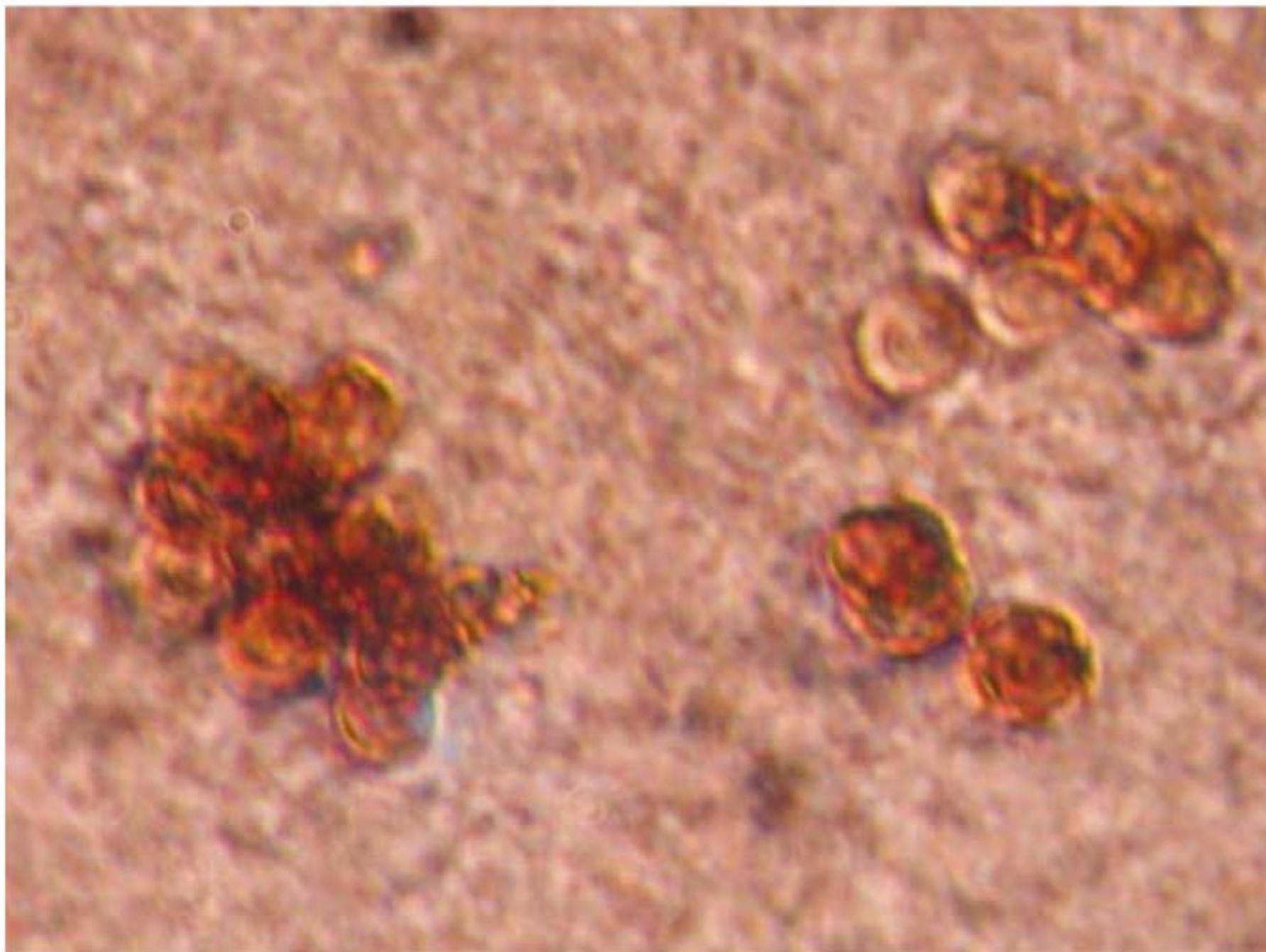


FIGURA 45.13 Cromomicose. Células escleróticas (4 a 12 μm de diâmetro) melanizadas diagnósticas estão evidentes nesta biópsia cutânea corada com HE. Ampliada 400 vezes.

Fonsecaea pedrosoi, *Fonsecaea compacta*, *Rhinocladiella aquaspersa*, e *Cladophialophora carrionii*. A infecção é crônica e caracteriza-se pelo desenvolvimento lento de lesões granulomatosas progressivas que, com o decorrer do tempo, induzem hiperplasia do tecido epidérmico.

Morfologia e identificação

Os fungos demácios assemelham-se na sua pigmentação, na estrutura antigênica, na morfologia e nas propriedades fisiológicas. As colônias são compactas, de coloração acastanhado-escura a negra, e exibem uma superfície aveludada e frequentemente enrugada. Os agentes responsáveis pela cromoblastomicose são identificados com base na formação dos conídios. Nos tecidos, exibem aspecto semelhante, produzindo células esféricas de coloração marrom (com diâmetro de 4 a 12 μm), denominadas corpúsculos muriformes ou escleróticos, que se dividem por septação transversa. A forma de septos em diferentes planos com separação tardia pode dar origem a um aglomerado de 4 a 8 células (Fig. 45.13). As células no interior das crostas superficiais ou exsudatos podem germinar, produzindo hifas septadas e ramificadas.

A. *Phialophora verrucosa*

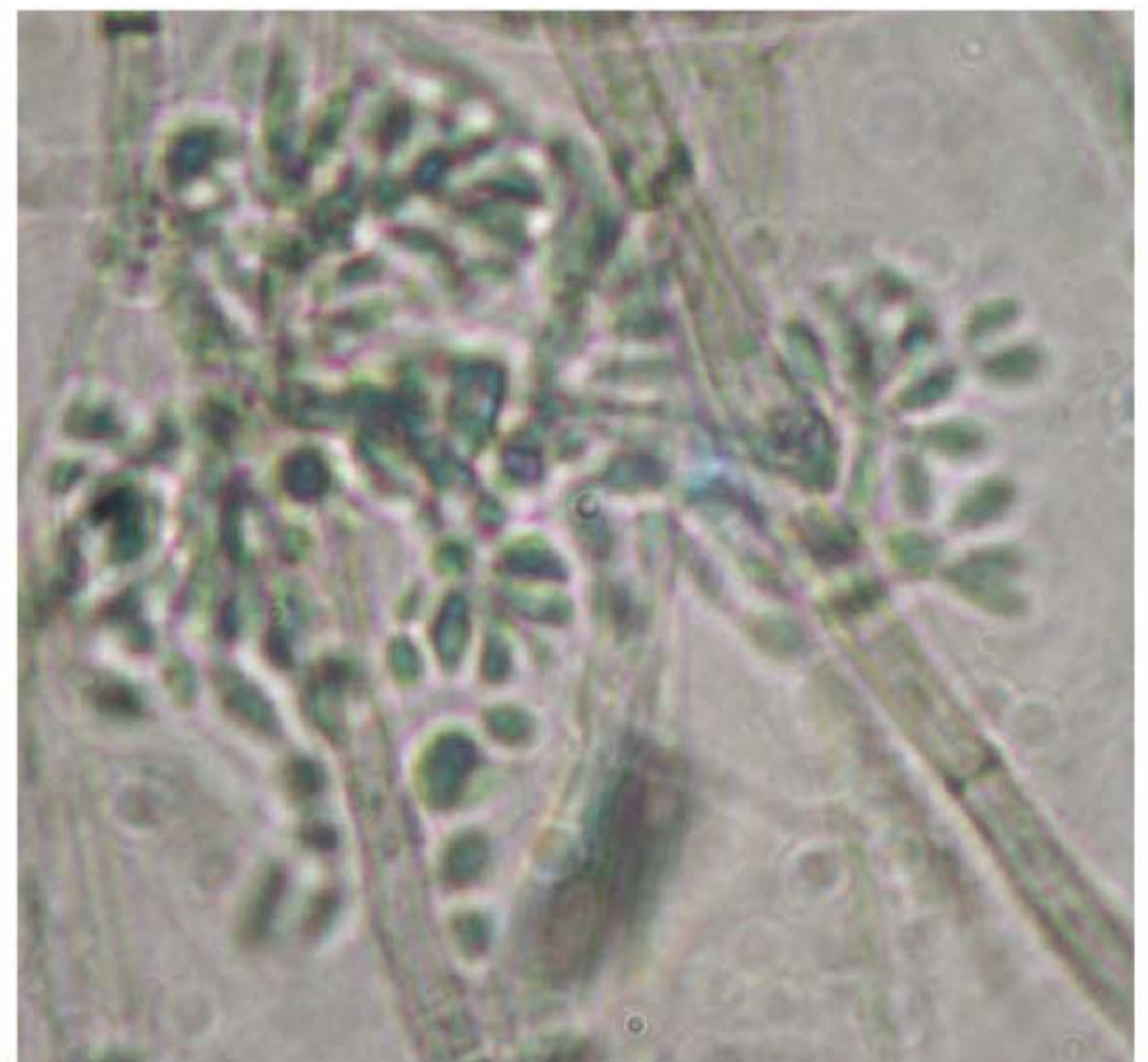
Os conídios são produzidos por fiálides em forma de frasco, tendo colos em forma de taça. Os conídios maduros, que são esféricos a ovais, são expelidos da fiálide, e em geral acumulam-se ao seu redor (Fig. 45.14A).

B. *Fonsecaea pedrosoi*

Fonsecaea é um gênero polimórfico. Os organismos isolados podem exibir (1) fiálides; (2) cadeias de blastoconídios, semelhantes às das espécies de *Cladosporium*; ou (3) formação de conídios simpodiais tipo *Rhinocladiella*. A maioria das cepas da *F. pedrosoi* forma cadeias curtas ramificadas de blastoconídios bem como conídios simpodiais (Fig. 45.14B).



A



B

FIGURA 45.14 Identificação de conídios produzidos em cultura por dois dos agentes mais comuns da cromomicose. (A) *Phialophora verrucosa* produz conídio a partir das fiálides em forma de vaso, com colaretes. Ampliada 1.000 vezes. (B) *Fonsecaea pedrosoi* geralmente apresenta cadeias ramificadas curtas de blastoconídios, bem como outros tipos de conidiogênese. Ampliada 1.000 vezes.

C. *Fonsecaea compacta*

Os blastoconídios produzidos por *F. compacta* são quase esféricos e dotados de uma base ampla que conecta os conídios. Essas estruturas são menores e mais compactas do que as da *F. pedrosoi*.

D. *Rhinocladiella aquaspersa*

Essa espécie produz conídios laterais ou terminais, a partir de uma célula conidiógena por um processo simpodial. Os conídios são elípticos ou em forma de clava.

E. *Cladophialophora (Cladosporium) carrionii*

As espécies de *Cladophialophora* e *Cladosporium* produzem cadeias ramificadas de conídios por brotamento distal (acropétalo). O conídio terminal de uma cadeia dá origem ao conídio seguinte por um processo de brotamento. As espécies são identificadas em virtude de diferenças no comprimento das cadeias, na forma e no tamanho dos conídios. O *C. carrionii* produz conidióforos alongados com longas cadeias ramificadas de conídios ovais.

Patogênese e manifestações clínicas

Os fungos são introduzidos na pele em decorrência de traumatismo, frequentemente nas pernas ou nos pés expostos. No decorrer de vários meses a anos, a lesão primária torna-se verrucosa, estendendo-se ao longo dos vasos linfáticos que drenam a área. Por fim, a área fica coberta de nódulos semelhantes a uma couve-flor, com abscessos crostosos. Na superfície verrucosa, são observadas pequenas ulcerações ou “pontos negros” de material hemopurulento. Em raras ocasiões, pode ocorrer elefantíase em consequência de infecção secundária, obstrução e fibrose dos canais linfáticos. A disseminação para outras partes do corpo é muito rara, embora possam ocorrer lesões-satélites devido a propagação linfática local ou a autoinoculação. Histologicamente, as lesões são granulomatosas, podendo ser observados corpúsculos escleróticos escuros no interior dos leucócitos ou de células gigantes.

Exames diagnósticos laboratoriais

Os raspados ou biópsias são colocados em KOH a 10% e examinados ao microscópio à procura de células esféricas e escuras. A detecção dos corpúsculos escleróticos é diagnóstica de cromoblastomicose independentemente do agente etiológico. Os cortes histológicos revelam a presença de granulomas e extensa hiperplasia do tecido dérmico.

As amostras devem ser cultivadas em ágar inibidor de bolores ou em ágar de Sabouraud com antibióticos. A espécie demácia é identificada pelas suas estruturas características de conídios, conforme foi descrito anteriormente. Existem bolores demácios saprofitos semelhantes; todavia, diferem das espécies patogênicas pela sua incapacidade de crescer a 37°C e a capacidade de digerir gelatina.

Tratamento

A excisão cirúrgica com amplas margens constitui o tratamento de escolha para as lesões pequenas. A quimioterapia com flucitosina ou itraconazol pode ser eficaz para as lesões maiores. A aplicação local de calor também é benéfica. É comum a ocorrência de recidiva.

Epidemiologia

A cromoblastomicose ocorre principalmente nos trópicos. Os fungos são saprófitas na natureza, ocorrendo provavelmente na vegetação e no solo. A doença afeta principalmente as pernas de pessoas que trabalham em fazendas com os pés descalços, após a introdução traumática do fungo. A cromoblastomicose não é contagiosa. O uso de calçados e a proteção das pernas provavelmente devem evitar a infecção.

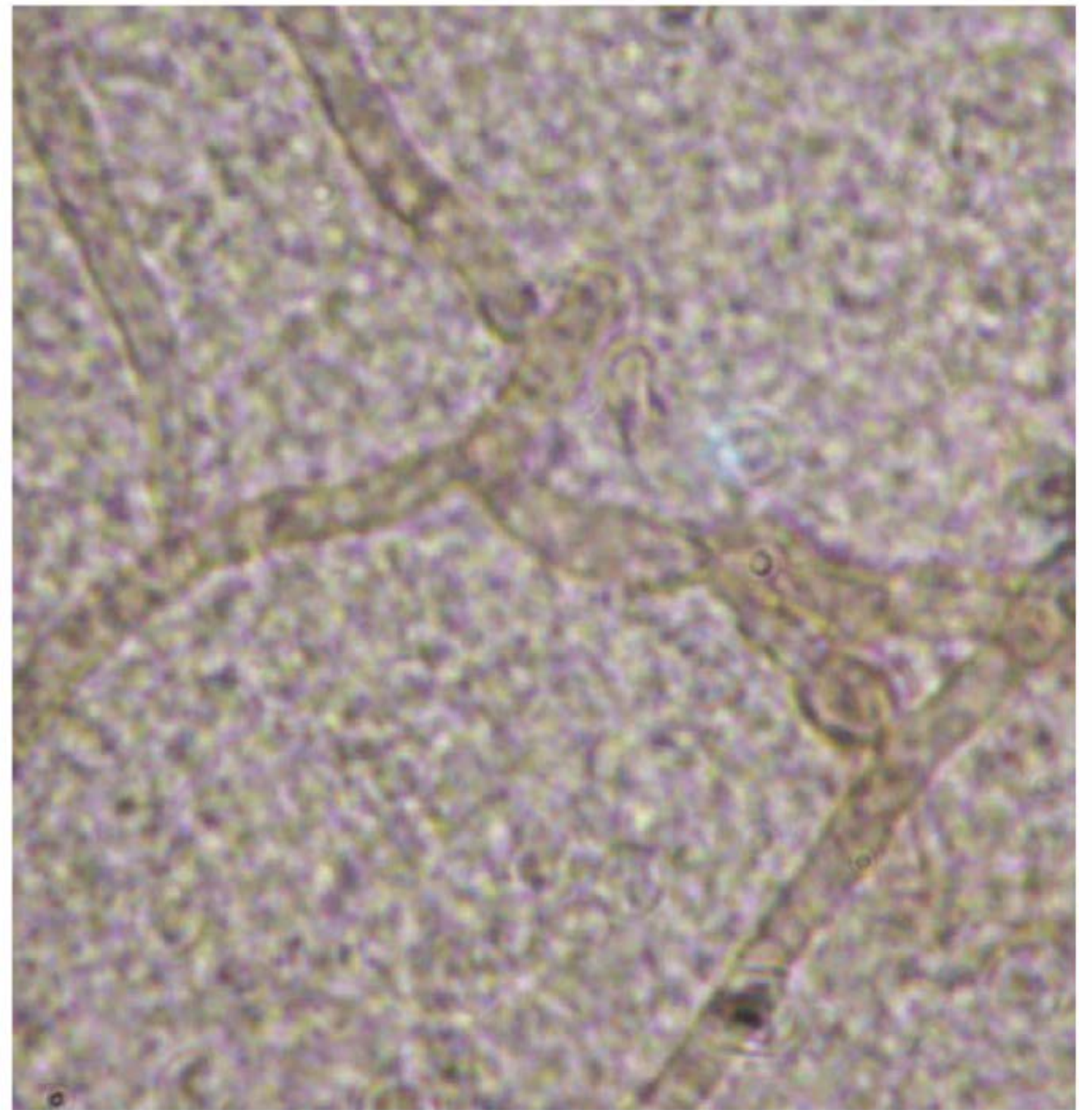


FIGURA 45.15 Feoifomicose. Hifas melaninizadas são observadas no tecido. Ampliada 400 vezes.

FEOIFOMICOSE

Feoifomicose é um termo aplicado para definir infecções caracterizadas pela presença de hifas septadas e de pigmentação escura em tecidos. Foram descritas infecções tanto cutâneas quanto sistêmicas. As formas clínicas variam desde cistos encapsulados solitários no tecido subcutâneo até sinusite e abscessos cerebrais. Mais de 100 espécies de bolores demácios foram associadas a vários tipos de infecção feoifomicótica. Todos são bolores exógenos que normalmente existem na natureza. Algumas das causas mais comuns da feoifomicose subcutânea são *Exophiala jeanselmei*, *Phialophora richardsiae*, *Bipolaris spicifera* e *Wangiella dermatitidis*. Tais espécies, bem como outras (p. ex., *Exserohilum rostratum*, espécies de *Alternaria* e de *Curvularia*), também podem ser implicadas na feoifomicose sistêmica. A incidência de feoifomicose e a variedade de patógenos aumentaram nos últimos anos em pacientes tanto imunocompetentes quanto imunocomprometidos.

Nos tecidos, as hifas são grandes (com 5 a 10 μm de diâmetro) e frequentemente deformadas, podendo ser acompanhadas de células leveduriformes; entretanto, essas estruturas podem ser diferenciadas de outros fungos pela presença de melanina nas paredes celulares (Fig. 45.15). As amostras são cultivadas em meios de rotina para fungos, a fim de se identificar o agente etiológico. Em geral, o fármaco de escolha para a feoifomicose subcutânea é itraconazol ou flucitosina. Os abscessos cerebrais são geralmente fatais; entretanto, quando identificados, devem ser tratados com anfotericina B e cirurgia. A principal causa da feoifomicose cerebral é a *Cladophialophora bantiana*.

MICETOMA

O micetoma é uma infecção subcutânea crônica induzida por inoculação traumática de várias espécies saprofitas de fungos

ou actinomicetos normalmente encontradas no solo. As manifestações clínicas que definem o micetoma consistem em edema local do tecido infectado com aparecimento de seios de drenagem, sinusite ou fistulas que contêm grânulos. Esses grânulos consistem em microcolônias do agente mergulhadas no material histológico. O **actinomicetoma** é um micetoma causado por actinomiceto, enquanto o **eumicetoma** (maduromicose, pé de Madura) é um micetoma causado por fungo. A história natural e as manifestações clínicas de ambos os tipos de micetoma são semelhantes, porém os actinomicetomas podem ser mais invasivos, disseminando-se do tecido subcutâneo para o músculo subjacente. Naturalmente, a terapia é diferente. O micetoma tem distribuição mundial, porém é observado em pessoas pobres que residem em áreas tropicais e usam roupas menos protetoras. Ocorre apenas esporadicamente fora dos trópicos, porém exibe prevalência particular na Índia, África e América Latina. Os actinomicetomas são discutidos no Capítulo 12.

Morfologia e identificação

Os agentes que causam o micetoma incluem, entre outros, *Pseudallescheria boydii* (anamorfa, *Scedosporium apiospermum*), *Madurella mycetomatis*, *Madurella grisea*, *Exophiala jeanselmei* e *Acremonium falciforme*. Nos EUA, a espécie prevalente é *P. boydii*, que é homotática e tem a capacidade de produzir ascósporos em cultura. A *E. jeanselmei* e as espécies de *Madurella* são bolores demácios e identificados primariamente pelo modo de formação dos conídios. A *P. boydii* também pode causar pseudolesqueríase, infecção sistêmica observada em pacientes imunocomprometidos.

Nos tecidos, os grânulos de micetoma podem atingir até 2 mm de tamanho. A cor dos grânulos pode fornecer informações sobre o agente etiológico. Assim, por exemplo, os grânulos do micetoma causado por *P. boydii* e *A. falciforme* são brancos, enquanto os da *M. grisea* e *E. jeanselmei* são negros, e o *M. mycetomatis* produz grânulos vermelho-escuros a negros. Esses grânulos são de consistência dura e contêm hifas septadas entrelaçadas (com 3 a 5 µm de largura). Tipicamente, as hifas são deformadas e aumentadas na periferia do grânulo.

Patogênese e manifestações clínicas

Verifica-se o desenvolvimento de micetoma após a inoculação traumática de solo contaminado com um dos agentes etiológicos. Os tecidos subcutâneos dos pés, dos membros inferiores, das mãos e áreas expostas são mais frequentemente acometidos. Qualquer que seja o agente etiológico, a patologia caracteriza-se por supuração, formação de abscessos granulomatosos e o aparecimento de seios de drenagem que contêm grânulos. Tal processo pode sofrer disseminação para o músculo e o osso contíguos. As lesões sem tratamento persistem por vários anos e estendem-se mais profundamente e na periferia, provocando deformidade e perda da função.

Em casos muito raros, *P. boydii* pode disseminar-se no hospedeiro imunocomprometido ou provocar infecção de corpo estranho (p. ex., marca-passo cardíaco).

Exames diagnósticos laboratoriais

Os grânulos podem ser removidos do pus ou do material de biópsia para exame e cultura em meios apropriados. A cor, a

textura e o tamanho dos grânulos, bem como a presença de hifas hialinas ou pigmentadas (ou de bactérias) são úteis para se estabelecer o agente causador. Os micetomas que drenam estão frequentemente superinfectados por estafilococos e estreptococos.

Tratamento

O tratamento do eumicetoma é difícil, consistindo em desbridamento ou excisão cirúrgica e quimioterapia. A infecção por *P. boydii* pode ser tratada com nistatina ou miconazol tópicos. Pode-se recomendar o uso de itraconazol, cetoconazol e mesmo anfotericina B para infecções causadas por *Madurella*, enquanto a flucitosina está indicada para *E. jeanselmei*. Os quimioterápicos devem ser administrados por longos períodos para que haja penetração adequada nessas lesões.

Epidemiologia e controle

Os microrganismos que causam o micetoma são encontrados no solo e na vegetação. Por conseguinte, as pessoas que trabalham em fazendas com os pés descalços são comumente expostas. A limpeza adequada das feridas e o uso de sapatos constituem medidas de controle razoáveis.

VERIFICAÇÃO DE CONCEITOS: MICOSES SUBCUTÂNEAS

1. As micoses subcutâneas podem ser causadas por dezenas de fungos filamentosos (bolores) ambientais associados a vegetais e ao solo.
2. Essas infecções são geralmente adquiridas após pequenos cortes ou arranhões, introduzindo solo ou *debris* de plantas (p. ex. lascas e espinhos) contendo o fungo patogênico. A infecção subsequente é crônica e raramente se dissemina para tecidos mais profundos.
3. O *Sporothrix schenckii*, o agente etiológico da esporotricose, é um fungo dimórfico que apresenta crescimento hifal, mas no hospedeiro adquire um crescimento leveduriforme.
4. O diagnóstico das cromoblastomicoses se dá por observação microscópica dos tecidos, exibindo aspecto semelhante e produzindo células de coloração dos corpúsculos escleróticos esféricos e amarronzados (melanizados) no interior das lesões.
5. O diagnóstico das feoifomicoses é a presença de hifas septadas amarronzadas (melanizadas) no interior das lesões.
6. A característica típica de um micetoma é o edema localizado e a formação de fistulas que contêm grânulos compostos por hifas e tecido inflamatório (macrófagos, fibrina)

MICOSES ENDÊMICAS

As quatro principais micoses (dimórficas) sistêmicas — coccidioidomicose, histoplasmose, blastomicose e paracoccidioidomicose — limitam-se geograficamente a áreas específicas de endemicidade. Os fungos que provocam a coccidioidomicose e histoplasmose são encontrados na natureza, em solo seco ou misturado com guano, respectivamente. Acredita-se que os agentes da blastomicose e da paracoccidioidomicose sejam encontrados na natureza,

QUADRO 45.3 Resumo das micoses endêmicas^a

Micose	Etiologia	Ecologia	Distribuição geográfica	Forma tecidual
Histoplasmose	<i>Histoplasma capsulatum</i>	Morcegos e habitats aviários (guano), solo alcalino	Global; endêmica nos vales dos rios Ohio, Missouri e Mississippi; África Central (var. <i>duboisii</i>)	Leveduras ovais, 2 × 4 μm, intracelular em macrófagos
Coccidioidomicose	<i>Coccidioides posadasii</i> ou <i>Coccidioides immitis</i>	Solo, roedores	Regiões semiáridas do sudoeste dos EUA, México, Américas Central e do Sul	Esférulas, 10 a 80 μm, contendo endósporos, 2 a 4 μm
Blastomicose	<i>Blastomyces dermatitidis</i>	Desconhecido (leito dos rios?)	Vales dos rios Mississippi, Ohio e St. Lawrence; sudeste dos EUA	Leveduras de paredes espessas com bases amplas, geralmente únicas, com brotamentos, 8 a 15 μm
Paracoccidioidomicose	<i>Paracoccidioides brasiliensis</i>	Desconhecido (solo?)	Américas Central e do Sul	Múltiplas leveduras com brotamento, grande, 15 a 30 μm

^aTodas as quatro micoses endêmicas são causadas por fungos dimórficos que residem na natureza em forma de bolores, produzindo hifas hialinas septadas e conídios característicos. A infecção é adquirida por inalação de conídios. Com exceção da blastomicose, as evidências apontam para uma alta taxa de infecção nas regiões endêmicas. Mais de 90% das infecções ocorrem em indivíduos imunocompetentes, 75 a 90% em homens e 60 a 95% são assintomáticas e autolimitadas ou latentes. A doença sintomática ocorre frequentemente em pacientes imunocomprometidos, inclusive aqueles com HIV/Aids.

embora seus habitats não tenham sido claramente estabelecidos. Cada uma dessas micoses é causada por um fungo teoricamente dimórfico, e as infecções começam, em sua maioria, nos pulmões, após a inalação dos respectivos conídios. A maioria das infecções é assintomática ou branda, se resolvendo sem tratamento específico. Contudo, um pequeno número de indivíduos desenvolvem infecções pulmonares que podem se disseminar para outros órgãos. Com raras exceções, essas micoses não são transmissíveis entre seres humanos e outros animais. O Quadro 45.3 traz um resumo e uma comparação de algumas das características essenciais de tais micoses sistêmicas ou profundas.

Para todas essas infecções, as defesas primárias do hospedeiro são exercidas pelos macrófagos alveolares, geralmente capazes de inativar as conídias e induzir uma resposta imunológica expressiva. Este processo leva tipicamente a uma inflamação granulomatosa bem como à produção de anticorpos e imunidade mediada por células. A indução de citocinas Th1 (p. ex., interleucina iIL-12, interferon-IFN-γ, fator de necrose tumoral TNF-α) irá amplificar as defesas celulares, ativando os macrófagos e aumentando sua atividade fungicida. Em hospedeiros imunocompetentes, essas respostas levam à resolução de lesões inflamatórias. Entretanto, granulomas residuais podem reter microrganismos dormentes com potencial para reativações subsequentes, constituindo uma forma latente da doença. Em áreas endêmicas para esses fungos, a maioria das infecções ocorre em indivíduos imunocomprometidos, mas as pessoas com a imunidade celular prejudicada, como os pacientes com HIV/Aids, correm maior risco de contrair infecções graves. As amostras mais patogênicas exibem uma grande variação em testes de patogenicidade realizados em laboratório. Nos agentes de micoses endêmicas, a virulência está associada à presença de α-glucana na parede celular, possivelmente por mascarar os padrões moleculares associados ao patógeno que desencadeiam uma resposta imune protetiva.

COCCIDIOIDOMICOSE

As coccidioidomicoses são causadas pelo *Coccidioides posadasii* ou pelo *Coccidioides immitis*. Esses fungos filogeneticamente

próximos são identificados por análise genotípica e filogenética. Contudo, esses fungos são fenotipicamente indistinguíveis, causando manifestações clínicas semelhantes. A coccidioidomicose é uma infecção endêmica e bem circunscrita a regiões semiáridas do sudeste dos EUA e Américas Central e do Sul; geralmente, é autolimitada. A disseminação é rara, mas sempre grave, e pode ser fatal. Os isolados clínicos e ambientais dos *Coccidioides* revelam que as duas espécies não são igualmente distribuídas nas regiões endêmicas. Embora haja alguma sobreposição, *C. immitis* é mais isolada na Califórnia, enquanto a *C. posadasii* predomina no Arizona, Texas e América do Sul.

Morfologia e identificação

A maioria das infecções é provavelmente causada pelo *C. posadasii*. Entretanto, como as duas espécies, não pode ser facilmente identificada em laboratório e as manifestações clínicas são as mesmas, somente o nome mais antigo e conhecido será usado neste capítulo. Na maioria dos meios de cultura laboratoriais, o *C. immitis* forma uma colônia com aspecto de algodão, branca a castanho-amarelada. As hifas formam cadeias de artroconídios (artrósporos) que frequentemente se desenvolvem em células alternadas de uma hifa. Essas cadeias sofrem fragmentação em artroconídios, facilmente transportados pelo ar e que exibem alta resistência a condições ambientais adversas (Fig. 45.17A). Esses pequenos artroconídios (3 × 6 μm) permanecem viáveis durante anos e são altamente infecciosos. Após inalados, os artroconídios tornam-se esféricos e aumentam de tamanho, formando esférulas que contêm endósporos (Fig. 45.17B). As esférulas também podem ser produzidas em laboratório por cultura do fungo em meio complexo.

Em cortes histológicos de tecido, no escarro ou em outras amostras, as esférulas são diagnósticas de *C. immitis*; quando maduras, são dotadas de parede espessa e birrefringente, podendo atingir 80 μm de diâmetro. A esférula torna-se repleta de endósporos (com 2 a 5 μm de tamanho). Por fim, a parede sofre ruptura, liberando os endósporos, que podem desenvolver-se em novas esférulas (Fig. 45.17B).

Estrutura antigênica

Dois antígenos úteis estão disponíveis. A **coccidioidina** é uma preparação antigênica não purificada, extraída do filtrado de cultura líquida de micélios de *C. immitis*. A **esferulina** é produzida a partir de um filtrado de cultura em caldo de esférulas. Em doses padronizadas, ambos os antígenos desencadeiam reações cutâneas tardias positivas nos indivíduos infectados. Além disso, tais antígenos têm sido utilizados em uma variedade de testes sorológicos para se determinarem os anticorpos séricos contra *C. immitis*.

Patogênese e manifestações clínicas

A inalação de artroconídios resulta em infecção primária, assintomática em 60% dos indivíduos. As únicas evidências de infecção são o desenvolvimento de precipitinas séricas e conversão de teste cutâneo positivo em 2 a 4 semanas. Os níveis de precipitinas declinam, enquanto o teste cutâneo frequentemente permanece positivo durante toda a vida do indivíduo. Os outros 40% desenvolvem doença autolimitada semelhante à *influenza*, com febre, mal-estar, tosse, artralgia e cefaleia, condição denominada **febre do vale**, febre do vale de San Joaquín ou reumatismo do deserto. Depois de 1 a 2 semanas, cerca de 15% desses pacientes desenvolvem reações de hipersensibilidade, que se manifestam em forma de exantema, eritema nodoso ou eritema multiforme. Ao exame radiográfico, os pacientes tipicamente exibem adenopatia hilar juntamente com infiltrados pulmonares, pneumonia, derrames pleurais ou nódulos. Ocorrem resíduos pulmonares em cerca de 5% dos casos,

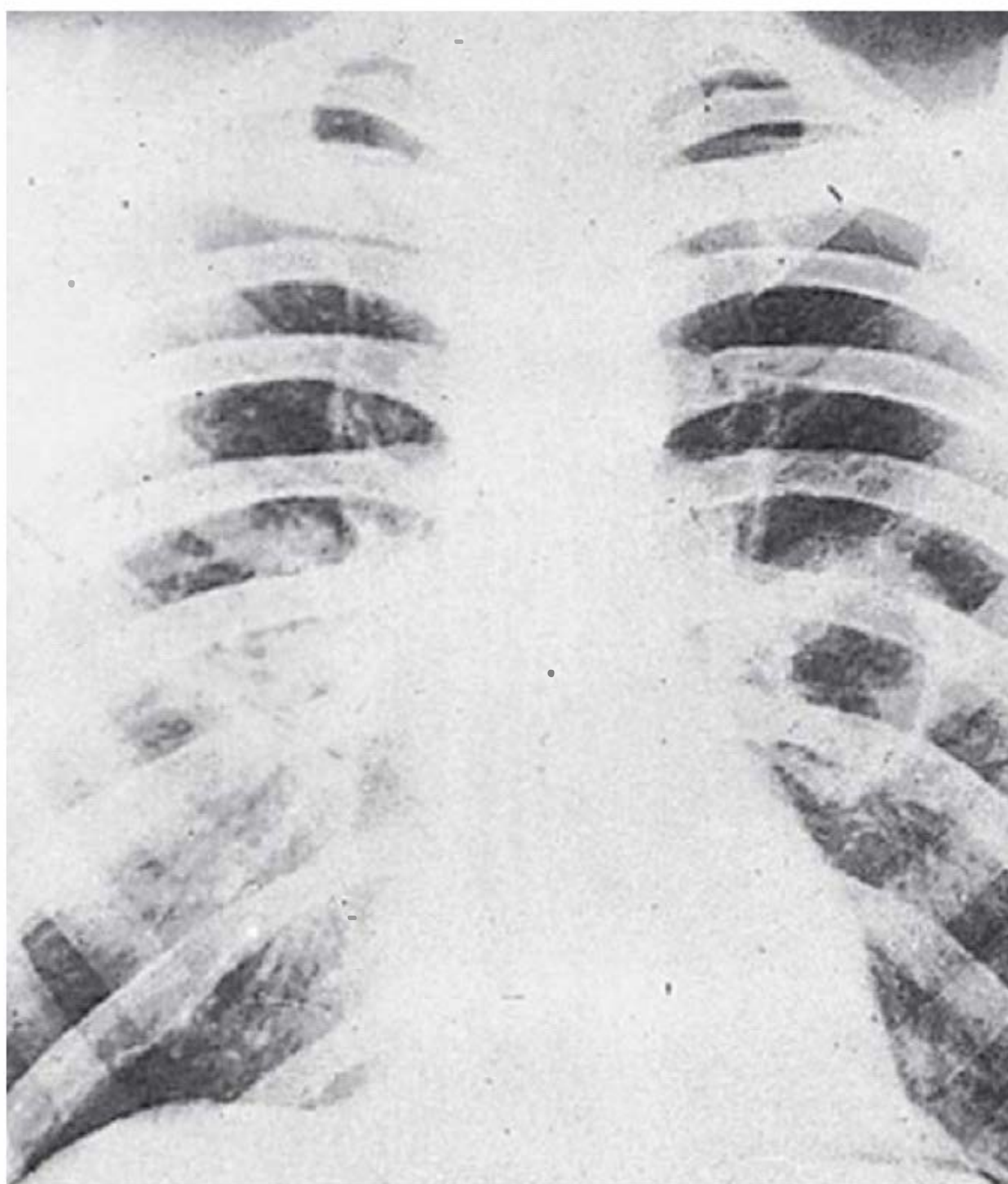


FIGURA 45.16 Radiografia de pulmão de um paciente com coccidioidomicose, revelando linfonodos hiliares aumentados e uma cavidade no pulmão esquerdo.

geralmente em forma de nódulo solitário ou cavidade de paredes delgadas (Fig. 45.16).

Em menos de 1% dos indivíduos infectados por *C. immitis* verifica-se o desenvolvimento de coccidioidomicose secundária ou disseminada, frequentemente debilitante e potencialmente fatal. Os fatores de risco associados à coccidioidomicose sistêmica são hereditariedade, sexo, idade e comprometimento da imunidade celular. A doença é observada mais frequentemente em certos grupos raciais. Por ordem decrescente de risco, esses indivíduos são filipinos, norte-americanos de origem africana, norte-americanos nativos, hispânicos e asiáticos. Existe claramente um componente genético na resposta imunológica ao *C. immitis*. Os indivíduos do sexo masculino são mais suscetíveis que os do sexo feminino, à exceção das mulheres grávidas, o que pode estar relacionado com diferenças na resposta imunológica ou a um efeito direto dos hormônios sexuais sobre o fungo. Por exemplo, o *C. immitis* tem proteínas de ligação de estrogênios, e seu crescimento é estimulado por níveis elevados de estradiol e progesterona. Jovens e idosos também correm risco maior. Devido à necessidade de resposta imunológica celular para uma resistência adequada, os pacientes com Aids e outras condições de imunossupressão celular correm risco de adquirir coccidioidomicose disseminada.

Alguns indivíduos desenvolvem doença pulmonar crônica mas progressiva, com vários nódulos ou cavidades que aumentam de tamanho. Em geral, ocorre disseminação em até 1 ano após a infecção primária. As esférulas e os endósporos disseminam-se por extensão direta ou por via hematogênica. Pode haver o comprometimento de vários locais extrapulmonares, porém os órgãos acometidos com maior frequência são a pele, os ossos, as articulações e as meninges. Em cada uma dessas áreas do corpo, e em outras regiões, observam-se manifestações clínicas distintas associadas à infecção por *C. immitis*.

Ocorre disseminação quando a resposta imunológica é inadequada para conter os focos pulmonares. Na maioria dos indivíduos, a obtenção de um resultado positivo no teste cutâneo indica uma acentuada resposta imunológica celular e proteção contra a reinfeção. Entretanto, se esses indivíduos se tornarem imunocomprometidos em consequência do uso de agentes citotóxicos ou doença (p. ex., Aids), poderá ocorrer disseminação muitos anos após a infecção primária (doença por reativação). A coccidioidomicose em pacientes com Aids manifesta-se frequentemente em forma de pneumonite reticulonodular difusa rapidamente fatal. Devido à superposição radiológica observada entre essa doença e pneumonia por *Pneumocystis*, bem como aos diferentes tratamentos empregados para essas duas entidades, é importante considerar a possibilidade de pneumonia por *Coccidioides* em pacientes com Aids. As hemoculturas são frequentemente positivas para *C. immitis*.

Ao exame histológico, as lesões causadas por *Coccidioides* contêm granulomas típicos, com células gigantes e supuração entremeada. Pode-se estabelecer o diagnóstico pelo achado de esférulas e endósporos. Frequentemente, a evolução clínica caracteriza-se por remissões e recidivas.

Exames diagnósticos laboratoriais

A. Amostras

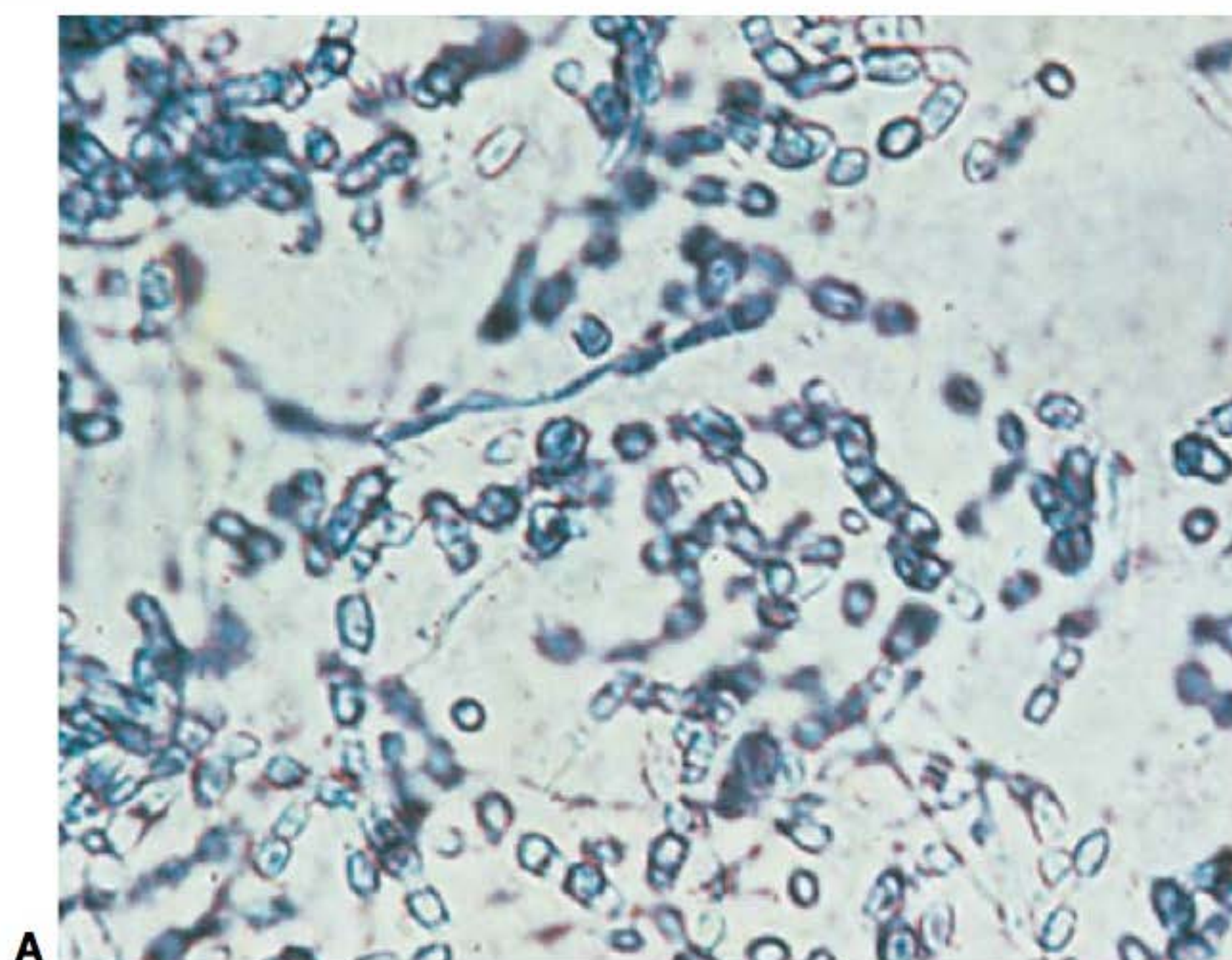
As amostras apropriadas para cultura consistem em escarro, exsudato de lesões cutâneas, líquido cefalorraquidiano, sangue, urina e biópsia tecidual.

B. Exame microscópico

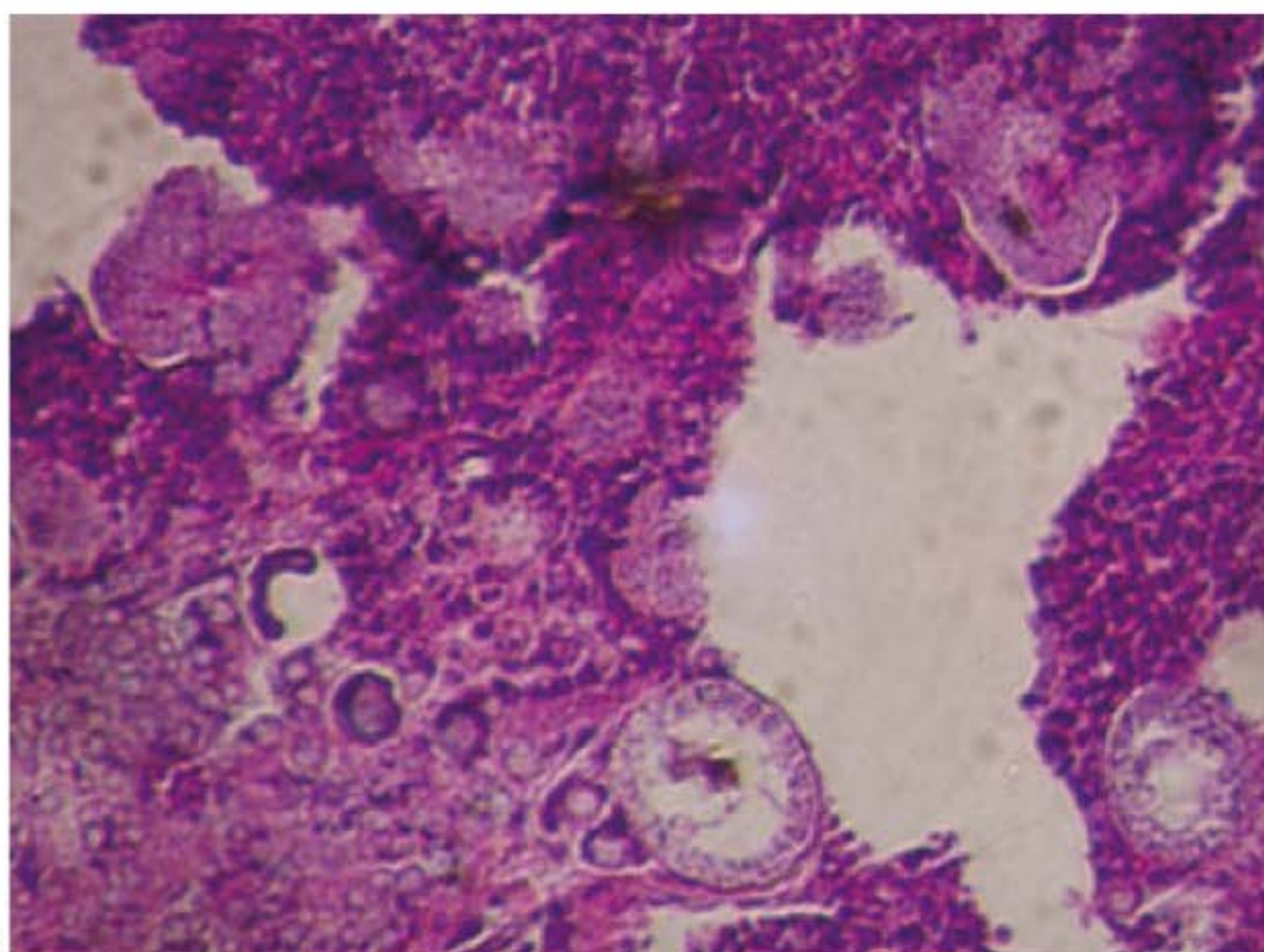
O material deve ser examinado, quando recém-coletado (após centrifugação, se for necessária), à procura de esférulas típicas. O KOH ou o calcofluorado branco facilitam a detecção das esférulas e dos endósporos (Fig. 45.17B). Essas estruturas são frequentemente encontradas em preparações histológicas.

C. Culturas

As culturas em ágar inibidor de bolores, ágar de Sabouraud ou ágar-sangue inclinado podem ser incubadas à temperatura ambiente ou a 37°C. Os meios de cultura podem ser preparados com ou sem antibióticos antibacterianos e cicloeximida para inibir bactérias contaminantes ou bolores saprofitos, respectivamente. Como os artroconídios são altamente infecciosos, as culturas sob suspeita só devem ser examinadas em condições de biossegurança (Fig. 45.17A). A identificação deve ser confirmada pela detecção de um antígeno específico do *C. immitis*, por inoculação em animal ou uso de sonda de DNA específica.



A



B

FIGURA 45.17 Espécies de *Coccidioides* e coccidioidomicose. (A) Em cultura à temperatura ambiente, *Coccidioides posadasii* produz hifas septadas hialinas e artroconídios. Ampliada 400 vezes. (B) Grandes esférulas contendo endósporos podem ser vistas nesta seção de tecido pulmonar. HE. Ampliada 200 vezes.

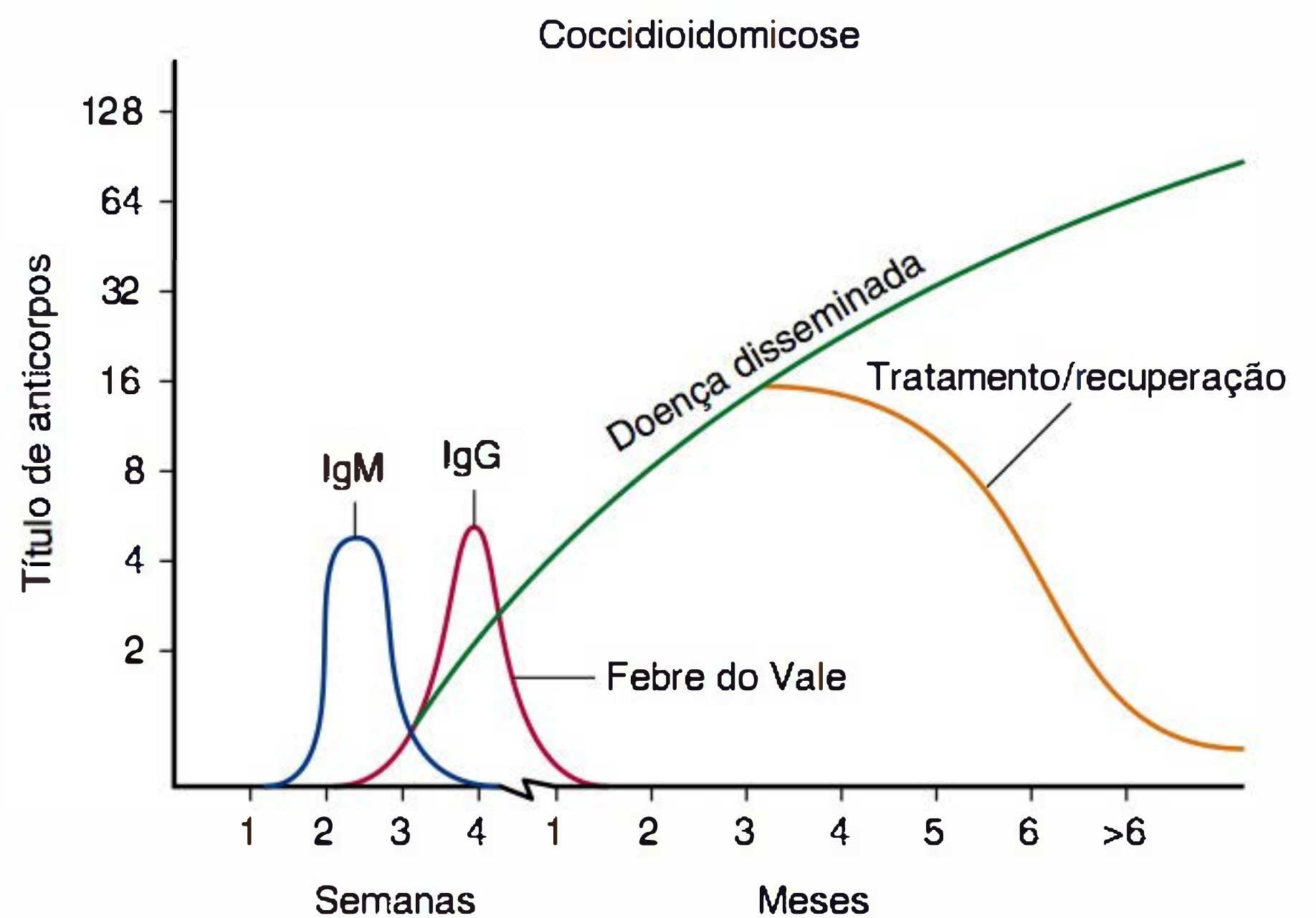


FIGURA 45.18 Nos pacientes sem Aids, os títulos de anticorpos IgG contra a coccidioidina são inversamente relacionados com a gravidade da coccidioidomicose. (Reproduzida, com autorização, de Ryan KJ, Ray CG [editors]: *Sherris Medical Microbiology*, 5th ed. McGraw-Hill, 2010, Figure 46.10, p 753. © The McGraw-Hill Companies, Inc.)

D. Sorologia

No decorrer de 2 a 4 semanas após a infecção, podem ser detectados anticorpos IgG contra a coccidioidina no teste de aglutinação com látex. São detectados anticorpos IgG específicos por imunodifusão (ID) ou teste de fixação do complemento (FC). Com a resolução do episódio primário, esses anticorpos declinam em poucos meses. Já na coccidioidomicose disseminada, os títulos de anticorpos FC continuam aumentando. Títulos superiores a 1:32 indicam disseminação, e sua queda durante o tratamento sugere melhora (Fig. 45.18 e Quadro 45.4). Entretanto, títulos de FC inferiores a 1:32 não excluem a possibilidade de coccidioidomicose. Com efeito, apenas 50% dos pacientes com meningite por *Coccidioides* apresentam níveis séricos elevados de anticorpos; todavia, os níveis de anticorpos no líquido cefalorraquidiano geralmente estão elevados. Esses testes sorológicos são frequentemente negativos em pacientes com Aids que apresentam coccidioidomicose.

E. Teste cutâneo

O teste cutâneo com coccidioidina atinge endurecimento máximo (≥ 5 mm de diâmetro) entre 24 e 48 h após a injeção cutânea de 0,1 mL de diluição padronizada. Se os pacientes com doença disseminada se tornarem anérgicos, o teste cutâneo será negativo, indicando prognóstico muito sombrio. Podem ocorrer reações cruzadas com antígenos de outros fungos. A esferulina é mais sensível que a coccidioidina na detecção de indivíduos que reagem ao teste. As reações ao teste cutâneo tendem a diminuir o tamanho e a intensidade alguns anos após a infecção endêmica primária em indivíduos que residem em regiões endêmicas, mas o teste cutâneo exerce um efeito de “rebote”. Após a recuperação da infecção primária, observa-se habitualmente imunidade à reinfeção.

Tratamento

Na maioria dos indivíduos, a infecção primária sintomática é autolimitada, e eles só necessitam de tratamento de suporte,

embora o itraconazol possa reduzir os sintomas. Entretanto, os pacientes que apresentam doença grave exigem tratamento com anfotericina B por via intravenosa, esquema que pode ser seguido de vários meses de terapia oral com cetoconazol ou itraconazol. Os casos de meningite por *Coccidioides* são tratados com fluconazol por via oral, que tem boa penetração no sistema nervoso central; entretanto, há necessidade de terapia a longo prazo, e foram relatadas recidivas. Os azóis não são mais eficazes que a anfotericina B, porém sua administração é mais fácil, e seu uso está associado a menos efeitos colaterais, que também são menos graves. As emulsões lipídicas mais recentes de anfotericina B deverão proporcionar doses mais altas com menor toxicidade. A ressecção cirúrgica das cavidades pulmonares algumas vezes é necessária e com frequência curativa.

Epidemiologia e controle

As áreas endêmicas de *Coccidioides* são regiões semiáridas, lembrando a Lower Sonoran Life Zone, tais como os Estados do Sudoeste dos EUA, particularmente os vales de San Joaquín e Sacramento na Califórnia, bem como as regiões em torno de Tucson e Phoenix, no Arizona, o vale do Rio Grande e áreas semelhantes nas Américas Central e do Sul. Nessas regiões, o *Coccidioides* pode ser isolado do solo e de roedores, e o nível de reatividade a testes cutâneos na população indica que muitos seres humanos já foram infectados. A taxa de infecção é maior durante os meses secos do verão e do outono, quando a poeira é mais abundante. As tempestades de poeira podem ser acompanhadas de alta incidência de infecção e doença. Durante uma epidemia de coccidioidomicose no vale de San Joaquín, na Califórnia, em 1991 a 1993, a taxa de coccidioidomicose aumentou mais de dez vezes. A maior precipitação durante os meses da primavera nesses anos sugeriu um estímulo ambiental.

A doença não é transmitida de uma pessoa para outra, e não há evidências de que os roedores infectados possam contribuir para sua propagação. É possível obter certo controle ao diminuir a quantidade de poeira, pavimentar as estradas e pistas de aeroportos, plantar grama ou arbustos e utilizar aerossóis de óleo.

HISTOPLASMOSE

O *Histoplasma capsulatum* é um saprófita dimórfico do solo que provoca histoplasmose, a infecção fúngica pulmonar mais prevalente em seres humanos e animais. Na natureza, o *H. capsulatum* cresce como bolor em associação com solo e habitats aviários, enriquecidos por substratos alcalinos e nitrogenados no guano. O *H. capsulatum* e a histoplasmose, que decorre da inalação dos conídios, ocorrem no mundo inteiro. Entretanto, a incidência varia de modo considerável, sendo a maioria dos casos observada nos EUA. O *H. capsulatum* recebeu seu nome devido ao aspecto das células leveduriformes em cortes histopatológicos; todavia, não se trata de um protozoário e tampouco possui cápsula.

Morfologia e identificação

A temperaturas abaixo de 37°C, os microrganismos isolados de *H. capsulatum* frequentemente formam colônias de bolores de coloração marrom, embora o aspecto possa variar. Muitos

microrganismos isolados crescem lentamente, e as amostras necessitam de um período de incubação de 4 a 12 semanas para o desenvolvimento das colônias. As hifas septadas e hialinas produzem microconídios (2 a 5 µm) bem como grandes macroconídios esféricos e de parede espessa, com projeções periféricas de material da parede celular (de 8 a 16 µm) (Fig. 45.19B). Nos tecidos ou *in vitro*, em meio de cultura enriquecido a 37°C, as hifas e os conídios transformam-se em pequenas células leveduriformes ovais (com 2 × 4 µm). Nos tecidos, as leveduras são tipicamente observadas no interior de macrófagos, visto que o *H. capsulatum* é um parasito intracelular facultativo (Fig. 45.19A). Em laboratório, com cepas de acasalamento apropriadas, é possível demonstrar um ciclo sexuado, produzindo *Ajellomyces capsulatus*, um estado teleomorfo que dá origem a ascósporos.

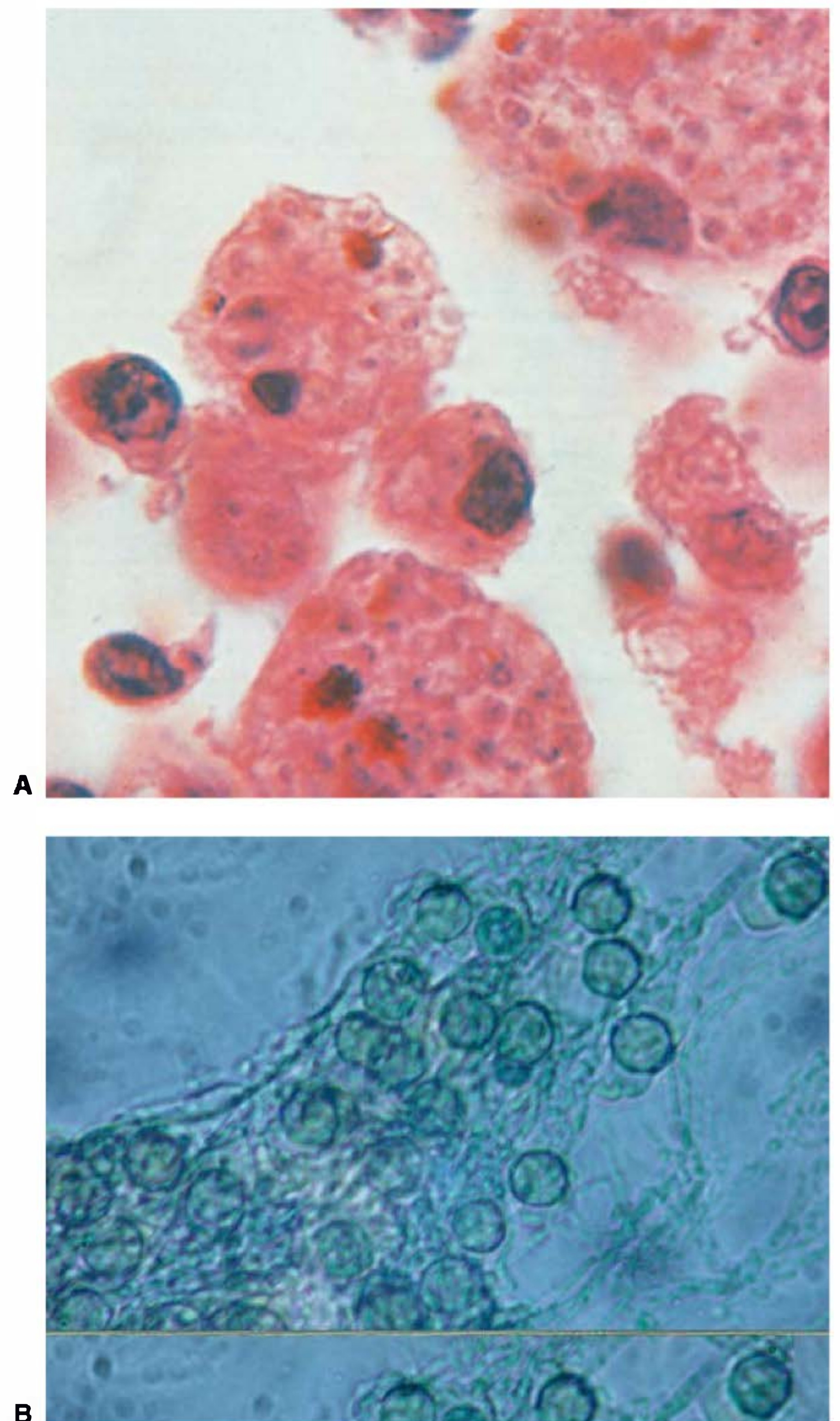


FIGURA 45.19 Histoplasmose e *Histoplasma capsulatum*. (A) Células de levedura pequenas, ovais (2 a 4 µm) e agrupadas dentro de macrófagos. Coloração de Giemsa. Ampliada 1.000 vezes. (B) Em cultura à temperatura ambiente, *Histoplasma capsulatum* produz hifas septadas hialinas contendo microconídios e grandes macroconídios esféricos. Ampliada 400 vezes.

Estrutura antigênica

A histoplasmina é um antígeno obtido do filtrado não purificado (mas padronizado) de cultivo de micélio em caldo. Após infecção inicial, assintomática em mais de 95% dos indivíduos, obtém-se um resultado positivo no teste cutâneo do tipo tardio à histoplasmina. É possível medir sorologicamente os anticorpos dirigidos contra antígenos de levedura e do micélio (ver Quadro 45.4).

Patogênese e manifestações clínicas

Após inalação, os conídios desenvolvem-se em células leveduriformes, fagocitadas por macrófagos alveolares, onde são capazes de se multiplicar. No interior dos macrófagos, as leveduras podem disseminar-se para os tecidos reticuloendoteliais, como o fígado, o baço, a medula óssea e os linfonodos. A reação inflamatória inicial torna-se granulomatosa. Em mais de 95% dos casos, a resposta imunológica celular resultante leva à

secreção de citocinas, que levam os macrófagos a inibir o crescimento intracelular das leveduras. Alguns indivíduos, como pessoas imunocompetentes que inalam um grande inóculo, desenvolvem histoplasmose pulmonar aguda, a qual consiste em uma síndrome autolimitada semelhante à *influenza*, com febre, calafrios, mialgias, cefaleia e tosse improdutiva. Ao exame radiográfico, a maioria dos pacientes apresenta linfadenopatia hilar e infiltrados ou nódulos pulmonares, sintomas que regridem de modo espontâneo sem tratamento, e os nódulos granulomatosos nos pulmões ou em outros locais cicatrizam com calcificação.

A histoplasmose pulmonar crônica, que ocorre mais frequentemente em homens, costuma ser um processo de reativação, a ativação de uma lesão dormente que pode ter sido adquirida há vários anos. Em geral, essa reativação é precipitada por lesão pulmonar, tal como enfisema.

Verifica-se o desenvolvimento de histoplasmose disseminada grave em uma pequena minoria de indivíduos infectados,

QUADRO 45.4 Resumo dos testes sorológicos para anticorpos contra os fungos patogênicos dimórficos

Micoses	Teste ^a	Sensibilidade e valor			Comentários
		Antígeno ^b	Diagnóstico	Prognóstico ^c	
Coccidioidomicose	PT	C	Infecção primária em estágio inicial; 90% dos casos positivos	Nenhum	
	FC	C	Título $\geq 1:32$ = doença secundária	O título reflete a gravidade (exceto na doença meningea)	Raramente ocorre reação cruzada à histoplasmina
	ID	C	> 90% dos casos são positivos, isto é, bandas F ou HL (ou ambas)		Mais específico que o teste FC
Histoplasmose	FC	H	$\leq 84\%$ dos casos são positivos (título $\geq 1:8$)	Alteração de 4 vezes nos títulos	Reações cruzadas em pacientes com blastomicose, criptococose, aspergilose; os títulos podem ser reforçados por testes cutâneos com histoplasmina
	FC	Y	$\leq 94\%$ dos casos são positivos (títulos $\geq 1:8$)	Alteração de 4 vezes nos títulos	Menos reações cruzadas do que com histoplasmina
	ID	H	$\geq 85\%$ dos casos são positivos, isto é, bandas m ou m e h	Perda de h	O teste cutâneo com histoplasmina pode reforçar a banda m, mais específico que o teste de FC
Blastomicose	FC	By	< 50% dos casos são positivos; a reação a antígeno homólogo é apenas diagnóstica	Alteração de 4 vezes nos títulos	Alta reatividade cruzada
	ID	Bcf	$\leq 80\%$ dos casos são positivos, isto é, banda A	Perda da banda A	Mais específico e sensível que o teste FC
	Elisa	A	$\leq 90\%$ dos casos são positivos (título $\geq 1:16$)	Mudança de título	92% de especificidade
Paracoccidioidomicose	FC	P	80 a 95% dos casos são positivos (título $\geq 1:8$)	Alteração de 4 vezes nos títulos	Algumas reações cruzadas a baixos títulos em soros com aspergilose e candidíase
	ID	P	98% dos casos são positivos (bandas 1, 2, 3)	Perda de bandas	Banda 3 e banda m (para histoplasmina) são idênticas

^aTestes: FC, fixação do complemento; ID, imunodifusão; PT, precipitina em tubo; Elisa, ensaio imunoenzimático.

^bAntígenos: C, coccidioidina; H, histoplasmina; Y, células de levedura de *H. capsulatum*; By, células de levedura de *B. dermatitidis*; Bcf, filtrado de cultivo de células leveduriformes de *B. dermatitidis*; A, antígeno A de *B. dermatitidis*; P, filtrado de cultivo de células de levedura de *P. brasiliensis*. Nos testes de imunodifusão, os anticorpos são detectados contra os seguintes antígenos específicos da espécie: *C. immitis*, F, HL; *H. capsulatum*, m e h; *B. dermatitidis*, A; *P. brasiliensis*, 1, 2 e 3.

^cAlterações de 4 vezes nos títulos de fixação do complemento (p. ex., uma queda de 1:32 para 1:8) são consideradas significativas, assim como a perda do anticorpo de imunodifusão específico (*i. e.*, tornando-se negativo).

particularmente lactentes, indivíduos idosos e pacientes imunossuprimidos, inclusive indivíduos com Aids. O sistema reticuloendotelial tem uma tendência particular a ser afetado, com linfadenopatia, aumento de tamanho do baço e do fígado, febre alta, anemia e taxa elevada de mortalidade na ausência de terapia antifúngica. Podem ocorrer úlceras mucocutâneas no nariz, na boca, na língua e no intestino. Nesses indivíduos, o estudo histológico revela áreas focais de necrose no interior de granulomas existentes em muitos órgãos. Pode-se verificar a presença de leveduras em macrófagos no sangue, no fígado, no baço e na medula óssea.

Exames diagnósticos laboratoriais

A. Amostras

As amostras para cultura incluem escarro, urina, raspados de lesões superficiais, aspirado de medula óssea e células do creme leucocitário. Os esfregaços sanguíneos, as lâminas de medula óssea e as amostras de biópsia podem ser examinados ao microscópio. Na histoplasmose disseminada, a cultura de medula óssea é frequentemente positiva.

B. Exame microscópico

As pequenas células ovoides podem ser observadas no interior dos macrófagos em cortes histológicos corados por corantes fúngicos (p. ex., metenamina-prata de Gomori, ácido periódico de Schiff ou calcofluorado branco) ou em esfregaços de medula óssea ou de sangue corados pelo método de Giemsa (Fig. 45.19A).

C. Cultura

As amostras são cultivadas em meios enriquecidos, como ágar-sangue de glicose-cisteína a 37°C e ágar de Sabouraud e ágar inibidor de bolor a 25 a 30°C. As culturas devem ser incubadas durante um período mínimo de 4 semanas. O laboratório deve ser notificado da suspeita de histoplasmose, visto que podem ser utilizados métodos especiais de hemocultura, como meio de lise-centrifugação ou meio de caldo para fungos, a fim de melhorar o isolamento do *H. capsulatum*. Uma vez que sua forma de bolor pode assemelhar-se a de vários fungos saprófitas, a identificação do *H. capsulatum* deve ser confirmada por conversão *in vitro* para forma de levedura, detecção de antígenos específicos ou PCR para sequências específicas de DNA.

D. Sorologia

Os testes de FC para anticorpos dirigidos contra a histoplasmína ou as células leveduriformes tornam-se positivos 2 a 5 semanas após a infecção. Os títulos de anticorpos FC aumentam durante a doença progressiva e, em seguida, declinam para níveis muito baixos quando a doença se torna inativa. Em caso de doença progressiva, os títulos de FC atingem 1:32 ou mais. Devido à possível ocorrência de reações cruzadas, os anticorpos contra outros antígenos fúngicos são rotineiramente testados. No teste de ID, são detectadas precipitinas contra dois antígenos específicos de *H. capsulatum*. A presença de anticorpos contra o antígeno h frequentemente indica histoplasmose ativa, enquanto os anticorpos contra o antígeno M podem surgir em decorrência de testes cutâneos repetidos ou exposição anterior (Quadro 45.4).

Um dos testes mais sensíveis consiste em um radioensaio ou ensaio imunoenzimático para o antígeno circulante do *H. capsulatum*. Quase todos os pacientes com histoplasmose disseminada apresentam teste positivo para o antígeno no soro ou na urina. Os níveis de antígeno caem após tratamento bem-sucedido, porém reaparecem durante a recidiva. Apesar da ocorrência de reações cruzadas com outras micoses, esse teste para antígeno é mais sensível que os testes de anticorpos convencionais em pacientes com Aids acometidos de histoplasmose.

E. Teste cutâneo

O teste cutâneo com histoplasmina torna-se positivo pouco depois da infecção e assim permanece durante muitos anos. Pode tornar-se negativo na histoplasmose disseminada progressiva. A repetição do teste cutâneo estimula a produção de anticorpos séricos nos indivíduos sensíveis, interferindo na interpretação diagnóstica dos testes sorológicos.

Imunidade

Após a infecção inicial, a maioria dos indivíduos parece desenvolver alguma imunidade. A imunossupressão pode resultar em reativação e doença disseminada. Os pacientes com Aids podem desenvolver histoplasmose disseminada por reativação ou nova infecção.

Tratamento

O tratamento da histoplasmose pulmonar aguda consiste em terapia de suporte e repouso. O cetoconazol constitui o tratamento utilizado para infecções leves a moderadas. Na doença disseminada, o tratamento sistêmico com anfotericina B é frequentemente curativo, embora alguns pacientes possam necessitar de tratamento prolongado e monitoração à procura de recidivas. Tipicamente, os pacientes com Aids sofrem recidiva apesar da terapia, que seria curativa em outros pacientes. Por conseguinte, os pacientes com Aids necessitam de terapia de manutenção com itraconazol.

Epidemiologia e controle

A incidência da histoplasmose é maior nos EUA, onde as áreas endêmicas incluem os Estados Centrais e do Leste e, em particular, o vale do rio Ohio e partes do vale do rio Mississippi. Inúmeros surtos de histoplasmose aguda resultaram da exposição de muitas pessoas a grandes inóculos de conídios. Esses surtos ocorrem quando o *H. capsulatum* é perturbado em seu *habitat* natural, ou seja, o solo misturado com fezes de aves (p. ex., galinheiros) ou guano de morcegos (cavernas). As aves não são infectadas, porém seus excrementos proporcionam condições ideais de cultura para o crescimento do fungo. Os conídios também são disseminados pelo vento e pela poeira. O maior surto urbano de histoplasmose ocorreu em Indianapolis, EUA.

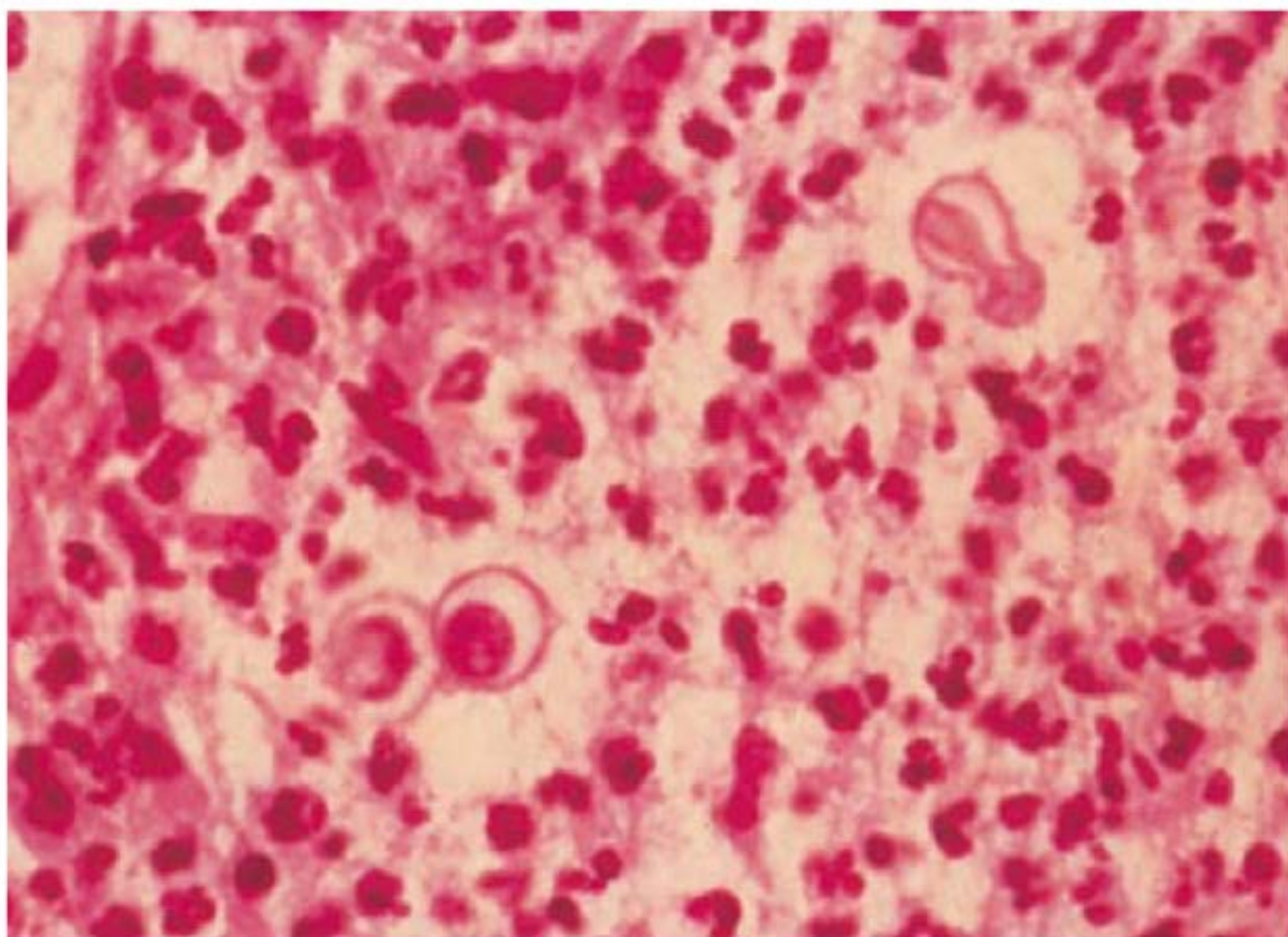
Em algumas áreas altamente endêmicas, 80 a 90% dos habitantes apresentam teste cutâneo positivo no início da vida adulta. Muitos exibem calcificações miliares nos pulmões. A histoplasmose não é transmissível de pessoa para pessoa. A aplicação de formaldeído no solo infectado, em forma de aerossol, pode destruir o *H. capsulatum*.

Na África, além do patógeno habitual, existe uma variante estável, o *H. capsulatum variante duboisii*, que provoca

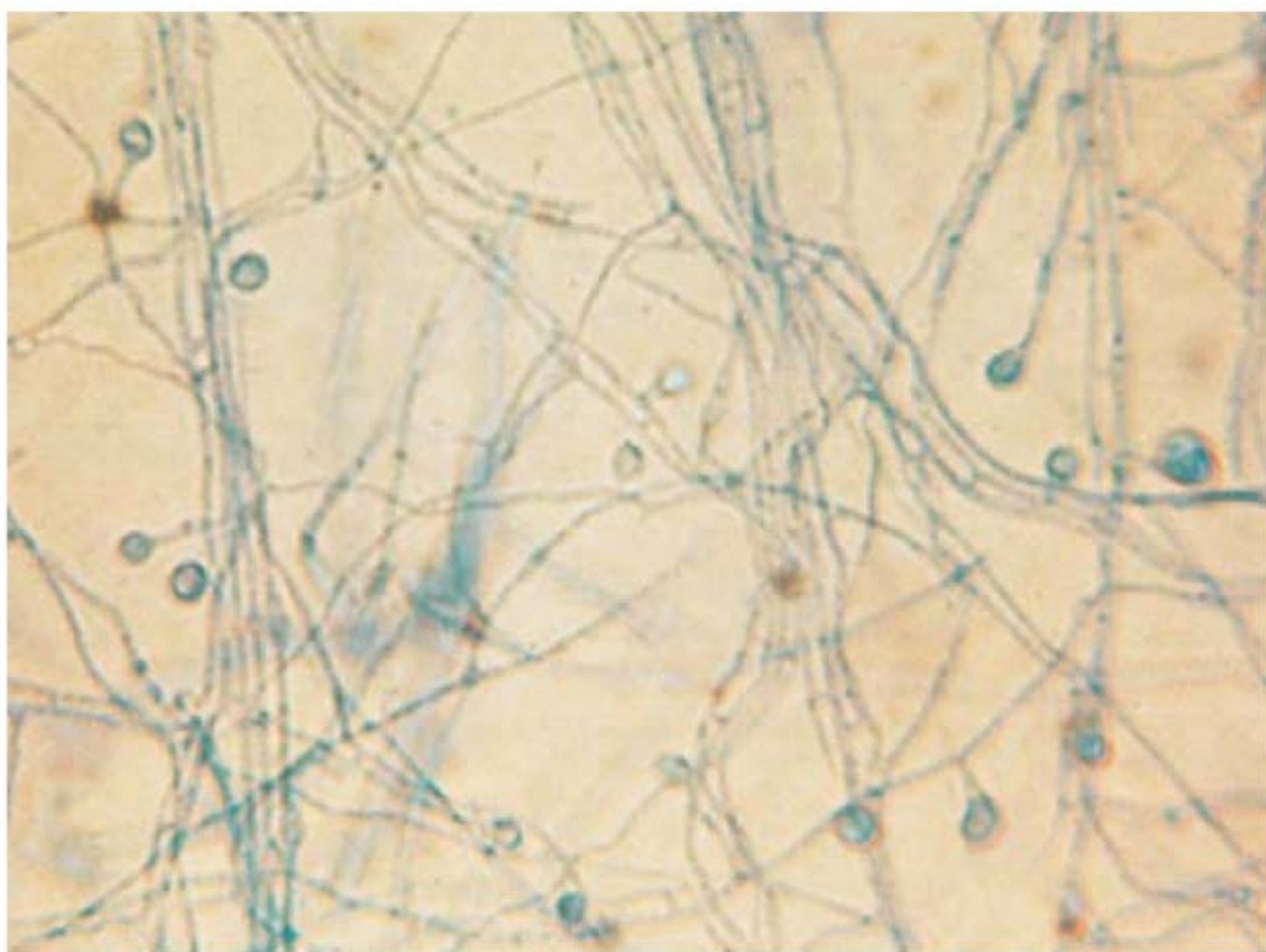
histoplasmose africana. Tal forma difere da doença habitual, causando menor comprometimento pulmonar bem como maior número de lesões cutâneas e ósseas com células gigantes abundantes que contêm as leveduras, maiores e mais esféricas.

BLASTOMICOSE

O *Blastomyces dermatitidis* é um fungo termicamente dimórfico que cresce em forma de bolor em cultura, produzindo hifas septadas hialinas e ramificadas, além de conídios. No hospedeiro ou a 37°C, transforma-se em uma grande célula leveduriforme isolada em brotamento (Fig. 45.20). O *B. dermatitidis* provoca **blastomicose**, uma infecção crônica com lesões granulomatosas e supurativas que começa nos pulmões, a partir dos quais pode ocorrer disseminação para qualquer órgão, mas preferencialmente para a pele e os ossos. A doença foi denominada blastomicose norte-americana por ser endêmica e pelo fato de a maioria dos casos ocorrer nos EUA e no Canadá. Apesar dessa elevada prevalência na América do Norte, a blastomicose também foi documentada na África, América do Sul e Ásia. É endêmica para os seres humanos e cães no leste dos EUA.



A



B

FIGURA 45.20 Blastomicose e *Blastomyces dermatitidis*. (A) Notar as grandes células de levedura esféricas e de parede espessa (8 a 15 mm de diâmetro) nesta seção de um abscesso cutâneo. HE. Ampliada 400 vezes. (B) Em cultura à temperatura ambiente, *Blastomyces dermatitidis* produz um conídio único, hialino e com hifas septadas. Ampliada 400 vezes.

Morfologia e identificação

Quando o *B. dermatitidis* cresce em ágar de Sabouraud à temperatura ambiente, verifica-se o desenvolvimento de uma colônia branca ou acastanhada, com hifas ramificadas que apresentam conídios esféricos, ovoides ou piriformes (com 3 a 5 μm de diâmetro) sobre delicados conidióforos terminais ou laterais (Fig. 45.20B). Além disso, pode haver a produção de clamidósporos maiores (com 7 a 18 μm). Nos tecidos ou em cultura a 37°C, o *B. dermatitidis* cresce em forma de levedura esférica, multinucleada e de parede espessa (com 8 a 15 μm) que geralmente produz brotamentos isolados (Fig. 45.20A). O brotamento e a levedura-mãe estão fixados à base ampla, e o broto frequentemente atinge o mesmo tamanho da levedura original antes de se desprender. As colônias de leveduras são enrugadas, sérias e de consistência macia.

Estrutura antigênica

Os extratos de filtrados da cultura de *B. dermatitidis* contêm **blastomicina**, que provavelmente consiste em uma mistura de antígenos. Como reagente de teste cutâneo, a blastomicina carece de especificidade e sensibilidade. Com frequência, os pacientes são negativos ou perdem a sua reatividade, e são observadas falsas reações cruzadas positivas em indivíduos expostos a outros fungos. Por conseguinte, não foram conduzidas pesquisas da população com testes cutâneos para se determinar o nível de exposição. O valor diagnóstico da blastomicina como antígeno no teste de FC também é questionável devido à ocorrência comum de reações cruzadas; entretanto, muitos pacientes com blastomicose disseminada apresentam títulos elevados de anticorpos FC. No teste de ID, com a utilização de antissoros de referência adsorvidos, é possível detectar anticorpos dirigidos contra um antígeno específico de *B. dermatitidis*, denominado antígeno A (Quadro 45.4). O ensaio imunoenzimático para o antígeno A é mais confiável. O motivo imunodominante provavelmente responsável pela produção de uma resposta imunológica celular protetora consiste, em parte, em uma proteína de superfície e secretada, chamada BAD.

Patogênese e manifestações clínicas

A infecção humana começa nos pulmões. Foram documentados casos leves e autolimitados, porém sua frequência é desconhecida, visto que não existe teste cutâneo ou sorológico adequado para se avaliar a infecção primária subclínica ou em fase de resolução. A manifestação clínica mais comum consiste em infiltrado pulmonar associado a uma variedade de sintomas indistinguíveis dos observados em outras infecções agudas das vias respiratórias inferiores (febre, mal-estar, sudorese noturna, tosse e mialgia). Os pacientes também podem apresentar pneumonia crônica. O exame histológico revela reação piogranulomatosa distinta, com neutrófilos e granulomas não caseosos. Quando ocorre disseminação, as lesões cutâneas nas superfícies expostas são mais comuns, podendo evoluir para granulomas verrucosos ulcerados, com bordas que avançam e região central de cicatrização. A borda é preenchida por microabscessos e apresenta um limite nítido e em declive. Ocorrem também lesões no osso, na genitália (próstata, epidídimo e testículo) e no sistema nervoso central, enquanto outros locais são menos frequentemente acometidos. Embora os pacientes

imunossuprimidos, inclusive indivíduos com Aids, possam desenvolver blastomicose, esta não é tão comum quanto outras micoses sistêmicas nesse grupo de pacientes.

Exames diagnósticos laboratoriais

As amostras para o diagnóstico como escarro, pus, exsudatos, urina e biópsia das lesões são submetidas ao exame microscópico. As preparações a fresco de amostras podem revelar brotos amplamente fixados em células leveduriformes de paredes espessas. Esses brotos também podem ser visualizados em cortes histológicos (Fig. 45.20A). Em geral, as colônias são visíveis, no decorrer de 2 semanas, em ágar de Sabouraud ou em ágar-sangue enriquecido a 30°C (Fig. 45.20B). A identificação pode ser confirmada por conversão da levedura após cultura em meio enriquecido a 37°C, extração e detecção do antígeno específico de *B. dermatitidis* ou sonda de DNA específica.

Conforme indica o Quadro 45.4, é possível determinar os anticorpos por testes de FC e ID. No ensaio imuno enzimático (Elisa), os títulos elevados de anticorpos dirigidos contra o antígeno A estão associados a infecção disseminada ou pulmonar progressiva. De modo geral, os testes sorológicos não são tão úteis para o diagnóstico de blastomicose quanto no caso das outras micoses endêmicas.

Tratamento

Os casos graves de blastomicose são tratados com anfotericina B. Em pacientes com lesões confinadas, um esquema de 6 meses de itraconazol é eficaz.

Epidemiologia

A blastomicose é uma infecção relativamente comum de cães (e, raramente, de outros animais) em áreas endêmicas. Não é transmissível por animais ou seres humanos. Diferentemente de *C. immitis* e *H. capsulatum*, o *B. dermatitidis* raramente (e de modo não reproduzível) foi isolado do ambiente, de modo que seu *habitat* natural permanece desconhecido. Entretanto, a ocorrência de vários surtos pequenos associou o *B. dermatitidis* a bancos de rios rurais.

PARACOCCIDIOIDOMICOSE

O *Paracoccidioides brasiliensis* é o agente fúngico termicamente dimórfico da paracoccidioidomicose (blastomicose da América do Sul), que se limita a regiões endêmicas das Américas Central e do Sul.

Morfologia e identificação

As culturas de *P. brasiliensis* em forma de bolor crescem muito lentamente, produzindo clamidósporos e conídios. As características não são distintivas. A 36°C, em meio de cultura enriquecido, o fungo forma grandes células leveduriformes com vários brotamentos (de até 30 µm). As leveduras são maiores e apresentam paredes mais finas do que as do *B. dermatitidis*. Os brotos mostram-se fixados por estreita conexão (Fig. 45.21).

Patogênese e manifestações clínicas

O *P. brasiliensis* é inalado, e as lesões iniciais aparecem nos pulmões. Depois de um período de dormência, que pode durar

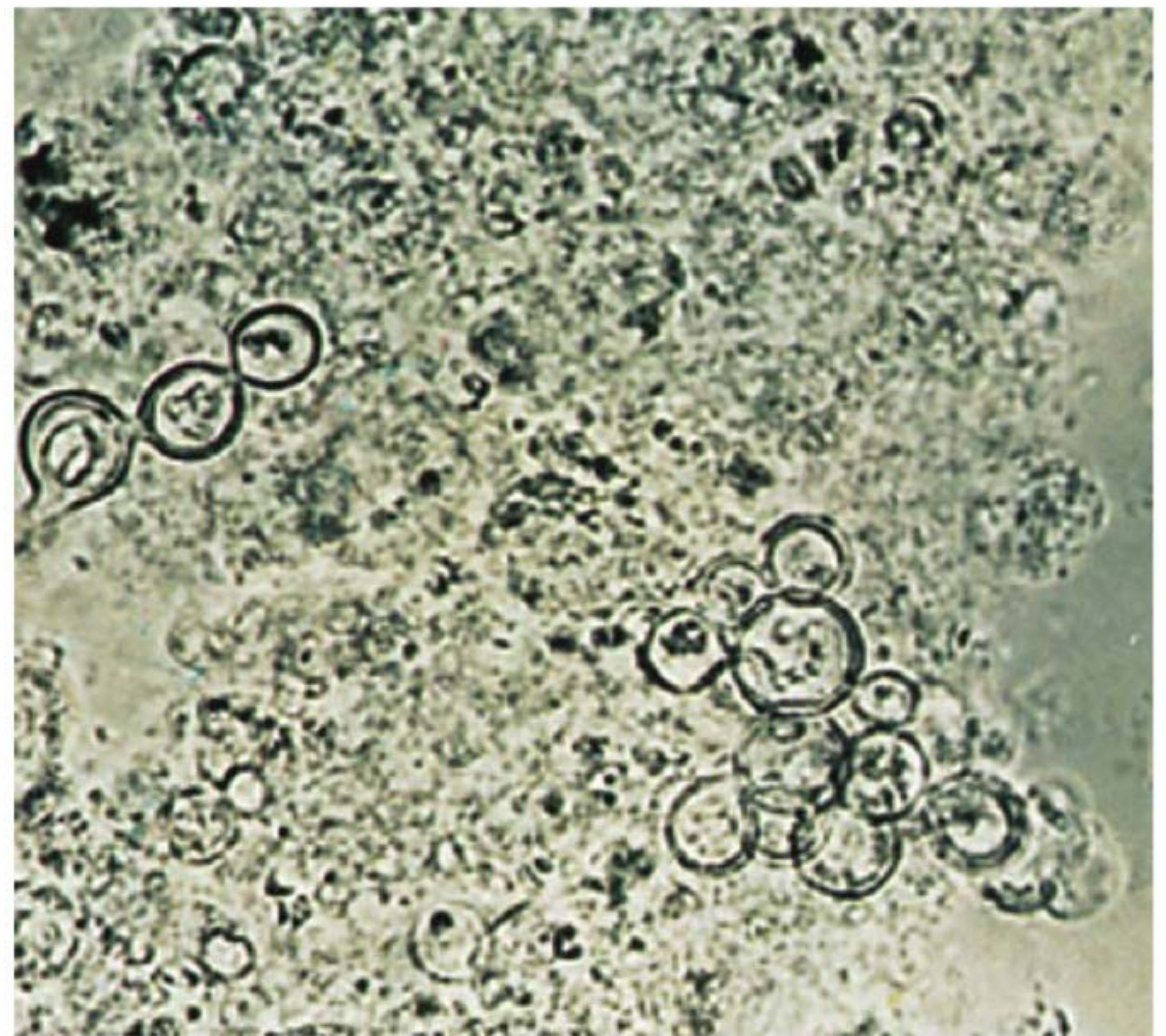


FIGURA 45.21 Paracoccidioidomicose. Inúmeros brotamentos grandes (15 a 30 µm) de células de leveduras são observados em lesão cutânea. KOH. Ampliada 400 vezes.

décadas, os granulomas pulmonares podem tornar-se ativos, resultando em disseminação ou doença pulmonar progressiva crônica. Em sua maioria, os pacientes têm 30 a 60 anos de idade, e mais de 90% são homens. Alguns pacientes (10% ou menos), tipicamente com menos de 30 anos de idade, desenvolvem infecção progressiva aguda ou subaguda, com período de incubação mais curto. No caso habitual da paracoccidioidomicose crônica, as leveduras disseminam-se dos pulmões para outros órgãos, em particular para a pele e o tecido mucocutâneo, os linfonodos, baço, fígado, glândulas suprarrenais e outros locais. Muitos pacientes apresentam lesões dolorosas que afetam a mucosa oral. Em geral, a histologia revela granulomas com caseificação central ou microabscessos. Com frequência, as leveduras são detectadas em células gigantes ou visualizadas diretamente no exsudato de lesões mucocutâneas.

Foram conduzidas pesquisas com testes cutâneos em que se utilizou um extrato de antígeno, a **paracoccidioidina**, que pode exibir reação cruzada com a coccidioidina ou com a histoplasmina.

Exames diagnósticos laboratoriais

No escarro, em exsudatos, nas amostras de biópsia ou em outro material de lesões, as leveduras são frequentemente aparentes ao exame microscópico direto com KOH ou calcofluorado branco. As culturas em ágar de Sabouraud ou ágar com extrato de leveduras devem ser incubadas à temperatura ambiente, sendo os resultados confirmados por conversão em forma leveduriforme pelo crescimento *in vitro* a 36°C. O teste sorológico é mais útil para o estabelecimento do diagnóstico. Os anticorpos dirigidos contra a paracoccidioidina podem ser determinados pelo teste de FC ou ID (Quadro 45.4). Os indivíduos sadios em áreas endêmicas não apresentam anticorpos dirigidos contra o *P. brasiliensis*. Nos pacientes, os títulos tendem a correlacionar-se com a gravidade da doença.

Tratamento

O itraconazol parece mais eficaz contra a paracoccidiodomicose, porém o cetoconazol e sulfametoxazol-trimetoprima também são eficazes. A doença grave pode ser tratada com anfotericina B.

Epidemiologia

A paracoccidiodomicose ocorre principalmente em áreas rurais da América Latina, sobretudo entre fazendeiros. As manifestações da doença são muito mais frequentes em homens do que em mulheres, embora ocorram infecção e reatividade a testes cutâneos igualmente em ambos os sexos. Como o *P. brasiliensis* raramente foi isolado na natureza, seu *habitat* natural ainda não foi definido. A exemplo das outras micoses endêmicas, a paracoccidiodomicose não é contagiosa.

VERIFICAÇÃO DE CONCEITOS: MICOSES ENDÊMICAS

1. As micoses endêmicas (coccidiodomicoses, histoplasmoses, blastomicoses e paracoccidiodomicoses) são caracterizadas por apresentarem áreas geográficas distintas de distribuição e por serem causadas por fungos filamentosos dimórficos ambientais.
2. Mais de 90% das micoses endêmicas são iniciadas pela inalação das conídias do agente etiológico fúngico. Uma vez nos pulmões, as conídias se diferenciam em células leveduriformes (*Histoplasma capsulatum*, *Blastomyces dermatitidis* e *Paracoccidioides brasiliensis*) ou esférular (*Coccidioides*).
3. Em áreas endêmicas, as taxas de infecções por *Coccidioides*, *H. capsulatum* e *P. brasiliensis* são muito altas, porém aproximadamente 90% dos casos ocorrem em indivíduos imunossuprimidos, sendo infecções geralmente assintomáticas ou autolimitadas.
4. Indivíduos com comprometimento da imunidade de base celular têm risco significativamente maior de desenvolver infecções disseminadas (p. ex., pacientes que são imunodeficientes ou imunossuprimidos, soropositivos para HIV, com predisposição congênita, desnutridos, muito novos ou idosos)
5. Para todas as infecções endêmicas, a incidência de infecções disseminadas é significativamente maior em indivíduos do sexo masculino.
6. Testes sorológicos para pesquisa de anticorpos contra os fungos endêmicos apresentam valor de diagnóstico e de prognóstico.

MICOSES OPORTUNISTAS

Os pacientes com comprometimento das defesas do hospedeiro mostram-se suscetíveis a fungos onipresentes aos quais as pessoas saudáveis são expostas mas geralmente são resistentes. Em muitos casos, o tipo de fungo e a história natural da infecção micótica são determinados pela condição predisponente subjacente do hospedeiro. Como membros da microbiota normal, a *Candida* e leveduras relacionadas são oportunistas endógenos.

Outras micoses oportunistas são causadas por fungos exógenos, geralmente encontrados no solo, na água e no ar. Serão abordados nesta seção os patógenos mais comuns e suas doenças associadas (candidíase, criptococose, aspergilose, mucormicoses, pneumonia por *Pneumocystis* e peniciliose). Contudo, a incidência e a lista das espécies de fungos que provocam infecções micóticas graves em indivíduos imunocomprometidos continuam aumentando.

Nos pacientes com HIV/Aids, a suscetibilidade e a incidência das micoses oportunistas estão inversamente correlacionadas com a contagem de linfócitos CD4. Geralmente, pacientes com Aids com contagem menor que 200 células/ μ L são altamente suscetíveis a infecções fúngicas oportunistas.

CANDIDÍASE

Várias espécies de levedura do gênero *Candida* são capazes de provocar candidíase. Trata-se de membros da microbiota normal da pele, das mucosas e do trato gastrointestinal. As espécies de *Candida* colonizam as mucosas de todos os seres humanos durante ou logo após o nascimento, havendo sempre o risco de infecção endógena. A candidíase é a micose sistêmica mais comum, sendo os agentes mais frequentes *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *C. glabrata*, *C. guilliermondii* e *C. dubliniensis*. O uso disseminado do fluconazol levou à emergência de mais espécies resistentes ao azol, como *C. krusei* e *C. lusitanae*. Como ilustrado no Quadro 45.1, as espécies de *Candida* causam tanto infecções cutâneas quanto doenças sistêmicas. Essas manifestações clínicas apresentam mecanismos diferentes de patogênese. Além disso, existe outros tipos de síndromes infecciosas provocadas por *Candida*.

Morfologia e identificação

Em cultura ou nos tecidos, as espécies de *Candida* crescem em forma de levedura oval com brotamento (com 3 a 6 μ m de tamanho). Além disso, formam **pseudo-hifas** quando os brotos continuam crescendo, mas não se desprendem, produzindo cadeias de células alongadas que sofrem constrição nos locais dos septos entre as células. Diferentemente de outras espécies de *Candida*, a *C. albicans* é dimórfica; além das leveduras e pseudo-hifas, também pode produzir hifas verdadeiras (Fig. 45.22). Em meios de ágar ou em 24 h a 37°C ou à temperatura ambiente, as espécies de *Candida* formam colônias de coloração creme e consistência mole, com odor de lêvedo. As pseudo-hifas aparecem como crescimento submerso abaixo da superfície do ágar. Dois testes morfológicos simples distinguem a *C. albicans*, o patógeno mais comum, das outras espécies de *Candida*. Após incubação em soro durante cerca de 90 min a 37°C, as células leveduriformes de *C. albicans* começam a formar hifas verdadeiras ou tubos germinativos (Fig. 45.23), ao passo que, em meios nutricionalmente deficientes, a *C. albicans* produz grandes clamidósporos esféricos. Os testes de fermentação e assimilação de açúcares podem ser utilizados para confirmar a identificação e estabelecer as espécies mais comuns de *Candida*, como *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *C. guilliermondii*, *C. kefyr*, *C. krusei* e *C. lusitanae*. A *C. glabrata* é única entre estes patógenos, pois produz somente células de leveduras, não produzindo formas de pseudo-hifas.



FIGURA 45.22 *Candida albicans*. Células de levedura (blastoconídios), hifas e pseudo-hifas. Ampliada 400 vezes.

Estrutura antigênica

O uso de antissoros adsorvidos definiu dois sorotipos de *C. albicans*: A (que inclui a *C. tropicalis*) e B. Durante o processo infeccioso, os componentes da parede celular (como mananas, glucanas, polissacarídeos, lipoproteínas e enzimas) são liberados. Essas macromoléculas desencadeiam uma resposta imune inata, além de uma resposta específica Th1 e Th2. Por exemplo, soros de pacientes com candidíase sistêmica contêm anticorpos detectáveis contra enolases, proteases secretoras, proteínas de choque térmico, entre outras proteínas do agente infeccioso.

Patogênese e patologia

A candidíase superficial (cutânea ou mucosa) estabelece-se em decorrência de aumento no número local de *Candida* e lesão da pele ou do epitélio, permitindo a invasão local por leveduras e pseudo-hifas. Ocorre candidíase sistêmica quando o microrganismo penetra na corrente sanguínea e as defesas fagocíticas do hospedeiro são inadequadas para conter o crescimento e a disseminação das leveduras. A partir da circulação, a *Candida* pode infectar os rins, fixar-se a próteses valvares cardíacas ou provocar infecções em quase qualquer parte do corpo (p. ex., artrite, meningite, endoftalmite). A histologia local das lesões cutâneas ou mucocutâneas caracteriza-se por reações inflamatórias, que variam de abscessos piogênicos até granulomas



FIGURA 45.23 Tubo germinativo. Diferentemente de outras espécies de *Candida*, *Candida albicans* produz uma hifa verdadeira, bem como células de levedura com brotamento e pseudo-hifas. Após incubação em soro a 37°C por 60 a 90 min em laboratório, amostras clínicas de *Candida albicans* são estimuladas para formar hifas e este processo é iniciado pela produção de tubos germinativos, os quais são mais delgados e uniformes, do que as pseudo-hifas (ver Fig. 45.22). Ampliada 1.000 vezes.

crônicos. As lesões contêm quantidades abundantes de células leveduriformes em brotamento e pseudo-hifas. A administração de antibióticos antibacterianos orais é frequentemente seguida de aumentos acentuados no número de *Candida* no trato intestinal, de modo que as leveduras podem penetrar na circulação ao atravessar a mucosa intestinal.

Como já mencionado, as células de *Candida* expressam polissacarídeos, proteínas que não somente estimulam as defesas do hospedeiro, como também facilitam a aderência e invasão do patógeno a células hospedeiras. *Candida albicans* e outras espécies de *Candida* produzem glicoproteínas de superfície com atividade aglutinante (*agglutinin-like sequence* [ALS]). Algumas dessas moléculas são adesinas que se ligam a receptores do hospedeiro, mediando a aderência a células epiteliais e endoteliais. Os mecanismos de resposta imune inata incluem os receptores de reconhecimento de padrão (p. ex., lectinas, TLRs, receptores para manose de macrófagos), que se ligam aos padrões moleculares associados a patógenos. Um exemplo chave é a dectin-1 do hospedeiro que se liga a β 1-3-glucana de *C. albicans* e de outros fungos, estimulando uma intensa resposta inflamatória. Essa resposta é caracterizada pela produção de citocinas, especialmente TNF- α , IFN- γ , GCSF, que atuam ativando células efetoras como neutrófilos, e monócitos. Além disso, a ligação de β -glucana à dectin-1 na superfície das células dendríticas induz linfócitos Th17 a secretar IL-17. Essas células são ativadas na resposta imune adaptativa.

Manifestações clínicas

A. Candidíase cutânea e de mucosa

Os fatores de risco associados à candidíase superficial consistem em Aids, gravidez, diabetes, idade (jovens ou idosos), anticoncepcionais orais e traumatismo (queimaduras, maceração da pele). O **sapinho** pode ocorrer na língua, nos lábios, nas gengivas ou no palato. Trata-se de uma lesão pseudomembranosa esbranquiçada, focal a confluyente, composta de células epiteliais, leveduras e pseudo-hifas. Verifica-se o desenvolvimento de candidíase oral na maioria dos pacientes com Aids. Outros fatores de risco incluem tratamento com corticosteroides ou antibióticos, níveis elevados de glicose e imunodeficiência celular. A invasão da mucosa vaginal por leveduras provoca **vulvovaginite**, caracterizada por irritação, prurido e corrimento vaginal. Com frequência, essa condição é precedida de certos fatores como diabetes, gravidez ou uso de antibacterianos que alteram a microbiota, a acidez local ou as secreções. Outras formas de **candidíase cutânea** incluem invasão da pele, que ocorre quando esta é enfraquecida por traumatismo, queimaduras ou maceração. A infecção intertriginosa é observada nas partes úmidas e aquecidas do corpo, como axilas, virilha e dobras interglúteas ou inframamárias. É mais comum em indivíduos obesos e diabéticos. As áreas infectadas tornam-se avermelhadas e úmidas, podendo surgir vesículas. A imersão prolongada em água resulta em comprometimento dos espaços interdigitais das mãos, sendo mais comum em donas de casa, cozinheiros e pessoas que manipulam vegetais e peixes. A invasão das unhas e da placa ungueal por *Candida* provoca **onicomicose**, um intumescimento eritematoso e doloroso da prega ungueal que se assemelha à paroníquia piogênica, podendo resultar em destruição da unha.

B. Candidíase sistêmica

A candidemia pode ser causada por cateteres de demora, cirurgia, consumo de drogas intravenosas, aspiração ou lesão da pele ou do trato gastrointestinal. Na maioria dos pacientes com defesas normais do hospedeiro, as leveduras são eliminadas, e a candidemia é transitória. Entretanto, os pacientes com comprometimento das defesas fagocíticas podem desenvolver lesões ocultas em qualquer parte do corpo, particularmente nos rins, na pele (lesões maculonodulares), nos olhos, no coração e nas meninges. A candidíase sistêmica está mais frequentemente associada a administração crônica de corticosteroides ou outros imunossupressores, a doenças hematológicas, como leucemia, linfoma e anemia aplásica, ou à doença granulomatosa crônica. Com frequência, a endocardite por *Candida* está associada a deposição e crescimento de leveduras e pseudo-hifas em próteses ou em vegetações de valvas cardíacas. Em geral, as infecções renais constituem uma manifestação sistêmica, enquanto as infecções das vias urinárias estão frequentemente associadas a cateteres de Foley, diabetes, gravidez e uso de antibióticos antibacterianos.

C. Candidíase mucocutânea crônica

A maioria das formas dessa rara doença, que surge no início da infância, está associada a imunodeficiências celulares e endocrinopatias, resultando em infecções superficiais crônicas desfigurantes de qualquer área da pele ou da mucosa. Muitos pacientes com candidíase mucocutânea crônica são incapazes de apresentar uma resposta Th17 eficiente para esse patógeno.

Exames diagnósticos laboratoriais

A. Amostras

Consistem em *swabs* e raspados de lesões superficiais, sangue, líquido cefalorraquidiano, biópsias teciduais, urina, exsudato e material retirado de cateteres intravenosos.

B. Exame microscópico

Biópsias de tecidos, líquido cefalorraquidiano centrifugado e outras amostras podem ser examinados em esfregaços corados pelo método de Gram ou lâminas histopatológicas à procura de pseudo-hifas e células em brotamento (Fig. 45.24). Os raspados de pele ou unha devem ser colocados inicialmente em uma gota de KOH a 10% e calcofluorado branco.

C. Cultura

Todas as amostras devem ser cultivadas em meios fúngicos ou bacteriológicos, à temperatura ambiente ou a 37°C. As colônias de leveduras devem ser examinadas à procura de pseudo-hifas. A *C. albicans* pode ser identificada pela produção de tubos germinativos ou clamidósporos. Estabelecem-se outras espécies de *Candida* isoladas por uma bateria de reações químicas. A interpretação das culturas positivas varia de acordo com a amostra. As culturas positivas de regiões do corpo normalmente estéreis são significativas. O valor de uma cultura de urina quantitativa para o estabelecimento do diagnóstico depende da integridade da amostra e do número de leveduras. Os cateteres de Foley contaminados podem resultar em culturas de urina “falsas-positivas”. As hemoculturas positivas podem refletir a presença de candidíase sistêmica ou candidemia transitória causada por uma via intravenosa contaminada. As culturas de escarro

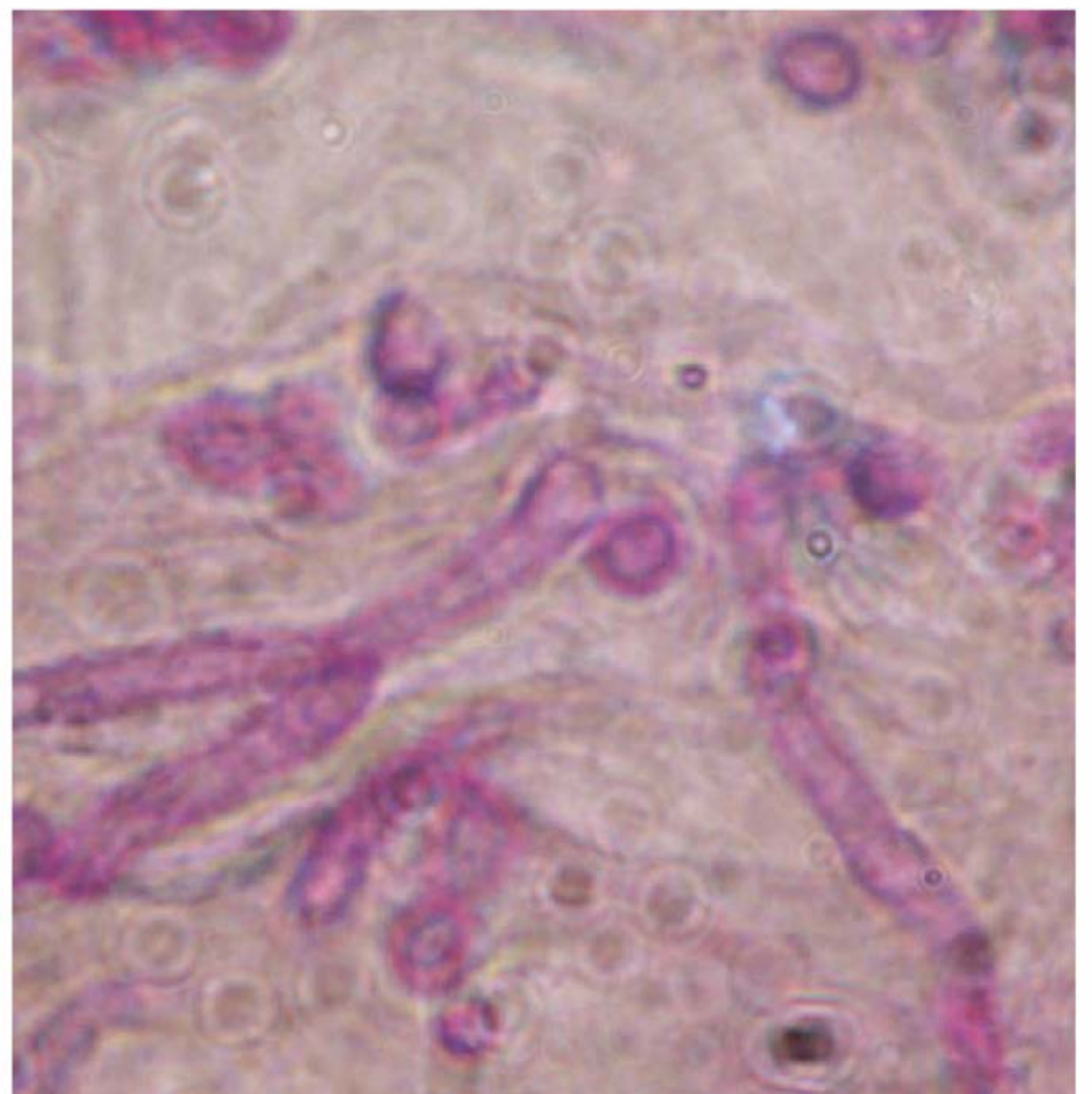


FIGURA 45.24 Candidíase. Leveduras e pseudo-hifas em tecido, coradas com ácido periódico de Schiff. Ampliada 1.000 vezes.

não têm valor, visto que as espécies de *Candida* fazem parte da microbiota oral. As culturas de lesões cutâneas confirmam o diagnóstico.

D. Sorologia

Em geral, os testes sorológicos atualmente disponíveis têm especificidade ou sensibilidade limitadas. Os anticorpos séricos e a imunidade celular podem ser demonstrados na maioria dos indivíduos em decorrência de exposição duradoura a *Candida*. Na candidíase sistêmica, pode haver elevação dos títulos de anticorpos contra vários antígenos de *Candida*, mas não existe critério bem definido para se estabelecer um diagnóstico sorológico. A detecção de manano circulante da parede celular, por meio de um teste de aglutinação com látex ou um ensaio imunoenzimático, é muito mais específica, porém o teste carece de sensibilidade, visto que vários pacientes apresentam resultado positivo apenas transitório ou não desenvolvem títulos de antígenos detectáveis e significativos até um estágio tardio da doença. Um teste sorológico para a detecção de uma β -glucana circulante, encontrada na parede celular de muitas espécies fúngicas, não é específico para *Candida*, porém pode ser útil quando associado a outros testes laboratoriais e dados clínicos.

Imunidade

A base da resistência à candidíase é complexa e não está totalmente esclarecida. As respostas imunológicas celulares, particularmente das células CD4, são importantes no controle da candidíase mucocutânea, e os neutrófilos provavelmente são cruciais para a resistência do hospedeiro à candidíase sistêmica.

Tratamento

Em geral, o tratamento do sapinho e das outras formas mucocutâneas de candidíase consiste em nistatina tópica ou cetocozol ou fluconazol orais. A candidíase sistêmica é tratada com anfotericina B, às vezes em combinação com flucitosina oral, fluconazol ou caspofungina. O desaparecimento das lesões cutâneas é acelerado pela eliminação dos fatores contribuintes, como umidade excessiva ou uso de antibacterianos. A candidíase mucocutânea crônica responde de modo satisfatório ao cetoconazol oral e a outros azóis, mas os pacientes apresentam um defeito genético de imunidade celular e com frequência necessitam de tratamento durante toda a vida.

Muitas vezes é difícil estabelecer um diagnóstico precoce de candidíase sistêmica, visto que os sinais clínicos não são definitivos, e as culturas muitas vezes se mostram negativas. Além disso, não existe um esquema profilático estabelecido para os pacientes que correm risco, embora o tratamento com um azol ou com um pequeno esquema de anfotericina B em baixas doses seja frequentemente indicado aos pacientes febris ou debilitados que apresentam imunocomprometimento e que não respondem à terapia antibacteriana (ver adiante).

Epidemiologia e controle

A medida preventiva mais importante consiste em evitar qualquer distúrbio no equilíbrio normal da microbiota e das

defesas íntegras do hospedeiro. A candidíase não é contagiosa, visto que praticamente todas as pessoas normalmente abrigam o microrganismo. Contudo, estudos epidemiológicos moleculares têm documentado surtos nosocomiais de algumas amostras em indivíduos suscetíveis (p. ex., leucêmicos, neonatos, indivíduos em terapia intensiva).

CRÍPTOCOCOSE

O *Cryptococcus neoformans* e *C. gattii* são leveduras basidiomycéticas ambientais. Ao contrário de outros fungos patogênicos, esses organismos leveduriformes expressam uma grande cápsula polissacarídica (Fig. 45.25). O *C. neoformans* está distribuído mundialmente na natureza, sendo isolado facilmente em fezes secas de pombos, assim como nos troncos de árvores e no solo. O *C. gattii* é menos comum e está tipicamente associado a árvores de áreas tropicais. Ambas as espécies causam criptococose, que ocorre após a inalação de células dessecadas de leveduras ou possivelmente por pequenos basidiósporos. Nos pulmões, essas leveduras neurotrópicas migram tipicamente para o sistema nervoso central, onde causam meningoencefalites (Fig. 45.26). Entretanto, também têm a capacidade de infectar muitos outros órgãos (p. ex., a pele, olhos, próstata). O *C. neoformans* ocorre em pessoas imunocompetentes, mas com maior frequência em pacientes com HIV/Aids, doenças hematogênicas e outras condições imunossupressivas. A criptococose causada por *C. gattii* é rara e geralmente associada a hospedeiros aparentemente normais. De modo geral, aproximadamente, um milhão de novos casos de criptococose ocorrem anualmente e com um índice de mortalidade de 50%. Mais de 90% dessas infecções são causadas por *C. neoformans*. Embora *C. gattii* seja menos prevalente globalmente, na década passada houve um aumento dos surtos causados por esse microrganismo no Noroeste do Pacífico.

Morfologia e identificação

Em cultura, as espécies de *C. neoformans* produzem colônias mucoides esbranquiçadas em 2 a 3 dias. Ao exame microscópico,

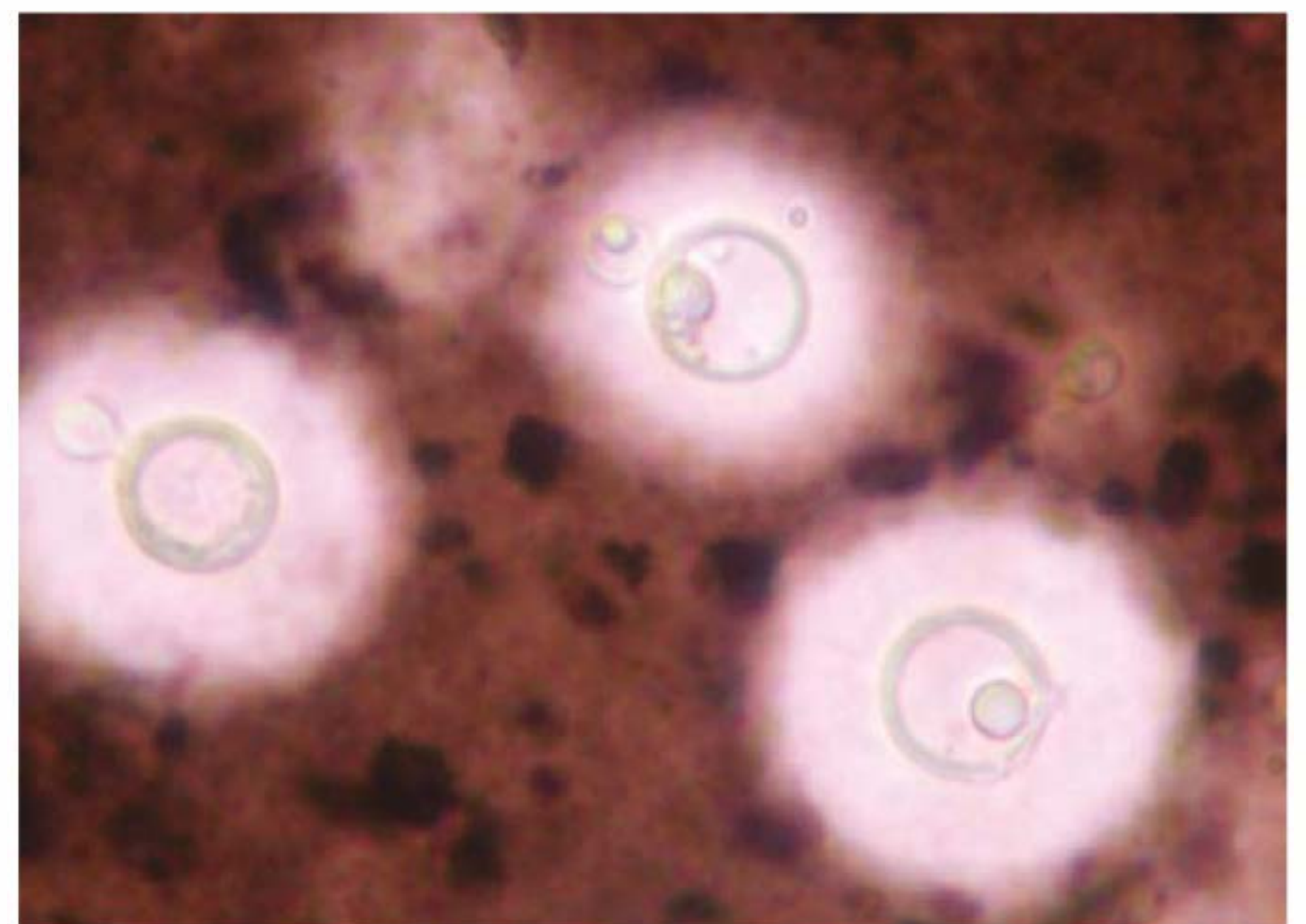


FIGURA 45.25 Criptococose. A cápsula de *Cryptococcus neoformans* está bem aparente nesta amostra de lavado pulmonar. Coloração de Giemsa. Ampliada 1.000 vezes.

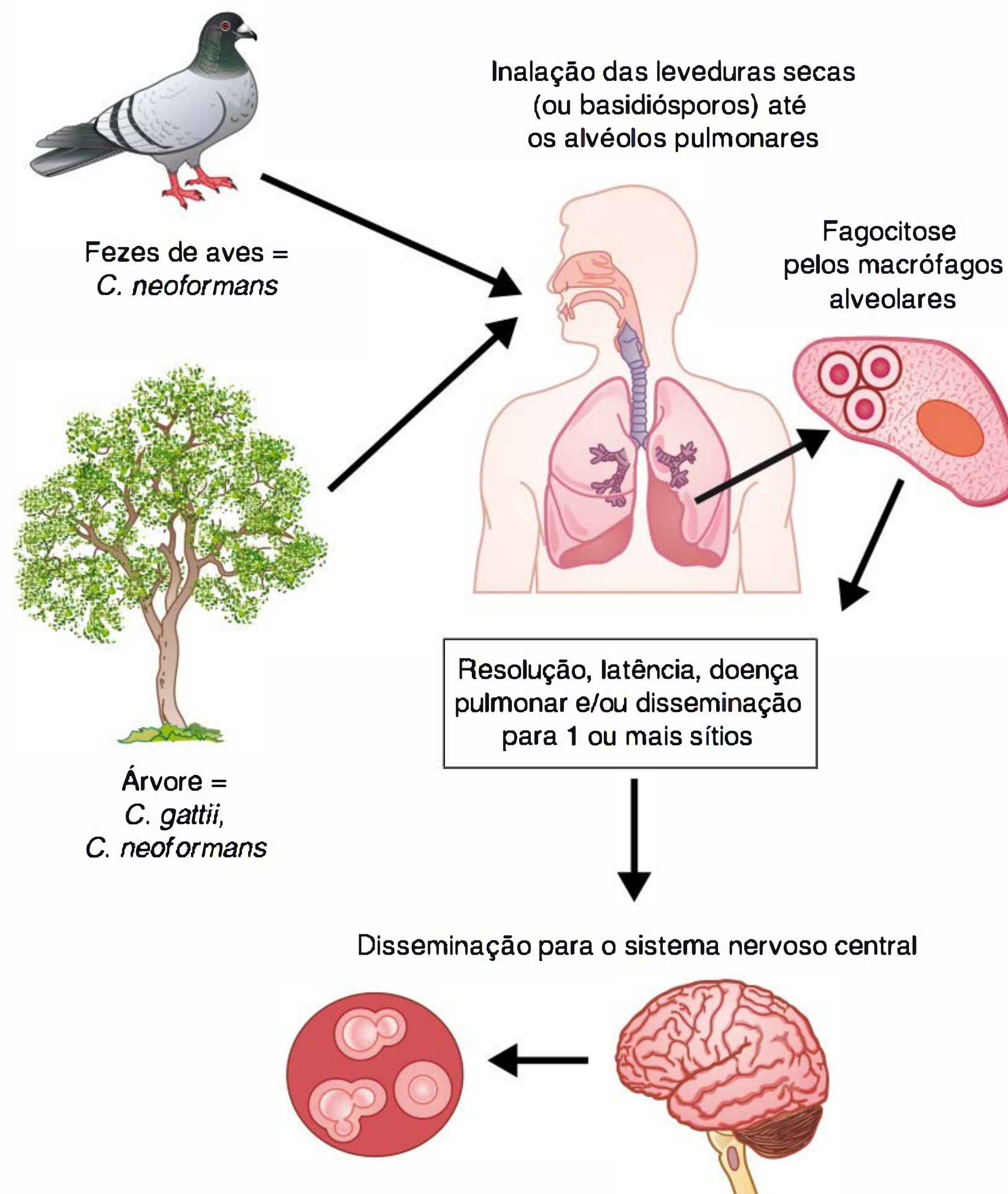


FIGURA 45.26 História natural da criptococose. (Reproduzida, com autorização, de Heitman J, Kozel TR, Kwon-Chung KJ, Perfect JR, Casadevall A [editors]: *Cryptococcus. From Human Pathogen to Model Yeast*. Washington, DC, ASM Press, 2011, Figure 1, p. 238.)

em culturas ou material clínico, as células esféricas em brotamento (com 5 a 10 μm de diâmetro) são circundadas por uma cápsula espessa (Fig. 45.25) que não sofre coloração. Todas as espécies de *Cryptococcus*, inclusive várias não patogênicas, são encapsuladas e apresentam urease. Entretanto, *C. neoformans* e *C. gattii* diferem das espécies não patogênicas de *Cryptococcus* pela capacidade de crescer a 37°C e a produção de lacase, uma fenol-oxidase que catalisa a formação de melanina a partir de substratos fenólicos apropriados (p. ex., catecolaminas). A cápsula e lacase são fatores de virulência bem caracterizados. Os isolados clínicos podem ser identificados por demonstração da produção de lacase ou de um padrão específico de assimilação dos carboidratos. Os antissoros adsorvidos são definidos em cinco sorotipos: A-D e AD; as linhagens de *C. neoformans* podem possuir os sorotipos A, D ou AD, e os isolados de *C. gattii* podem ter sorotipos B ou C. Além de seus sorotipos capsulares, as duas espécies diferem quanto a seus genótipos, sua ecologia, algumas reações bioquímicas e manifestações clínicas. É possível demonstrar a reprodução sexuada do microrganismo em laboratório, e sua reprodução bem-sucedida leva à produção de micélios e basidiósporos; os teleomorfos correspondentes das duas variedades são a *Filobasidiella neoformans* variante *neoformans* (sorotipos A e D) e *Filobasidiella neoformans* variante *bacillispora* (sorotipos B e C).

Estrutura antigênica

Os polissacarídeos capsulares, independentemente do sorotipo, exibem estrutura semelhante: trata-se de polímeros longos e não ramificados, constituídos de um arcabouço de polimanoose de ligação α -1,3, com ramificações monoméricas de xilose e ácido glicurônico de ligação β . Durante a infecção, o polissacarídeo capsular é solubilizado em líquido cefalorraquiano, no soro ou na urina, podendo ser detectado por ensaio imunoenzimático ou aglutinação de partículas de látex recobertas com anticorpos dirigidos contra o polissacarídeo. Com o uso de controles apropriados, esse teste permite que se estabeleça o diagnóstico de criptococose. Além disso, podem-se determinar os anticorpos do paciente contra a cápsula, embora sua presença não seja utilizada no diagnóstico.

Patogênese

A infecção inicia após a inalação de células leveduriformes, que são secas, minimamente encapsuladas na natureza e facilmente aerossolizadas. A infecção pulmonar primária pode ser assintomática ou imitar infecção respiratória semelhante à *influenza*, frequentemente com resolução espontânea. Em pacientes imunocomprometidos, as leveduras podem multiplicar-se e

propagar-se para outras partes do corpo, mas preferencialmente para o sistema nervoso central, provocando meningoencefalite criptocócica (Fig. 45.26). Outros locais comuns de disseminação são a pele, os ossos, os olhos e a próstata. A reação inflamatória geralmente é mínima ou granulomatosa.

Manifestações clínicas

A principal manifestação clínica é meningite crônica, que pode assemelhar-se a um tumor cerebral, abscesso cerebral, doença degenerativa do sistema nervoso central ou a qualquer meningite micobacteriana ou fúngica. A pressão do líquido cefalorraquidiano e os níveis de proteínas podem estar elevados bem como a contagem de células, enquanto a concentração de glicose apresenta-se normal ou baixa. Os pacientes podem queixar-se de cefaleia, rigidez de nuca e desorientação. Além disso, podem ocorrer lesões na pele, nos pulmões ou em outros órgãos.

A evolução da meningite criptocócica pode flutuar durante longos períodos; entretanto, os casos sem tratamento acabam sendo fatais. Cerca de 58% dos pacientes com Aids desenvolvem meningite criptocócica. A infecção não é transmitida de uma pessoa para outra.

Exames diagnósticos laboratoriais

A. Amostras, exame microscópico e cultura

As amostras incluem líquido cefalorraquidiano, tecido, exsudatos, escarro, sangue, raspados cutâneos e urina. O líquido cefalorraquidiano deve ser centrifugado antes do exame microscópico e da realização de cultura. Para a microscopia direta, as amostras devem ser examinadas em preparações a fresco diretamente e após mistura com tinta nanquim, que destaca a cápsula (Fig. 45.25).

Verifica-se o crescimento de colônias em poucos dias na maioria dos meios de cultura, à temperatura ambiente ou a 37°C. Os meios que contêm cicloeximida inibem o *Cryptococcus*, devendo, por isso, ser evitados. As culturas podem ser identificadas pelo crescimento dos microrganismos a 37°C e por detecção da urease. Alternativamente, em um substrato difenólico apropriado, a fenol-oxidase (ou lacase) do *C. neoformans* e do *C. gattii* produz melanina nas paredes celulares, de modo que as colônias adquirem um pigmento marrom.

B. Sorologia

Os testes para o antígeno capsular podem ser efetuados em amostras de líquido cefalorraquidiano, urina e soro. O teste de aglutinação do látex em lâmina e testes imunoenzimáticos para o antígeno criptocócico mostram-se positivo em 90% dos pacientes com meningite criptocócica. Com o tratamento eficaz, o título de antígenos cai — exceto em pacientes com Aids, que frequentemente mantêm títulos elevados de antígenos por longos períodos.

Tratamento

A terapia de combinação com anfotericina B e flucitosina foi considerada o tratamento-padrão para meningite criptocócica, embora o benefício do acréscimo de flucitosina permaneça controverso. A anfotericina B (com ou sem flucitosina) é curativa na maioria dos pacientes não infectados pelo HIV/Aids.

Pacientes com Aids e sem tratamento adequado quase sempre irão sofrer recidiva quando o uso de anfotericina B for interrompido, necessitando de terapia supressora permanente com fluconazol, o qual apresenta excelente penetração no sistema nervoso central. Os pacientes com HIV/Aids tratados com a terapia antirretroviral altamente ativa (HAART) têm baixa incidência de criptococose, e os casos têm um prognóstico muito melhor. Entretanto, um terço desses pacientes com meningite criptocócica desenvolve síndrome inflamatória de reconstituição imunológica (*immune reconstitution inflammatory syndrome* [IRIS])*, que causa exacerbação da doença. O diagnóstico, patogênese e tratamento da IRIS são problemáticos. Além disso, IRIS pode causar uma reação paradoxal, revelando casos de criptococoses não diagnosticados. IRIS também ocorre em pacientes com Aids que apresentam tuberculose.

Epidemiologia, controle e ecologia

Os excrementos de aves (particularmente de pombos) favorecem o crescimento do *C. neoformans*, atuando como reservatório da infecção. O microrganismo cresce de modo exuberante em excrementos de pombos, embora estas aves não sejam infectadas. Além dos pacientes com Aids ou neoplasias hematológicas, aqueles mantidos sob corticosteroides mostram-se altamente suscetíveis à criptococose. Na região Subsaariana da África, o epicentro do HIV/Aids, o *C. neoformans* lidera os casos de meningites com uma estimativa de um milhão de novos casos e de 600.000 mortes por ano.

A grande maioria dos casos globais de criptococose é causada por *C. neoformans* (sorotipo A).

No entanto, a espécie *C. gattii*, normalmente tropical, surgiu no noroeste do Pacífico, onde foi isolada de várias espécies de árvores, do solo e da água locais. Desde 2000, casos humanos e veterinários têm se expandido da Ilha de Vancouver para a Columbia Britânica continental, Washington, Oregon, Califórnia e Idaho.

ASPERGILOSE

A aspergilose representa um espectro de doenças que podem ser causadas por diversas espécies de *Aspergillus*. As espécies de *Aspergillus* são sapróbios onipresentes na natureza, e a aspergilose ocorre no mundo inteiro. O *A. fumigatus* é o patógeno humano mais comum, mas muitos outros, inclusive *A. flavus*, *A. niger*, *A. terreus* e *A. lentulus*, podem causar doença. Tais fungos produzem quantidades abundantes de pequenos conídios facilmente aerossolizados. Após a inalação desses conídios, os indivíduos atópicos frequentemente desenvolvem reações alérgicas graves aos antígenos dos conídios. Em pacientes imunocomprometidos — particularmente aqueles com leucemia, os submetidos a transplante de células-tronco e indivíduos em uso de corticosteroides —, os conídios podem germinar, produzindo hifas que invadem os pulmões e outros tecidos.

* N. de R.T. A IRIS caracteriza-se por intensa e exacerbada resposta inflamatória, associada à reconstituição imune ocasionada pelo tratamento antirretroviral cujas manifestações incluem a presença de infecções subclínicas, tumores e desordens autoimunes. Os agentes infecciosos mais comumente relacionados com a IRIS incluem o herpes-zóster, *Cytomegalovirus* (CMV), *M. tuberculosis* ou complexo *Mycobacterium avium*, e o *Cryptococcus neoformans*.

Morfologia e identificação

As espécies de *Aspergillus* crescem rapidamente, produzindo hifas aéreas que exibem estruturas características de conídios: conidióforos longos com vesículas terminais sobre as quais as fiáldes produzem cadeias basípetais de conídios (Fig. 45.6). As espécies são identificadas de acordo com as diferenças morfológicas observadas nessas estruturas, como tamanho, forma, textura e cor dos conídios.

Patogênese

Nos pulmões, os macrófagos alveolares são capazes de fagocitar e destruir os conídios. Entretanto, os macrófagos de animais tratados com corticosteroides ou de pacientes imunocomprometidos apresentam capacidade reduzida de conter o inóculo. Nos pulmões, os conídios intumescem e germinam, produzindo hifas que tendem a invadir cavidades preexistentes (aspergiloma ou bola fúngica) ou vasos sanguíneos.

Manifestações clínicas

A. Formas alérgicas

Em alguns indivíduos atópicos, o desenvolvimento de anticorpos IgE contra os antígenos de superfície dos conídios de *Aspergillus* desencadeia uma reação asmática imediata em caso de exposição subsequente. Em outros, os conídios germinam, e as hifas colonizam a árvore brônquica sem invadir o parênquima pulmonar, fenômeno característico da **aspergilose broncopulmonar alérgica**, clinicamente definida pela ocorrência de asma, infiltrados recorrentes no tórax, eosinofilia e hipersensibilidade de testes cutâneos tipo I (imediata) e tipo III (Arthus) ao antígeno do *Aspergillus*. Muitos pacientes produzem escarro com o *Aspergillus* e precipitinas séricas. Esses indivíduos têm dificuldade de respirar, podendo desenvolver fibrose pulmonar permanente. Em hospedeiros normais expostos a doses maciças de conídios, pode-se verificar o desenvolvimento de **alveolite alérgica extrínseca**.

B. Aspergiloma e colonização extrapulmonar

Observa-se a formação de aspergiloma quando os conídios inalados penetram em uma cavidade preexistente, germinam e produzem quantidades abundantes de hifas no espaço pulmonar anormal. Os pacientes com doença cavitária anterior (p. ex., tuberculose, sarcoidose, enfisema) correm risco. Alguns pacientes são assintomáticos, enquanto outros apresentam tosse, dispnéia, perda de peso, fadiga e hemoptise. Os casos de aspergiloma raramente tornam-se invasivos. As infecções não invasivas localizadas (colonização) por espécies de *Aspergillus* podem afetar os seios nasais, o canal auditivo, a córnea ou as unhas.

C. Aspergilose invasiva

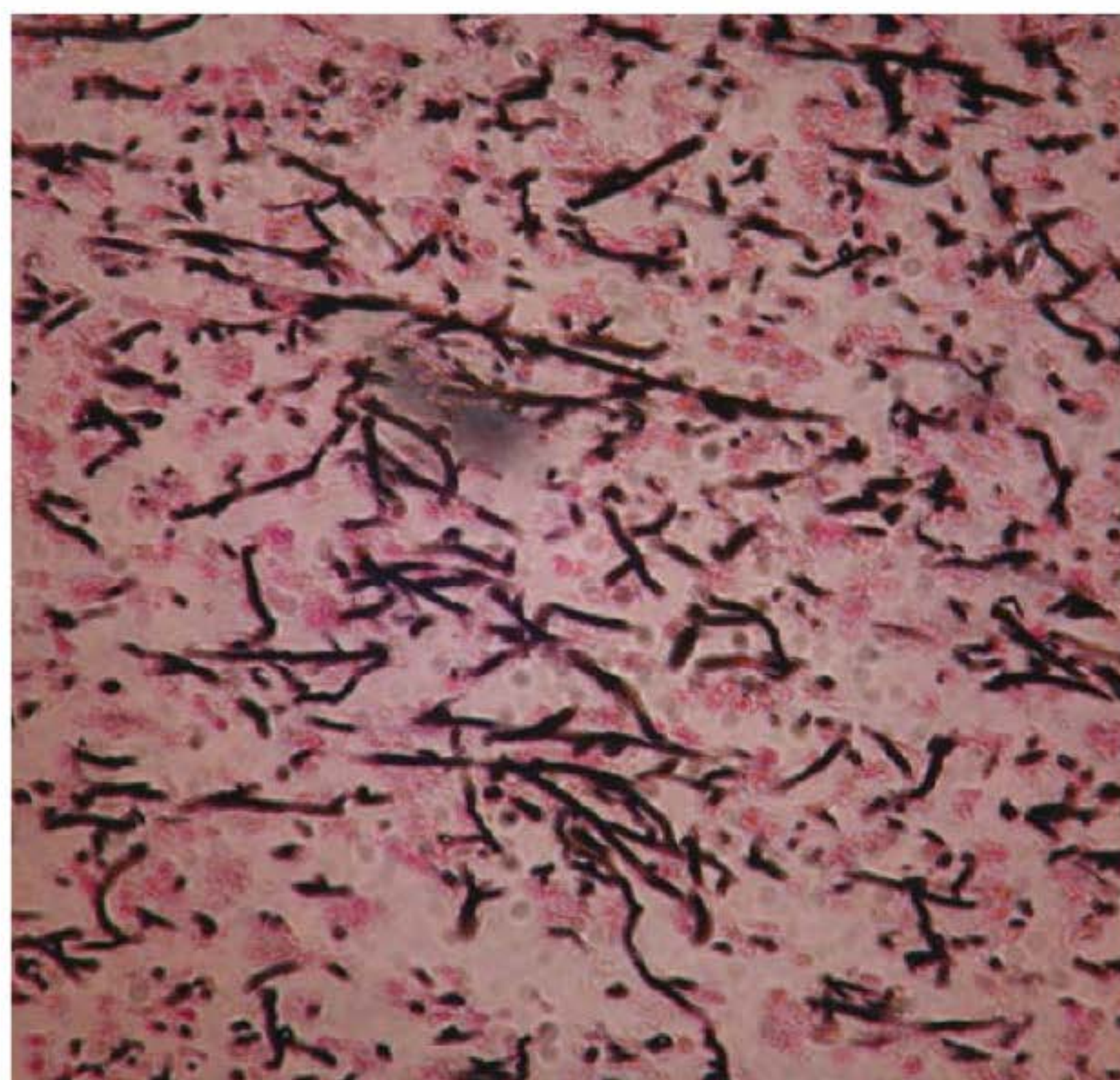
Após a inalação e germinação dos conídios, ocorre doença invasiva em forma de processo pneumônico agudo com ou sem disseminação. Os pacientes que correm risco são aqueles que têm leucemia linfocítica ou mielógena e linfoma, receptores de transplante de células-tronco e, em particular, indivíduos em uso de corticosteroides. O risco é muito maior para pacientes que estejam recebendo transplantes alogênicos (mais do que transplantes autólogos) de células-tronco hematopoiéticas. Também os pacientes com Aids e contagem de células T CD4

inferior a 50 células/ μL são predispostos a aspergilose invasiva. Os sintomas consistem em febre, tosse, dispnéia e hemoptise. As hifas invadem o lúmen e a parede dos vasos sanguíneos, provocando trombose, infarto e necrose. A partir dos pulmões, a doença pode disseminar-se para o trato gastrointestinal, os rins, o fígado, o cérebro ou outros órgãos, originando abscessos e lesões necróticas. Na ausência de tratamento rápido, o prognóstico para os pacientes com aspergilose invasiva é ruim. Os indivíduos com doença subjacente menos grave podem desenvolver aspergilose pulmonar necrosante crônica, uma doença mais branda.

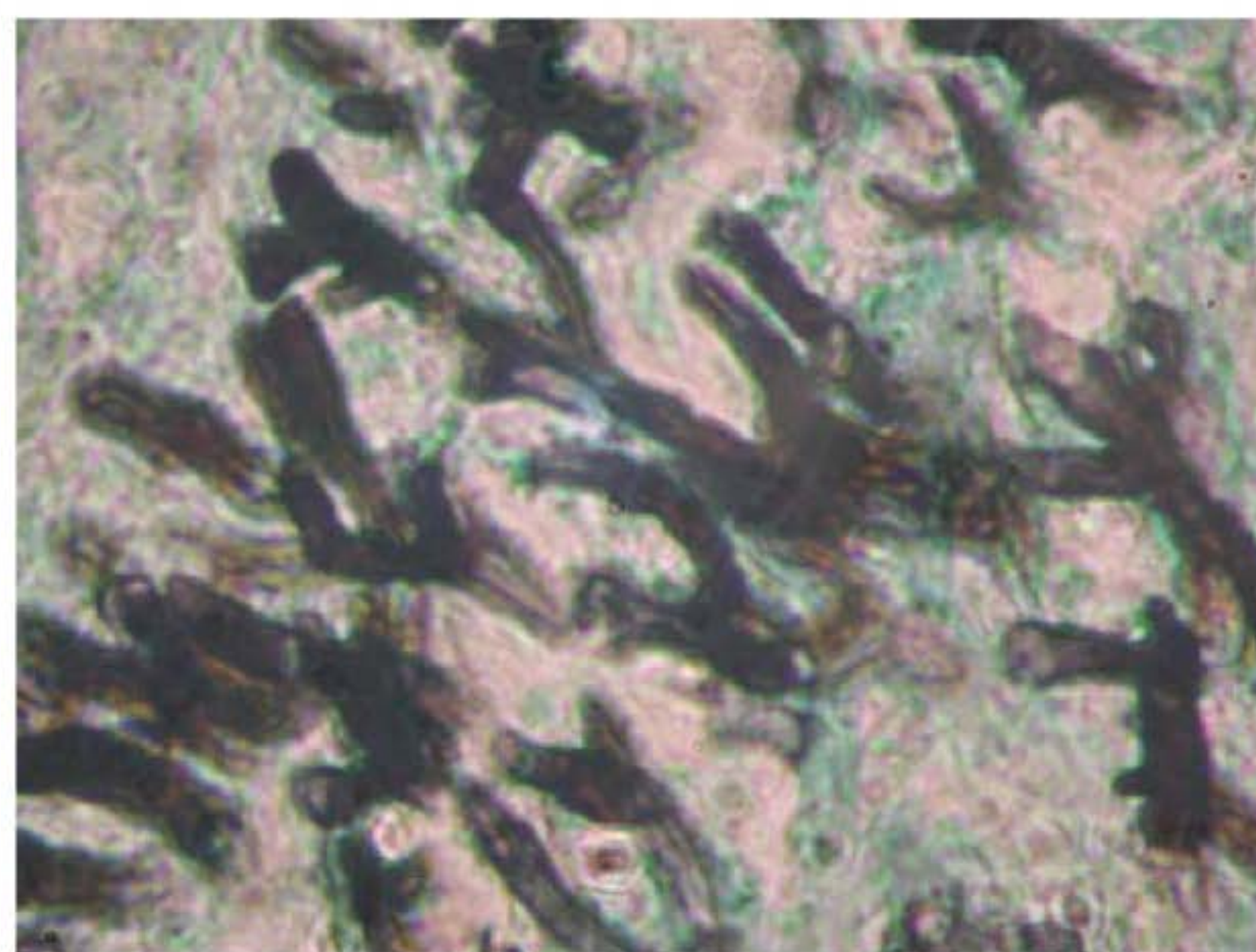
Exames diagnósticos laboratoriais

A. Amostras, exame microscópico e cultura

O escarro, outras amostras do trato respiratório ou a biópsia pulmonar fornecem amostras adequadas. As amostras de sangue raramente são positivas.



A



B

FIGURA 45.27 Aspergilose invasiva. (A) Hifas septadas ramificadas, uniformes (cerca de 4 μm de largura) de *Aspergillus fumigatus* em tecido pulmonar corado com metenamina-prata de Gomori. Ampliada 400 vezes. (B) Preparação semelhante com coloração de Grocott. Ampliada 1.000 vezes.

Ao exame direto de amostra de escarro com KOH ou calcofluorado branco, ou em cortes histológicos, as hifas de espécies de *Aspergillus* são hialinas, septadas, de largura uniforme (com cerca de 4 μm), tendo ramificação dicotômica (Fig. 45.27).

As espécies de *Aspergillus* crescem em poucos dias na maioria dos meios de cultura à temperatura ambiente. As espécies são identificadas de acordo com a morfologia das estruturas dos conídios (Fig. 45.6).

B. Sorologia

O teste de ID para as precipitinas contra *A. fumigatus* fornece um resultado positivo em mais de 80% dos pacientes com aspergiloma ou formas alérgicas de aspergilose, mas os testes de anticorpos não são úteis para o estabelecimento do diagnóstico de aspergilose invasiva. Nesta última manifestação clínica, a realização de um teste sorológico para o galactomanano da parede celular circulante é diagnóstica, porém não inteiramente específica para aspergilose. Além disso, para esse teste, a detecção de β -glucano também é útil no diagnóstico das aspergiloses invasivas, assim como para as candidíases.

Tratamento

O tratamento do aspergiloma consiste em itraconazol e anfotericina B, bem como cirurgia. A aspergilose invasiva exige a rápida administração de preparação nativa ou lipídica de anfotericina B ou voriconazol, geralmente suplementada com imunoterapia por citocinas (p. ex., fator estimulante de formação de colônias de granulócitos-macrófagos ou γ -interferon). Cepas resistentes à anfotericina B do *A. terreus* e outras espécies, inclusive *A. flavus* e *A. lentulus*, têm surgido em leucemias graves, em centros de tratamento, e o posaconazol, um novo triazol, pode ser mais eficaz nessas infecções. As doenças pulmonares necrosantes crônicas menos graves podem ser tratadas com voriconazol ou itraconazol. As formas alérgicas de aspergilose são tratadas com corticosteroides ou cromoglicato dissódico.

Epidemiologia e controle

Para os indivíduos que correm risco de doença alérgica ou aspergilose invasiva, é necessário todo o empenho para evitar exposição a conídios de espécies de *Aspergillus*. Em sua maioria, as unidades de transplante de medula óssea empregam sistemas de ar-condicionado com filtração, monitoram os contaminantes transportados pelo ar nos quartos dos pacientes, reduzem as visitas e instituem outras medidas para isolar os pacientes e minimizar o risco de exposição aos conídios de *Aspergillus* e de outros bolores. Alguns pacientes sob risco de adquirir aspergilose invasiva recebem baixas doses profiláticas de anfotericina B ou itraconazol.

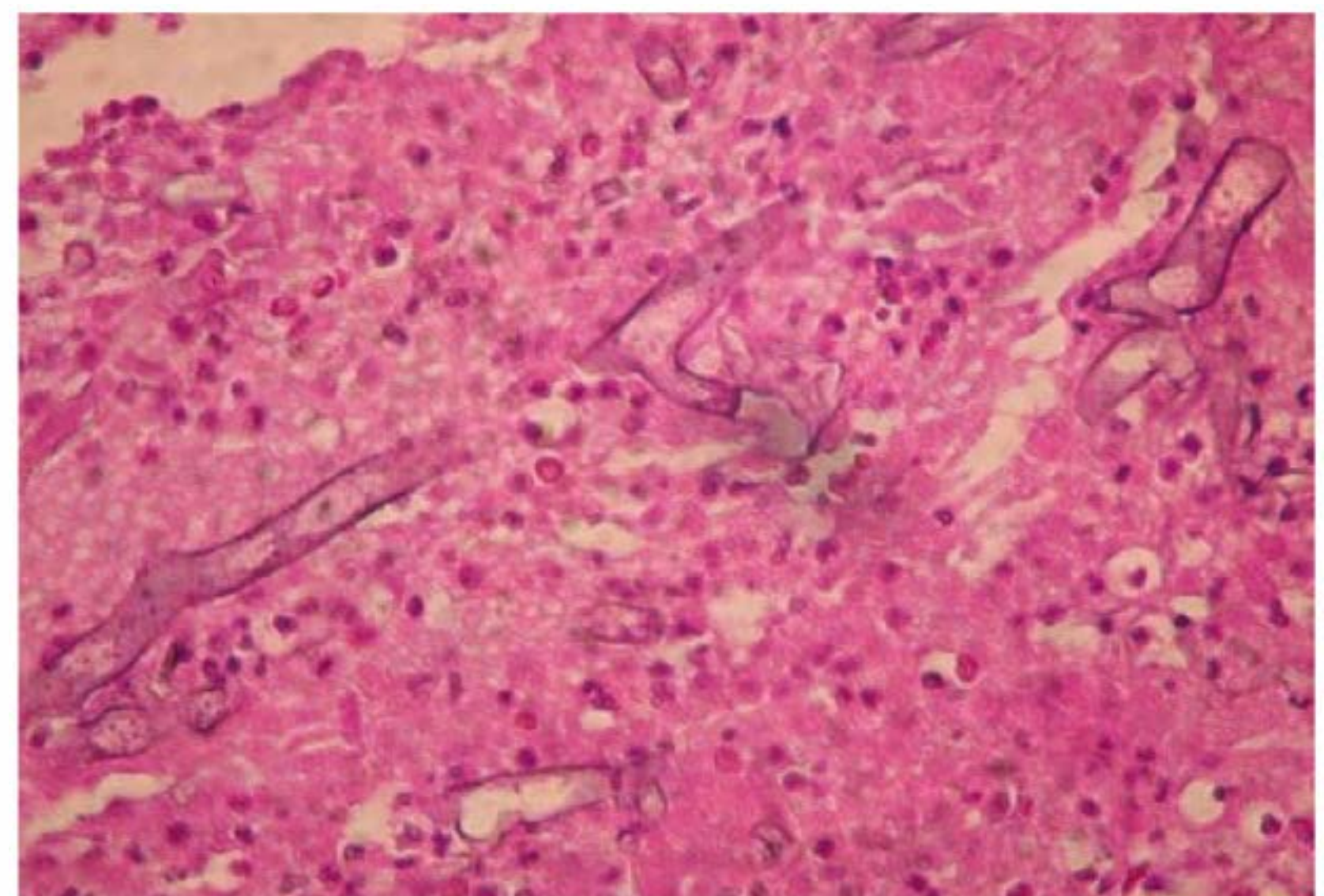
MUCORMICOSE

A mucormicose (zigomicose) é uma micose oportunista causada por diversos bolores classificados na ordem *Mucorales* do filo *Glomerulomycota* e subfilo *Mucoromycotina*, fungos sapróbios termotolerantes onipresentes. Os principais patógenos encontrados nesse grupo de fungos consistem em espécies

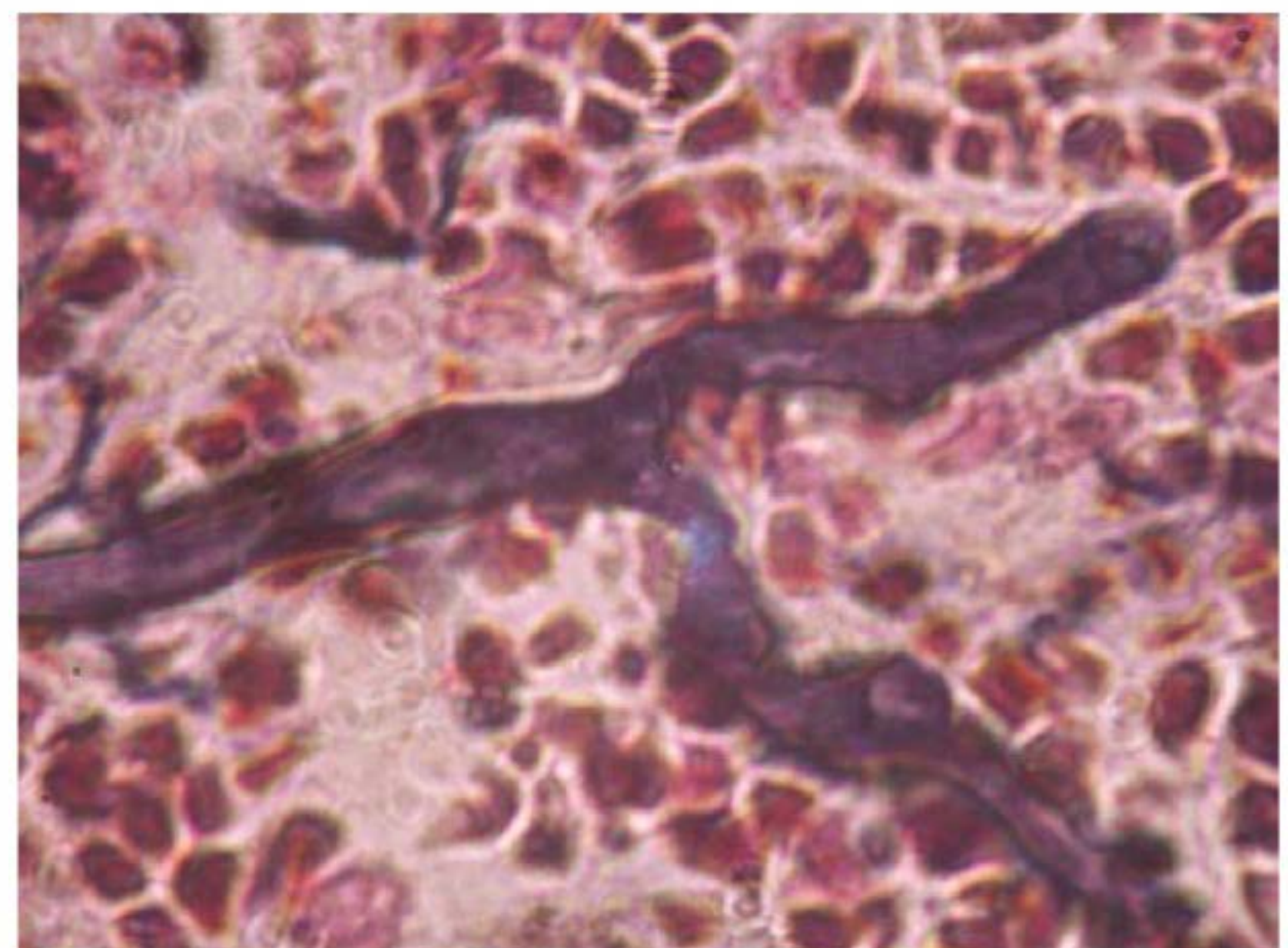
dos gêneros *Rhizopus* (Fig. 45.2), *Rhizomucor*, *Lichtheimia*, *Cunninghamella* (Fig. 45.3) e *Mucor*. O agente mais prevalente é *Rhizopus oryzae*. As condições que levam os pacientes a correrem risco são acidose — particularmente a associada ao diabetes melito —, leucemia, linfoma, tratamento com corticosteroides, queimaduras graves, imunodeficiências e outras doenças debilitantes bem como diálise com deferoxamina, um agente quelante do ferro.

A principal forma clínica é a mucormicose rinocerebral, que resulta da germinação dos esporangiósporos nas passagens nasais e da invasão dos vasos sanguíneos pelas hifas, causando trombose, infarto e necrose. A doença pode evoluir rapidamente, com invasão dos seios nasais, olhos, ossos cranianos e cérebro. Ocorre lesão dos vasos sanguíneos e dos nervos, e os pacientes desenvolvem edema da área facial acometida, exsudato nasal sanguinolento e celulite orbitária. A mucormicose torácica ocorre após a inalação dos esporangiósporos, com invasão do parênquima e da vasculatura pulmonares. Em ambos os locais, a necrose isquêmica provoca destruição tecidual maciça. Com menor frequência, tal processo é associado a curativos de feridas contaminados e a outras situações.

O exame direto ou a cultura da secreção nasal, amostras de tecido ou escarro revelam a presença de hifas largas (com 10 a



A



B

FIGURA 45.28 Mucormicose (zigomicose) (A) Hifas escassamente septadas, em forma de fita (10 a 15 μm de largura) de *Rhizopus oryzae* em tecido pulmonar. HE. Ampliada 400 vezes. (B) Amostra histopatológica semelhante, corada com metenamina — prata de Gomori. Ampliada 1.000 vezes.

15 μm), tendo espessura desigual, ramificação irregular e septos esparsos (Fig. 45.28). Esses fungos crescem rapidamente em meios laboratoriais, formando quantidades abundantes de colônias com aspecto de algodão. A identificação baseia-se nas estruturas dos esporângios. O tratamento consiste em desbridamento cirúrgico agressivo, administração rápida de anfotericina B e controle da doença subjacente. Muitos pacientes sobrevivem, mas podem-se observar efeitos residuais, como paralisia parcial da face ou perda de um olho.

PNEUMONIA POR *PNEUMOCYSTIS*

O *Pneumocystis jirovecii* provoca pneumonia em pacientes imunocomprometidos, mas a ocorrência de disseminação é rara. Por muito tempo, o *P. jirovecii* era considerado um protozoário; todavia, estudos de biologia molecular comprovaram que se trata de um fungo com estreita relação com os ascomi-cetos. As espécies de *Pneumocystis* são encontradas nos pulmões de muitos mamíferos (ratos, camundongos, cães, gatos, doninhas e coelhos), porém raramente causam doença, a não ser que o hospedeiro esteja imunossuprimido. O *P. jirovecii* é a espécie humana, e a mais familiar, *P. carinii*, é encontrada somente em ratos. Até a ocorrência da epidemia de Aids, a doença humana era limitada à pneumonite intersticial de plasmócitos em lactentes desnutridos e pacientes imunossuprimidos (terapia com corticosteroides, antineoplásicos e em receptores de transplante). Antes da introdução dos esquemas eficazes de quimioprofilaxia, constituía importante causa de morte entre os pacientes com Aids. A quimioprofilaxia resultou em notável redução da incidência de pneumonia; todavia, constatou-se um aumento das infecções em outros órgãos, principalmente o baço, os linfonodos e a medula óssea.

O *P. jirovecii* apresenta duas formas morfológicamente distintas: os trofozoítos de parede fina e os cistos, que têm paredes espessas, são esféricos a elípticos (com 4 a 6 μm) e contêm 4 a 8 núcleos. Os cistos podem ser corados com prata, azul de toluidina e calcofluorado branco. Na maioria das amostras clínicas, os trofozoítos e os cistos são encontrados em uma massa compacta, que provavelmente reflete o seu modo de crescimento no hospedeiro. O *P. jirovecii* contém uma glicoproteína de superfície que pode ser detectada no soro de indivíduos normais ou com doença aguda.

O *P. jirovecii* é um patógeno extracelular. O crescimento nos pulmões limita-se à camada de surfactante existente sobre o epitélio alveolar. Em pacientes sem Aids, a infiltração dos espaços alveolares por plasmócitos resulta em pneumonite intersticial de plasmócitos. Não há plasmócitos na pneumonia por *Pneumocystis* relacionada com a Aids. O bloqueio da interface de troca de oxigênio resulta em cianose.

Para se estabelecer o diagnóstico de pneumonia por *Pneumocystis*, as amostras de lavado broncoalveolar, biópsia de tecido pulmonar ou escarro induzido devem ser coradas e examinadas à procura de cistos ou trofozoítos. Os corantes apropriados são o método de Giemsa, azul de toluidina, metenamina-prata e calcofluorado branco. Dispõe-se de um anticorpo monoclonal específico para o exame fluorescente direto das amostras. É impossível cultivar o *Pneumocystis*. Apesar de não ser clinicamente útil, a sorologia tem sido utilizada para estabelecer a prevalência da infecção.

Na ausência de imunossupressão, o *P. jirovecii* não provoca doença. As evidências sorológicas sugerem que a maioria dos indivíduos é infectada no início da infância, e o microrganismo apresenta distribuição mundial. A imunidade celular presumivelmente desempenha papel predominante na resistência à doença, visto que os pacientes com Aids frequentemente exibem títulos significativos de anticorpos, e a pneumonia por *Pneumocystis* geralmente não é observada até que ocorra uma queda da contagem de linfócitos CD4 para menos de 400/ μL .

Os casos agudos de pneumonia por *Pneumocystis* são tratados com sulfametoxazol-trimetoprim (SMZ-TMP) ou isotionato de pentamidina. A profilaxia pode ser efetuada com SMZ-TMP diariamente ou pentamidina inalada. Existem também outros fármacos disponíveis.

Não foi demonstrado reservatório algum e é possível que o agente seja um membro obrigatório da microbiota normal. Os indivíduos que correm risco recebem quimioprofilaxia. O modo de infecção ainda não foi esclarecido, podendo ser possível a transmissão por aerossóis.

PENICILIOSE

Somente uma das inúmeras e ubiqüitárias espécies ambientais de *Penicillium* é dimórfica, *Penicillium marneffeii*. Essa espécie surgiu como um patógeno endêmico oportunista. *P. marneffeii* é encontrado em diversas regiões do Sudeste da Ásia, inclusive o Sudeste da China, Tailândia, Vietnam, Indonésia, Hong Kong, Taiwan e o Estado de Manipur na Índia. Nestas áreas endêmicas, *P. marneffeii* foi isolado do solo, especialmente o solo associado a ratos do bambu e seus *habitats*. À temperatura ambiente, as formas fúngicas (bolores) crescem rapidamente e desenvolvem colônias verde-amareladas com um pigmento vermelho difuso. As hifas septadas e ramificadas produzem conidióforos aéreos contendo fiálides e cadeias basisseptais de conídias, similares às estruturas mostradas na Figura 45.4. Em tecido, as formas de hifas convertem-se em células semelhantes a leveduras, unicelulares (aproximadamente 2 \times 6 μm) que se dividem por fissão. O principal risco para infecção é imunodeficiência devida a HIV/Aids, tuberculose, tratamento com corticosteroide ou doenças linfoproliferativas. As manifestações clínicas incluem fungemia, lesões de pele e envolvimento sistêmico de vários órgãos, especialmente do sistema reticuloendotelial. Os sinais e sintomas iniciais são não específicos e podem incluir tosse, febre, fadiga, perda de peso e linfadenopatia. Entretanto, 70% dos pacientes, com ou sem Aids, desenvolvem pápulas cutâneas e subcutâneas, pústulas ou eritemas, os quais frequentemente são localizados na face. A partir de amostras de pele, sangue ou biópsia de tecidos, o diagnóstico pode ser estabelecido por observação microscópica de células de aspecto leveduriforme e culturas positivas. O tratamento geralmente implica o emprego de anfotericina B seguida de itraconazol. Sem tratamento, a mortalidade pode ultrapassar 90%.

OUTRAS MICOSES OPORTUNISTAS

Os indivíduos com comprometimento das defesas do hospedeiro são suscetíveis a infecções por milhares de bolores sapróbios existentes na natureza, que produzem esporos transportados

pelo ar. Essas micoses oportunistas ocorrem menos frequentemente que a candidíase, a aspergilose e a mucormicose, visto que os fungos são menos patogênicos. Os avanços na medicina têm resultado em um número cada vez maior de pacientes com imunocomprometimento grave, nos quais fungos normalmente não patogênicos podem tornar-se patógenos oportunistas. Infecções sistêmicas devastadoras já foram causadas por espécies de *Fusarium*, *Paecilomyces*, *Bipolaris*, *Curvularia*, *Alternaria* e muitas outras espécies. Alguns patógenos oportunistas são geograficamente limitados. Outro fator contribuinte é o uso crescente de antibióticos antifúngicos, que levou à seleção de espécies e cepas fúngicas resistentes.

VERIFICAÇÃO DE CONCEITOS: MICOSES OPORTUNISTAS

1. As micoses oportunistas são causadas por fungos de distribuição global, sendo também membros da microbiota normal humana (p. ex., diferentes espécies de *Candida* ou de leveduras e bolores ambientais). Antes das diferentes categorias de fungos, os fungos oportunistas apresentavam a maior taxa de mortalidade e incidência, além de maior severidade.
2. A resposta inata do hospedeiro (p. ex., neutrófilos, monócitos) fornece uma proteção crucial para candidíase sistêmica, aspergilose invasiva e mucormicose. Pacientes de risco incluem aqueles com discrasias hematológicas (p. ex., leucemias e neutropenias) e os submetidos à terapias imunossupressoras (p. ex., corticoides) ou fármacos citotóxicos.
3. A maioria dos indivíduos com HIV/Aids desenvolve candidíase de mucosa (sapinho e esofaringite). Aqueles com contagem de CD4 menor que 100 células/ μL apresentam maior risco de criptococose, pneumonia por *Pneumocystis*, aspergilose, peniciliose, micoses endêmicas e outras infecções.
4. O diagnóstico das aspergiloses invasivas ou de candidíases é dificultado, uma vez que as hemoculturas geralmente são negativas em pacientes com aspergilose e menos de 50% em pacientes com candidíase sistêmica.
5. O sucesso do controle das micoses oportunistas envolve o diagnóstico precoce, o rápido início da terapia antifúngica e o monitoramento das condições clínicas do paciente.

PROFILAXIA ANTIFÚNGICA

As micoses oportunistas estão aumentando entre os pacientes imunodeprimidos, especialmente naqueles com discrasias hematológicas (p. ex., leucemia), receptores de transplante de células-tronco e de órgãos sólidos, bem como pacientes que estejam recebendo fármacos citotóxicos e imunossupressores (p. ex., corticosteroides). A incidência das micoses sistêmicas entre os pacientes com leucemia linfocítica ou mielógena, por exemplo, é de 5 a 20%, e entre os pacientes que recebem transplantes de células-tronco alogênicas, de 5 a 10%. Muitos desses pacientes de alto risco apresentam suas defesas inatas deprimidas, como redução no número ou na funcionalidade dos neutrófilos e monócitos circulantes. Além disso, os pacientes com Aids são altamente suscetíveis a uma variedade de micoses

sistêmicas quando sua contagem de células CD4 cai abaixo de 100 células/ μL .

A lista de patógenos invasores oportunistas inclui espécies de *Candida*, *Cryptococcus*, *Saccharomyces* e outras leveduras; *Aspergillus* e outros bolores ascomicetos, tais como *Fusarium*, *Paecilomyces* e *Scopulariopsis*; bolores demácios (p. ex., espécies de *Bipolaris*, *Phialophora*, *Cladosporium*) e os bolores da ordem Mucorales (*Rhizopus*). Como geralmente é difícil estabelecer um diagnóstico precoce definitivo no curso da infecção, muitos pacientes de alto risco são tratados empiricamente ou profilaticamente com fármacos antifúngicos. Entretanto, não existe um consenso universal sobre os critérios para administração de profilaxia antifúngica ou de um regime quimioterápico específico. Além disso, a maioria dos hospitais terciários desenvolveu seus próprios protocolos para administração de quimioterapia profilática antifúngica para os pacientes sob alto risco de micose invasiva. A maioria dos hospitais administra fluconazol oral; outros prescrevem um tratamento de curta duração com baixas doses de anfotericina B. Alguns dos critérios para administração de profilaxia antifúngica a um paciente com doença de base ou condição de alto risco são febre persistente que não responde a antibióticos, neutropenia por mais de 7 dias, observação de novos e inexplicáveis infiltrados pulmonares em exames radiográficos ou progressiva falência de órgãos sem explicação.

Com os avanços da genômica comparativa, permitiu-se o desenvolvimento de novas abordagens para o estudo das interações fungo-hospedeiro. As análises das sequências das amostras das espécies patogênicas permitiram a identificação de muitos genes e de vias metabólicas que são essenciais para sua virulência. Essas informações permitiram o desenvolvimento de novas estratégias no combate das infecções fúngicas, tais como o bloqueio da aderência do patógeno a células hospedeiras ou a inibição *in vivo* da transformação dos fungos dimórficos. Estudos genéticos e de resposta imunológica a fungos têm identificado a assinatura de citocinas e biomarcadores inflamatórios, que caracterizam a resposta inata e adaptativa dos fungos invasivos.

HIPERSENSIBILIDADE AOS FUNGOS

Durante toda a vida, as vias respiratórias são expostas a conídios e esporos transportados pelo ar, provenientes de inúmeros fungos saprofíticos. Com frequência, essas partículas possuem potentes antígenos de superfície, capazes de estimular e desencadear reações alérgicas pronunciadas. Tais respostas de hipersensibilidade não exigem o crescimento nem mesmo a viabilidade do fungo indutor, embora em alguns casos (aspergilose broncopulmonar alérgica) possam ocorrer simultaneamente infecção e alergia. Dependendo do local de deposição do alergênio, o paciente pode apresentar rinite, asma brônquica, alveolite ou pneumonite generalizada. Os indivíduos atópicos são mais suscetíveis. O diagnóstico e a amplitude das reações de hipersensibilidade do paciente podem ser estabelecidos por teste cutâneo com extratos fúngicos. O tratamento pode consistir em evitar exposição ao alergênio agressor, tratamento com corticosteroides e tentativa de dessensibilização do paciente.

A exposição ao ar de ambientes fechados para um grande número de esporos fúngicos levou ao reconhecimento de uma condição chamada “síndrome do prédio doente”, na qual

materiais de construção úmidos, tais como madeiras e compensados, podem ser contaminados por bolores e florescer. A produção e a contaminação do ar em ambientes fechados com um grande número de conídias resultam em casos debilitantes de alergias sistêmicas ou reações tóxicas. Com frequência, a infestação por bolores é tão grande que se mostra difícil a eliminação com fungicidas ou filtração, e muitos prédios precisam ser demolidos. Os bolores causadores desses casos geralmente são ascomicetos não infecciosos, como o *Stachybotrys*, *Cladosporium*, *Fusarium* e outros.

MICOTOXINAS

Muitos fungos produzem substâncias venenosas, denominadas micotoxinas, que podem causar intoxicação e lesões agudas ou crônicas. As micotoxinas são metabólitos secundários, e seus efeitos não dependem da infecção nem da viabilidade do fungo. Os cogumelos (p. ex., espécies de *Amanita*) produzem uma variedade de micotoxinas, cuja ingestão resulta em doença relacionada com a dose, denominada **micetismo**. O cozimento tem pouco efeito sobre a potência dessas toxinas, que podem causar lesão grave ou fatal do fígado e dos rins. Outros fungos produzem substâncias mutagênicas e carcinogênicas que podem ser extremamente tóxicas para animais de laboratório. Uma das mais potentes é a **aflatoxina**, elaborada pelo *Aspergillus flavus* e por bolores relacionados, constituindo um contaminante frequente do amendoim, milho, cereais e outros alimentos.

QUIMIOTERAPIA ANTIFÚNGICA

Um número limitado, porém crescente, de fármacos pode ser utilizado no tratamento das infecções micóticas. A maioria apresenta uma ou mais limitações, como efeitos colaterais acentuados, estreito espectro antifúngico, pouca penetração em certos tecidos e seleção de fungos resistentes. É difícil encontrar alvos fúngicos apropriados, uma vez que os fungos, assim como os seres humanos, são microrganismos eucariotos. Muitos dos processos celulares e moleculares são semelhantes, e com frequência existe extensa homologia entre os genes e as proteínas.

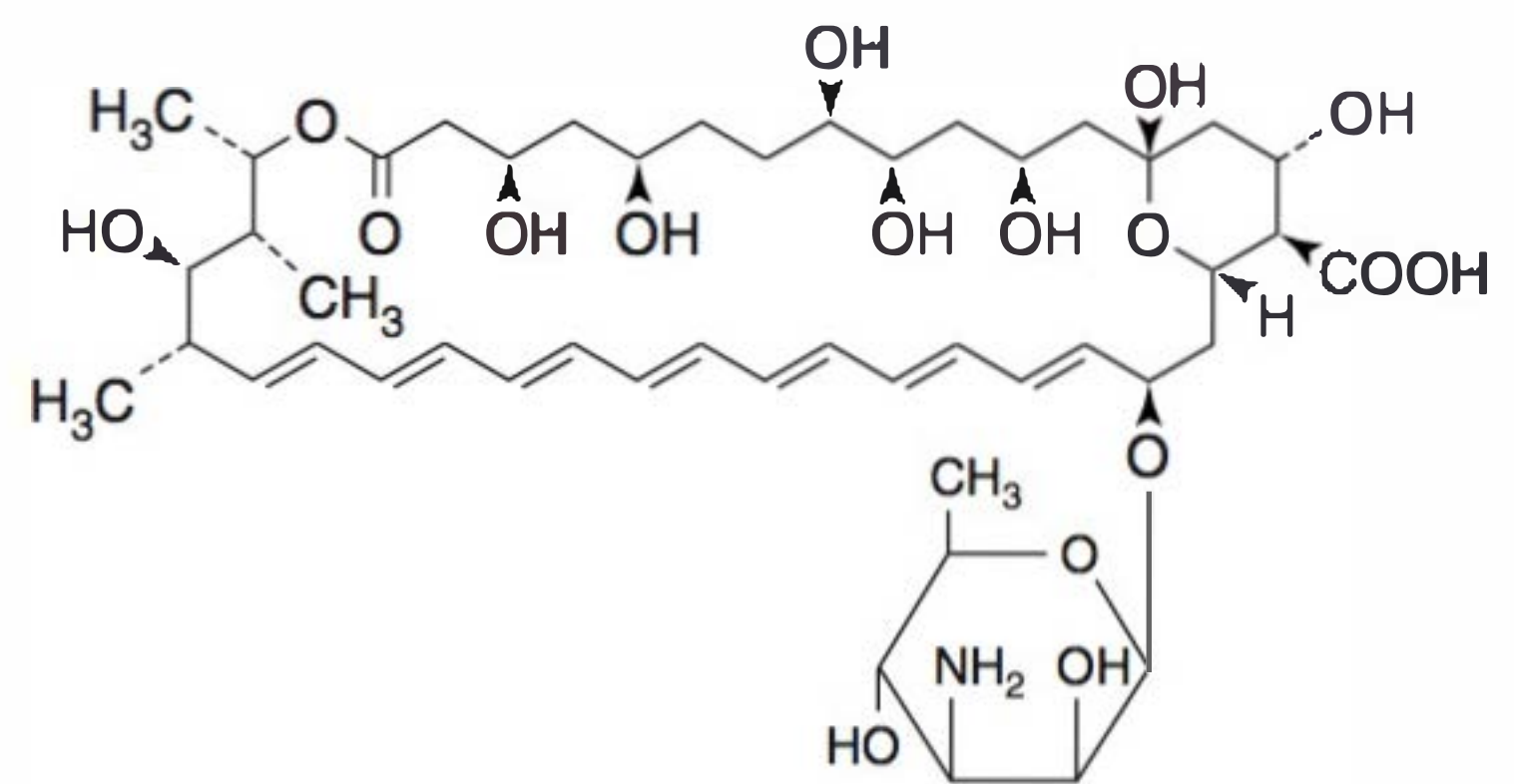
As classes de fármacos atualmente disponíveis consistem em polienos (anfotericina B e nistatina), que se ligam ao ergosterol na membrana celular; a flucitosina, um análogo da pirimidina; os azóis e outros inibidores da síntese do ergosterol, como as alilaminas; as equinocandinas, que inibem a síntese da β -glucana da parede celular; e a griseofulvina, que interfere na organização dos microtúbulos. Atualmente, estão sendo investigados os inibidores da síntese da parede celular, como a nicomicina, pradiomicina e sordarina, que inibem o fator 2 de alongação.

Em anos recentes, o número de fármacos antifúngicos aumentou, e outros compostos estão correntemente sob avaliação em estudos clínicos. O Quadro 45.5 traz um resumo dos fármacos disponíveis. Muitos dos novos quimioterápicos são variações da classe dos azóis de fármacos fungistáticos, tais como os triazóis voriconazol e posaconazol. Estes fármacos e os novos compostos destinam-se a melhorar a eficácia antifúngica e farmacocinética, bem como reduzir os efeitos adversos.

Anfotericina B

A. Descrição

O principal antibiótico poliênico é a anfotericina B, um metabólito do *Streptomyces*, constituindo o fármaco mais eficaz para o tratamento das micoses sistêmicas graves. Tem amplo espectro, e é raro haver o desenvolvimento de resistência. O mecanismo de ação dos polienos envolve a formação de complexos com o ergosterol nas membranas celulares dos fungos, havendo a consequente lesão da membrana e extravasamento. A anfotericina B tem maior afinidade com o ergosterol do que com o colesterol, o esteroide predominante encontrado nas membranas celulares dos mamíferos. O acondicionamento da anfotericina B em lipossomos e em emulsões lipídicas mostrou notável eficácia experimental, com resultados excelentes obtidos em estudos clínicos. Essas formulações estão atualmente disponíveis, podendo substituir a preparação convencional. As preparações lipídicas são menos tóxicas, permitindo o uso de maiores concentrações de anfotericina B.



Anfotericina B

B. Mecanismo de ação

A anfotericina B é administrada por via intravenosa em forma de micelas com desoxicolato de sódio dissolvido em solução de glicose. Apesar de sua ampla distribuição nos tecidos, a anfotericina B penetra inadequadamente no líquido cerebrospinal. O fármaco liga-se firmemente ao ergosterol presente na membrana celular. Essa interação altera a fluidez da membrana e talvez resulte na formação de poros na membrana, através dos quais ocorre a perda de íons e pequenas moléculas. Diferentemente da maioria dos outros antifúngicos, a anfotericina B é fungicida. As células dos mamíferos carecem de ergosterol, sendo relativamente resistentes a essas ações. A anfotericina B liga-se fracamente ao colesterol nas membranas dos mamíferos, interação que pode explicar sua toxicidade; em níveis baixos, exerce efeito imunoestimulante.

C. Indicações

A anfotericina B é um agente de amplo espectro com eficácia demonstrada contra a maioria das principais micoses sistêmicas, como a coccidioidomicose, blastomicose, histoplasmose, esporotricose, criptococose, aspergilose, mucormicose e candidíase. A resposta à anfotericina B é influenciada pela dose e pela velocidade de administração, pelo local da infecção micótica, pelo estado imunológico do paciente e pela suscetibilidade inerente do patógeno. A penetração nas articulações e no sistema nervoso central é deficiente, recomendando-se a

QUADRO 45.5 Comparação dos fármacos antifúngicos comuns para tratamento de micoses sistêmicas

Classe e mecanismo	Fármaco	Rota	Espectro	Indicações	Toxicidade	Comentários
Polienos — ligam-se ao ergosterol na membrana celular fúngica; modulação imunológica	Anfotericina B	IV	Largo	Mais sérias, micoses invasivas	Comum; nefrotoxicidade, reações de infusão agudas, febre, tremores, anemia, distúrbios eletrolíticos, muitos outros	Fungicida; a resistência é rara
	Anfotericina B em formulações lipídicas ^a	IV	Largo	Mais sérias, micoses invasivas	Diminuída. Nefrotoxicidade menor, outros efeitos colaterais	Distribuição tissular alterada
Antimetabólito — convertido em fluoruracila, interferindo na síntese de pirimidinas e RNA	Flucitosina	PO	Leveduras; bolores demácios	Candidíase, criptococose, feofomicose	Distúrbios do trato GI (náuseas, vômitos e/ou diarreia), neutropatia, medula óssea	É comum resistência quando usada em monoterapia; altos níveis na urina e no LCS. Níveis terapêuticos do fármaco são monitorados com frequência
Azóis ^b — Inibem a síntese do ergosterol; bloqueio do citocromo P450 dependente da desmetilação α -14 do lanosterol	Cetoconazol	PO, tópico	Limitado	Candidíase, dermatomicoses refratárias	Mudanças hormonais, hepatotoxicidade, distúrbios do trato GI, neuropatia	Baixa absorção oral
	Itraconazol	PO, IV	Largo	Micoses endêmicas, aspergilose, candidíase, criptococose, feofomicose	Distúrbios suaves do trato gastrointestinal, hepatotoxicidade, neuropatia e medula óssea. Alerta de tarja negra devido ao risco de toxicidade cardíaca.	Baixa absorção, particularmente com cápsulas. A absorção é melhor se administrada em solução, mas ocorrem diarreias com frequência. Os níveis sanguíneos precisam ser monitorados
	Fluconazol	PO, IV	Limitado	Candidíase, criptococose	Comparativamente seguro; distúrbios do trato GI, tonturas, lesões cutâneas, outros	Excelente absorção; usado intensivamente para profilaxia e terapia empírica; ocorre resistência geralmente com <i>Candida glabrata</i> , <i>Candida krusei</i>
	Voriconazol	PO, IV	Largo	Aspergilose, candidíase; raros bolores, micoses endêmicas, criptococose, feofomicose	Baixa; efeitos visuais transitórios em ~ 30%, hepatotoxicidade, distúrbios do trato GI, eritema	Os níveis sanguíneos precisam ser monitorados
	Posaconazol	PO	Largo	Similar ao voriconazol, mais zigomicetos	Comparativamente seguro, distúrbios do trato GI, cefaleia, sonolência, tonturas, fadiga, hepatotoxicidade	Absorção variável. Aprovado para profilaxia em certos pacientes com câncer
Equinocandinas — perturbam a síntese da parede celular, inibem a 1 a 4 β -D glicano sintetase	Caspofungina	IV	Limitado	Candidíase invasiva, aspergilose refratária	Segura; mínimos distúrbios do trato GI, eritema, cefaleia	Usado para terapia empírica
	Micafungina	IV	Limitado	Candidíase esofagiana	Infrequente; febre	Usada para profilaxia
	Anidulafungina	IV	Limitado	Candidíase invasiva	Infrequente	

^aAnfotericina B em dispersão coloidal, Anfotericina B em complexo lipídico e anfotericina B em lipossomas.

^bTodos os azóis podem inibir as isoenzimas citocromo P450 do hospedeiro, e podem causar interações adversas com muitos outros fármacos.

administração intratecal ou intra-articular para algumas infecções. A anfotericina B é utilizada, em combinação com a flucitosina, no tratamento da criptococose. Alguns fungos, como *Pseudallescheria boydii* e *Aspergillus terreus*, não respondem de modo satisfatório ao tratamento com anfotericina B.

D. Efeitos colaterais

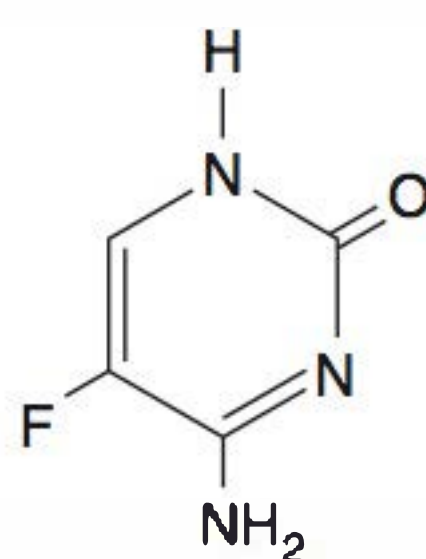
Todos os pacientes apresentam reações adversas à anfotericina B, embora acentuadamente reduzidas com o uso das novas preparações lipídicas. Em geral, a administração intravenosa de anfotericina B é acompanhada de reações agudas, como febre, calafrios, dispneia e hipotensão. Esses efeitos geralmente podem ser aliviados pela administração anterior ou concomitante de hidrocortisona ou acetaminofeno. Durante a terapia, verifica-se o desenvolvimento de tolerância aos efeitos colaterais agudos.

Os efeitos colaterais crônicos geralmente resultam da nefrotoxicidade do fármaco. Ocorre quase sempre azotemia no paciente tratado com anfotericina B, sendo necessário proceder a uma rigorosa monitoração dos níveis séricos de creatinina e íons. Com frequência, observa-se a ocorrência de hipopotassemia, anemia, acidose tubular renal, cefaleia, náuseas e vômitos. Embora parte da nefrotoxicidade seja reversível, ocorre a redução permanente da função glomerular e tubular renal, lesão que pode estar correlacionada com a dose total de anfotericina B administrada. A toxicidade é bastante diminuída com formulações lipídicas de anfotericina.

Flucitosina

A. Descrição

A flucitosina (5-fluorocitosina) é um derivado fluorado da citosina. Trata-se de um antifúngico oral utilizado principalmente em associação com a anfotericina B no tratamento da criptococose ou da candidíase, sendo eficaz também contra muitas infecções por fungos demácios. Penetra adequadamente em todos os tecidos, inclusive no líquido cefalorraquidiano.



Flucitosina

B. Mecanismo de ação

A flucitosina é transportada ativamente nas células fúngicas por uma permease. O fármaco é convertido pela enzima fúngica citosina-desaminase em 5-fluoruracila e incorporado ao monofosfato do ácido 5-fluorodesoxiuridílico, que interfere na atividade da timidilato sintetase e na síntese do DNA. As células de mamíferos não têm citosina desaminase, sendo por isso protegidas dos efeitos tóxicos da fluoruracila. Infelizmente, ocorre o rápido desenvolvimento de mutantes resistentes, que limitam a utilidade da flucitosina.

C. Indicações

A flucitosina é utilizada principalmente em associação com a anfotericina B no tratamento da criptococose e da candidíase. *In vitro*, atua de modo sinérgico com a anfotericina B contra esses microrganismos, e os estudos clínicos realizados sugerem um efeito benéfico de tal combinação, particularmente na meningite criptocócica. Também se constatou que esta associação retarda ou limita o aparecimento de mutantes resistentes à flucitosina. A flucitosina em si mostra-se eficaz contra a cromoblastomicose e outras infecções por fungos demácios.

D. Efeitos colaterais

Enquanto a flucitosina em si provavelmente exibe pouca toxicidade para as células de mamíferos e é relativamente bem tolerada, sua conversão em fluoruracila resulta em um composto altamente tóxico, provavelmente responsável pelos principais efeitos colaterais. A administração prolongada de flucitosina resulta em supressão da medula óssea, queda dos cabelos e anormalidades da função hepática. A conversão da flucitosina em fluoruracila por bactérias entéricas pode causar colite. Os pacientes com Aids podem tornar-se suscetíveis à supressão da medula óssea pela flucitosina, de modo que os níveis séricos do fármaco devem ser rigorosamente monitorados.

Azóis

A. Descrição

Os imidazóis (p. ex., cetoconazol) e os triazóis (fluconazol e itraconazol) antifúngicos são fármacos orais utilizados no tratamento de ampla variedade de infecções fúngicas localizadas e sistêmicas (Fig. 45.29). As indicações para seu uso ainda estão sendo avaliadas, porém esses agentes já suplantaram a anfotericina B em muitas micoses menos graves, uma vez que podem ser administrados por via oral e são menos tóxicos. Outros imidazóis, como o miconazol e o clotrimazol, são utilizados como agentes tópicos, e serão discutidos adiante.

B. Mecanismo de ação

Os azóis interferem na síntese do ergosterol. Bloqueiam a 14- α -desmetilação do citocromo P450 dependente do lanosterol, um precursor do ergosterol nos fungos e do colesterol nas células dos mamíferos. Todavia, o citocromo P450 dos fungos é cerca de 100 a 1.000 vezes mais sensível aos azóis do que os sistemas dos mamíferos. Os vários azóis disponíveis foram planejados para melhorar a eficácia, a disponibilidade e a farmacocinética deles, bem como reduzir seus efeitos colaterais. Trata-se de agentes fungistáticos.

C. Indicações

As indicações para o uso de azóis antifúngicos deverão ser ampliadas à medida que forem obtidos os resultados de estudos de longa duração e novos azóis se tornarem disponíveis. A seguir, são fornecidas as indicações aceitas para o uso dos azóis antifúngicos.

O cetoconazol mostra-se útil no tratamento de candidíase mucocutânea crônica, dermatofitose, blastomicose não meníngea,

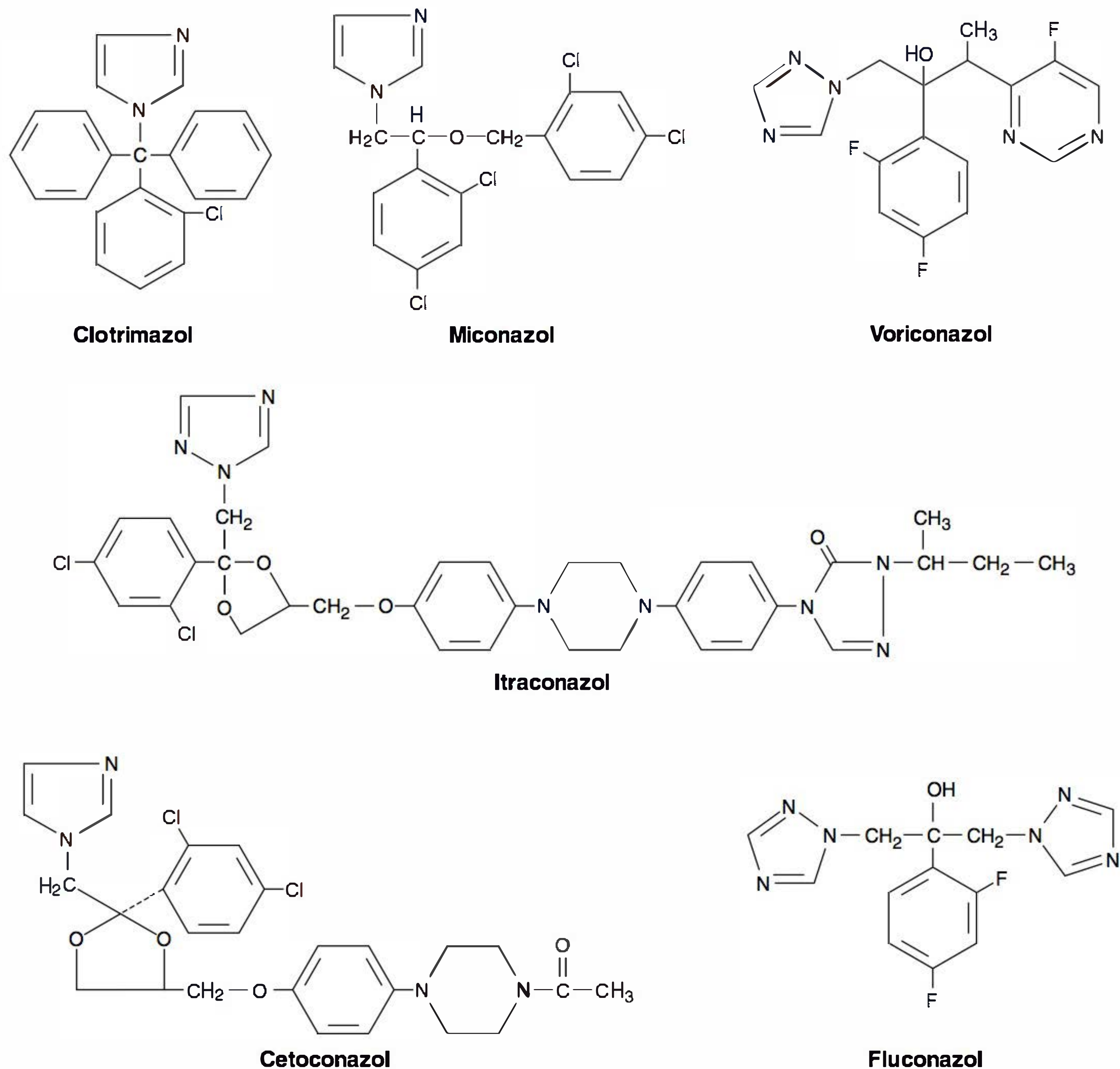


FIGURA 45.29 Estruturas de azóis antifúngicos. (Reproduzida, com autorização, de Katzung BG [editor]: *Basic and Clinical Pharmacology*, 11th ed. McGraw-Hill, 2009. © McGraw-Hill Companies, Inc.)

coccidioidomicose, paracoccidioidomicose e histoplasmose. Entre os vários azóis disponíveis, o fluconazol destaca-se pela sua maior capacidade de penetração no sistema nervoso central; é utilizado como terapia de manutenção contra meningite criptocócica e coccidioide. A candidíase orofaríngea em pacientes com Aids e a candidemia em pacientes imunocompetentes também podem ser tratadas com fluconazol. O itraconazol é atualmente o agente de primeira escolha para histoplasmose e blastomicose, bem como para certos casos de coccidioidomicose, paracoccidioidomicose e aspergilose. Este fármaco também se tem mostrado eficaz no tratamento da cromomicose e onicomioses causadas por dermatófitos e outros bolores. O voriconazol, que pode ser administrado por via oral ou intravenosa, exibe largo espectro de atividade contra muitos bolores e leveduras, especialmente aspergilose, fusariose, pseudallesqueríase e outros patógenos sistêmicos menos comuns. O mais recente triazol é o posaconazol (Fig. 45.30A), que possui largo espectro e demonstrou eficácia contra espécies de *Candida* resistentes ao fluconazol, aspergilose, mucormicose e outros fungos oportunistas invasivos. Este fármaco também é bem tolerado.

D. Efeitos colaterais

Os efeitos colaterais dos azóis estão principalmente relacionados com a capacidade de inibir as enzimas do citocromo P450 dos mamíferos. O cetoconazol é o mais tóxico e, quando administrado em doses terapêuticas, pode inibir a síntese da testosterona e do cortisol, podendo causar uma variedade de efeitos reversíveis, como ginecomastia, diminuição da libido, impotência, irregularidade menstrual e, em certas ocasiões, insuficiência suprarrenal. O fluconazol e o itraconazol, em doses terapêuticas recomendadas, não provocam comprometimento significativo da esteroidogênese nos mamíferos. Todos os azóis antifúngicos podem causar elevações assintomáticas das provas de função hepática bem como raros casos de hepatite. O voriconazol causa perturbações visuais reversíveis em cerca de 30% dos pacientes.

Como os azóis antifúngicos interagem com as enzimas P450, também responsáveis pelo metabolismo de fármacos, podem ocorrer algumas interações farmacológicas importantes. Pode-se observar um aumento das concentrações de azóis antifúngicos quando se administram isoniazida, fenitoína ou

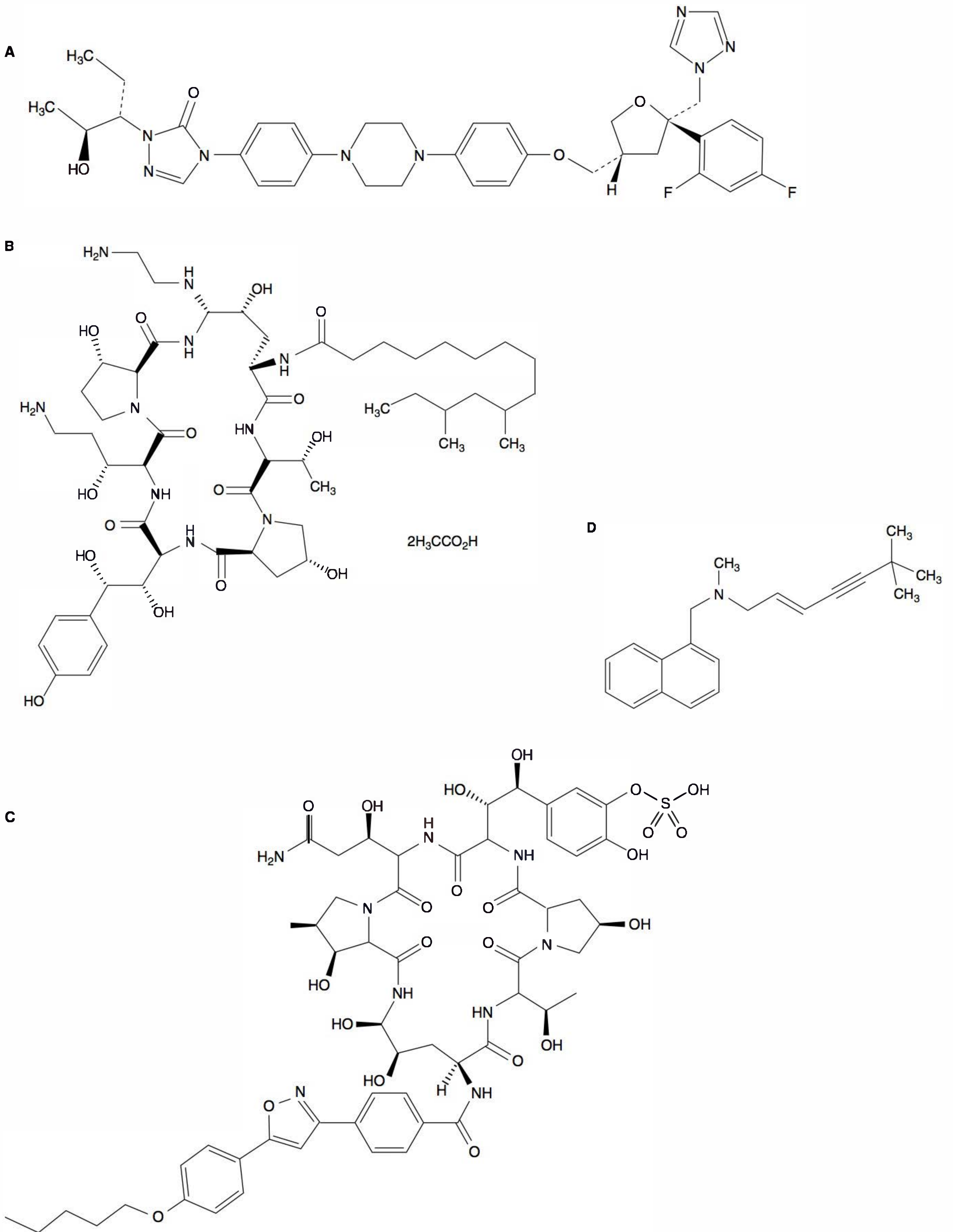


FIGURA 45.30 Novos agentes antifúngicos. (A) Posaconazol, (B) Caspofungina. (C) Micafungina. (D) Terbinafina.

rifampicina. A terapia com azóis antifúngicos também pode resultar em níveis séricos maiores do que o esperado de ciclosporina, fenitoína, hipoglicemiantes orais, anticoagulantes, digoxina e, provavelmente, muitos outros fármacos. Pode ser necessário monitorar os níveis séricos de ambos os fármacos para se obter uma faixa terapêutica apropriada.

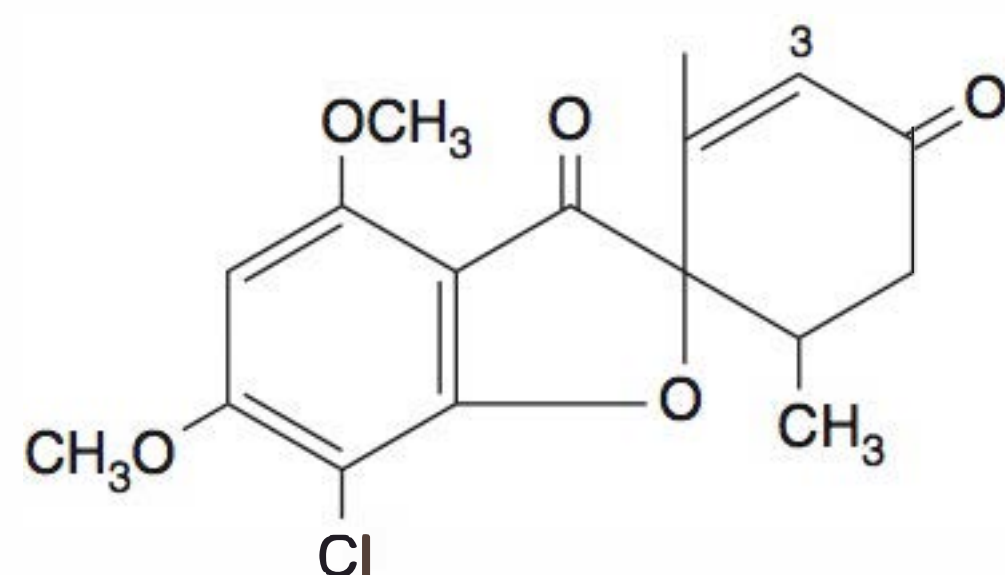
Equinocandinas

As equinocandinas são uma nova classe de agentes antifúngicos que perturbam a síntese do polissacarídeo da parede celular β -glucana por inibição da 1,3 β -glucana sintase, perturbando a integridade da parede celular. O primeiro fármaco licenciado, caspofungina, mostrou eficácia contra aspergilose invasiva e candidíase sistêmica causadas por uma grande variedade de espécies de *Candida* (Fig. 45.30B). Este agente intravenoso pode ser especialmente indicado para tratar aspergilose refratária. A caspofungina é bem tolerada.

Semelhantes à caspofungina, duas equinocandinas recentemente aprovadas, a micafungina e a anidulafungina, também atuam inibindo a síntese da β -glucana e têm espectro de atividade similar contra espécies de *Candida* e *Aspergillus*, bem como outros fungos. A micafungina (Fig. 45.30C) e a anidulafungina foram recentemente licenciadas para tratamento da candidíase de esôfago e para profilaxia antifúngica dos pacientes que receberam transplante de células-tronco. Ambas parecem apresentar melhor farmacocinética e estabilidade *in vivo* que a caspofungina. Ensaios clínicos sugerem que serão úteis no tratamento das candidíases mucosal e sistêmica, aspergilose invasiva refratária e em combinação com a anfotericina B ou alguns dos novos triazóis.

Griseofulvina

A griseofulvina é um antibiótico administrado por via oral, obtido de uma espécie de *Penicillium*. É utilizada no tratamento das dermatofitoses, devendo ser administrada por longos períodos. O fármaco é pouco absorvido e concentrado no extrato córneo, onde inibe o crescimento das hifas, não exercendo efeito sobre os outros fungos.



Griseofulvina

Após administração oral, a griseofulvina distribui-se por todo o corpo, mas acumula-se nos tecidos ceratinizados. No interior do fungo, interage com os microtúbulos e afeta a função do fuso mitótico com a consequente inibição do crescimento. Apenas as hifas em crescimento ativo são afetadas. A griseofulvina mostra-se clinicamente útil para tratamento das infecções da pele, dos pelos e das unhas causadas por dermatofitos. Em geral, é necessária terapia oral durante várias semanas a meses, sendo a griseofulvina bem tolerada. O efeito colateral mais comum consiste em cefaleia, que geralmente desaparece

sem a interrupção do uso do fármaco. Os efeitos colaterais observados com menor frequência são distúrbios gastrintestinais, sonolência e hepatotoxicidade.

Terbinafina

A terbinafina é um fármaco alilamina que bloqueia a síntese do ergosterol ao inibir a escalenoepoxidase (Fig. 45.30D). É administrada por via oral no tratamento das infecções causadas por dermatofitos, sendo muito eficaz no tratamento das infecções ungueais e outras dermatofitoses. Os efeitos colaterais não são comuns, mas consistem em distúrbio gastrintestinal, cefaleia, reações cutâneas e perda do paladar. Para o tratamento em longo prazo da tínea das unhas, a terbinafina — bem como o itraconazol e o fluconazol — pode ser administrada de modo intermitente, utilizando-se um protocolo de tratamento em pulsos.

AGENTES ANTIFÚNGICOS TÓPICOS

Nistatina

A nistatina é um antibiótico poliênico estruturalmente relacionado com a anfotericina B, tendo modo de ação semelhante. Pode ser utilizada no tratamento das infecções locais da boca e da vagina por *Candida*. Também pode suprimir a candidíase esofágica subclínica e o supercrescimento gastrintestinal de *Candida*. Não ocorre absorção sistêmica, e o fármaco não apresenta efeitos colaterais; todavia, a nistatina é muito tóxica para administração parenteral.

Clotrimazol, miconazol e outros azóis

Uma variedade de azóis antifúngicos, excessivamente tóxicos para uso sistêmico, está disponível para administração tópica. O clotrimazol e o miconazol são apresentados em várias formulações. Econazol, butoconazol, tioconazol e terconazol também estão disponíveis. Todos esses fármacos parecem ter eficácia comparável.

Os azóis tópicos apresentam amplo espectro de atividade. A tínea dos pés, a tínea do corpo, a tínea crural, a tínea versicolor e a candidíase cutânea respondem de modo satisfatório à aplicação local de cremes ou pós. A candidíase vulvovaginal pode ser tratada com supositórios ou cremes vaginais. O clotrimazol também está disponível em forma de pastilha oral para o tratamento de sapinho oral e esofágico em pacientes imunocompetentes.

Outros antifúngicos tópicos

O tolnaftato e a naftifina são antifúngicos tópicos utilizados no tratamento de muitas infecções por dermatofitos e tínea versicolor. As formulações disponíveis consistem em cremes, pós e aerossóis. O ácido undecilênico está disponível em várias formulações para o tratamento da tínea dos pés e da tínea crural. Embora eficazes e bem tolerados, os azóis antifúngicos, a naftifina e o tolnaftato são mais eficazes. A aloprogina e o ciclopirox são outros agentes tópicos comumente utilizados em infecções causadas por dermatofitos.

VERIFICAÇÃO DE CONCEITOS: ANTIFÚNGICOS

1. A terapia efetiva depende da rápida identificação dos fungos, da administração do fármaco apropriado e do monitoramento das condições clínicas do indivíduo.
2. Os fármacos fungicidas da classe dos polienos, como a anfotericina B, apresentam um largo espectro e casos de resistência são raros. A toxicidade renal e outros efeitos colaterais devem ser monitorados e administrados.
3. Comparados aos polienos, os azóis são fungistáticos e apresentam um espectro estreito de atividade, porém apresentam menos toxicidade. O voriconazol e o posaconazol exibem um espectro antifúngico maior do que o cetoconazol, o itraconazol e o fluconazol.
4. As equinocandinas, caspofungina, micafungina e anidulafungina são fármacos fungistáticos eficientes contra as diferentes espécies de *Candida*.

QUESTÕES DE REVISÃO

1. Qual das afirmativas a seguir, a respeito dos fungos, está correta?
 - (A) Todos os fungos são capazes de crescer como leveduras ou bolor
 - (B) Embora sejam eucariotos, os fungos não possuem mitocôndrias
 - (C) Os fungos são fotossintéticos
 - (D) Os fungos possuem um ou mais núcleos e cromossomos
 - (E) Poucos fungos possuem membranas celulares
2. Qual das afirmativas sobre o crescimento e a morfologia dos fungos está correta?
 - (A) As pseudo-hifas são produzidas por todas as leveduras
 - (B) Os mofos produzem hifas que podem ou não ser partilhadas com a parede ou septos
 - (C) Os conídios são produzidos por reprodução sexual
 - (D) A maior parte das leveduras reproduz-se por brotamento e perde paredes celulares
 - (E) A maior parte dos bolores dimórficos patogênicos produz hifas no hospedeiro e leveduras a 30°C
3. Qual das afirmativas a respeito da parede celular fúngica está correta?
 - (A) Os principais componentes da parede celular fúngica são proteínas, tais como quitina, glucanas e mananas
 - (B) A parede celular não é essencial para a viabilidade ou a sobrevivência fúngica
 - (C) Os ligantes associados à parede celular de certos fungos intermedeiam a fixação às células do hospedeiro
 - (D) Os componentes da parede celular fúngica são os alvos das principais classes de antibióticos antifúngicos, como os polienos e os azóis
 - (E) Os componentes da parede celular fúngica raramente estimulam a resposta imunológica
4. Um homem de 54 anos de idade desenvolveu cefaleia com piora progressiva, seguida de enfraquecimento gradual e progressivo do braço direito. Uma tomografia cerebral revelou lesão na parte esquerda do cérebro. Durante a cirurgia, foi encontrado um abscesso circundado por material granulomatoso. Seções do tecido e cultivo subsequente demonstraram hifas septadas com pigmentação escura, sugerindo feoifomicose, infecção que pode ser causada por uma espécie do gênero:
 - (A) *Aspergillus*
 - (B) *Cladophialophora*
 - (C) *Coccidioides*
 - (D) *Malassezia*
 - (E) *Sporothrix*
5. Um homem de 35 anos de idade trabalha como fazendeiro em uma área tropical da África Ocidental. Ele desenvolveu uma pápula escamosa persistente na perna. Dez meses depois, surgiram novas lesões semelhantes a verrugas, progredindo lentamente para uma lesão com aspecto de couve-flor. Foi diagnosticada cromoblastomicose (cromomicose). Qual das afirmativas a respeito desta doença é a mais correta?
 - (A) No tecido, os microrganismos convertem-se em células esféricas que se reproduzem por fissão e exibem septações transversais
 - (B) Os agentes etiológicos são membros endógenos da microbiota de mamíferos e possuem parede celular com melanina
 - (C) A doença é causada por uma única espécie
 - (D) A maior parte das infecções é sistêmica
 - (E) A maior parte das infecções é aguda e regride espontaneamente
6. Um homem de 42 anos de idade, HIV soropositivo, originário do Vietnã, e atualmente residindo em Tucson, Arizona, apresenta lesão ulcerativa dolorosa no lábio superior (queilite). Foi realizada uma biópsia, e o exame histopatológico (coloração eosina-hematoxilina) revelou estruturas esféricas (de 20 a 50 µm de diâmetro) com paredes celulares espessas e refratárias. Qual é a provável doença compatível com este achado?
 - (A) Infecção pelo *Penicillium marneffei*
 - (B) Criptococose
 - (C) Blastomicose
 - (D) Coccidioidomicose
 - (E) Diagnóstico sem importância
7. Um homem de 47 anos de idade, com diabetes melito malcontrolado, apresentou corrimento nasal sanguinolento, edema facial e necrose no septo nasal. A cultura da secreção nasal apresentou espécies de *Rhizopus*. Qual a implicação mais importante deste achado?
 - (A) Diagnóstico sem valor, pois este fungo é um contaminante do ar
 - (B) Considerar o tratamento de mucormicose rinocerebral (zigomicose)
 - (C) Fortemente sugestivo de cetoacidose
 - (D) Fortemente sugestivo de infecção pelo HIV
 - (E) O paciente foi exposto à contaminação por um fungo do ambiente
8. Um garoto de 8 anos de idade desenvolveu lesão escamativa, pruriginosa e seca na perna. Qual é a significância do diagnóstico observado, de hifas não pigmentadas, septadas e com ramificações, em uma preparação de hidróxido de potássio — calcofluorado branco de um raspado de pele dessa lesão?
 - (A) Cromomicose
 - (B) Dermatofitose
 - (C) Feoifomicose
 - (D) Esporotricose
 - (E) Diagnóstico sem significância

9. Qual das afirmativas sobre a epidemiologia da candidíase está correta?
- (A) Os pacientes que receberam transplante de medula óssea não apresentam risco de adquirir candidíase sistêmica
 - (B) Os pacientes com alterações ou baixo número de neutrófilos e monócitos não apresentam risco de adquirir candidíase sistêmica
 - (C) Os pacientes com qualquer forma de diabetes apresentam maior resistência à candidíase
 - (D) Os pacientes com Aids frequentemente desenvolvem candidíase mucocutânea, como o “sapinho” oral
 - (E) A gravidez baixa o risco de vaginite por espécies de *Candida*.
10. Qual das afirmativas sobre a dermatofitose está correta?
- (A) As infecções crônicas estão associadas a dermatófitos zoofílicos, como o *Microsporum canis*
 - (B) As infecções agudas estão associadas a dermatófitos zoofílicos, como o *M. canis*
 - (C) As infecções crônicas estão associadas a dermatófitos antropofílicos, como o *M. canis*
 - (D) As infecções agudas estão associadas a dermatófitos antropofílicos, como o *M. canis*
11. Qual das afirmativas sobre a identificação laboratorial de fungos está correta?
- (A) Geralmente, o *Histoplasma capsulatum* requer menos de 48 h de incubação para as culturas se tornarem positivas
 - (B) Como muitos fungos sapróbicos (não patogênicos) se assemelham a agentes micóticos dimórficos em cultura a 30°C, a identificação de um fungo patogênico dimórfico precisa ser confirmada por conversão na forma tecidual *in vitro* ou detecção de antígenos específicos da espécie ou por análise da sequência do DNA
 - (C) Os bolores são rotineiramente classificados em espécies por uma bateria de testes fisiológicos, como capacidade de assimilar vários açúcares
 - (D) Um teste germinativo em tubo positivo fornece um rápido diagnóstico presuntivo de *Candida glabrata*
 - (E) As células em brotamento com pseudo-hifas abundantes são típicas do *Pneumocystis jiroveci*.
12. Uma prostituta, de 28 anos, do sul da Califórnia queixa-se de cefaleia, fraqueza e episódios de “lapsos de memória” durante as últimas 2 semanas. A punção lombar revelou glicose reduzida, proteínas elevadas e 450 leucócitos mononucleares por mililitro. O teste para o HIV deu resultado positivo. Sua história é compatível com meningite fúngica por *Cryptococcus neoformans*, *Coccidioides posadasii* ou espécies de *Candida*. Qual dos seguintes testes é confirmatório?
- (A) A meningite causada por *Coccidioides posadasii* pode ser confirmada por um teste de fixação de complemento do líquido cefalorraquidiano para o antígeno capsular criptocócico
 - (B) A meningite causada por *Cryptococcus neoformans* pode ser confirmada por um teste de fixação de complemento do líquido cefalorraquidiano para a coccidioidina
 - (C) A meningite causada por espécies de *Candida* pode ser confirmada pela observação microscópica de células de levedura ovais e pseudo-hifas no líquido cefalorraquidiano
 - (D) A meningite causada por *Coccidioides posadasii* pode ser confirmada por um teste cutâneo positivo para coccidioidina
13. Qual das afirmativas sobre feoifomicose está correta?
- (A) A infecção ocorre somente em pacientes imunocomprometidos
 - (B) O tecido infectado apresenta hifas não pigmentadas, septadas e com ramificações
 - (C) Os agentes causadores são membros da microbiota normal, podendo ser facilmente isolados da pele e das mucosas de pessoas saudáveis
 - (D) A feoifomicose pode exibir diversas manifestações clínicas, como doença sistêmica ou subcutânea, assim como sinusite
 - (E) Os casos raramente respondem ao tratamento com itraconazol
14. Um homem de 37 anos de idade com Aids, vivendo atualmente em Indianápolis, Indiana, EUA, apresenta osteomielite no quadril esquerdo. Foi obtida biópsia por aspirado de medula óssea, que revelou, em esfregaço corado com calcofluor branco, uma variedade de células mielógenas, monócitos e macrófagos contendo inúmeras leveduras elípticas intracelulares com aproximadamente $2 \times 4 \mu\text{m}$. Qual é o diagnóstico mais provável?
- (A) Blastomicose
 - (B) Candidíase
 - (C) Criptococose
 - (D) Histoplasmose
 - (E) Diagnóstico sem importância clínica
15. Um exame por hidróxido de potássio da amostra de escarro de paciente que recebeu transplante de coração e que tem febre e infiltrados pulmonares mostra células de levedura ovais com brotamentos e pseudo-hifas. Qual é a importância diagnóstica?
- (A) Aspergilose
 - (B) Candidíase
 - (C) Hialoifomicose
 - (D) Feoifomicose
 - (E) Diagnóstico sem importância clínica
16. Um homem de meia-idade, residente no sul da Califórnia, recebeu um transplante de fígado. Durante os meses subsequentes, apresentou fadiga gradual, perda de peso, tosse, dispnéia e um nódulo subcutâneo no nariz. A radiografia de pulmão revelou linfadenopatia hilar e infiltrados difusos. Os exames diretos e culturas de amostras do pulmão foram negativos. Testes cutâneos com PPD, blastomicina, coccidioidina e histoplasmina também se mostraram negativos. Os resultados dos testes sorológicos foram os seguintes: negativo para o antígeno capsular criptocócico no sangue; positivo para o teste de imunodifusão de precipitinas no soro para o antígeno fúngico F e negativo em relação às precipitinas para os antígenos h, m e A; testes séricos de fixação do complemento negativos para *Blastomyces dermatitidis* bem como para os antígenos dos micélios e levedura de *Histoplasma capsulatum*, mas deram títulos de 1:32 para coccidioidina. Qual das interpretações é a mais correta?
- (A) Os achados clínicos e sorológicos são inconclusivos
 - (B) Os achados clínicos e sorológicos são mais compatíveis com histoplasmose disseminada ativa
 - (C) Os achados clínicos e sorológicos são mais compatíveis com blastomicose disseminada ativa
 - (D) Os achados clínicos e sorológicos são mais compatíveis com coccidioidomicose disseminada ativa
 - (E) Os achados clínicos e sorológicos excluem o diagnóstico de blastomicose, histoplasmose e coccidioidomicose

17. Qual das afirmativas sobre aspergilose está correta?
- (A) Os pacientes com aspergilose broncopulmonar alérgica raramente apresentam eosinofilia
- (B) Os pacientes que estejam recebendo corticosteroides por via parenteral não correm risco de adquirir aspergilose invasiva
- (C) O diagnóstico de aspergilose pulmonar frequentemente é estabelecido pelo cultivo de *Aspergillus* a partir do escarro e do sangue
- (D) As manifestações clínicas de aspergilose incluem infecções locais nas orelhas, na córnea, nas unhas e nos *sinus*
- (E) Os pacientes com transplante de medula óssea não correm risco de adquirir aspergilose invasiva
18. Qual das afirmativas sobre esporotricose está correta?
- (A) O agente etiológico mais comum é a *Pseudallescheria boydii* (*Scedosporium apiospermum*)
- (B) O agente etiológico é um fungo dimórfico
- (C) A ecologia do agente etiológico é desconhecida
- (D) A maioria dos casos é subcutânea e não linfoide
- (E) A maioria dos pacientes fica imunocomprometida
19. Um trabalhador de 24 anos de idade, HIV-negativo, imigrante da Colômbia, apresenta-se com lesão ulcerativa dolorosa na língua. A base da lesão foi raspada suavemente, e preparado um esfregaço em lâmina com calcofluorado branco-hidróxido de potássio, que apresentou células de tecido, *debris* e diversas células de levedura grandes, esféricas e com vários brotamentos. Com base nestas observações, qual é o diagnóstico mais provável?
- (A) Blastomicose
- (B) Candidíase
- (C) Coccidioidomicose
- (D) Histoplasmose
- (E) Paracoccidioidomicose
20. Qual das afirmativas sobre blastomicose está correta?
- (A) Tal como outras micoses endêmicas, esta infecção ocorre igualmente em homens e mulheres
- (B) A infecção se inicia na pele, e o microrganismo geralmente se dissemina pelos pulmões, medula óssea, trato geniturinário e outros locais
- (C) A doença é endêmica em certas áreas da América do Sul
- (D) Em tecido, encontra-se uma célula de levedura única, grande e de paredes espessas, com conexões entre a levedura e os brotamentos
- (E) Todos os casos requerem tratamento com anfotericina B
21. Qual das afirmativas sobre dermatofitose está correta?
- (A) As infecções crônicas estão associadas a dermatófitos zoofílicos, como o *Trichophyton rubrum*
- (B) As infecções agudas estão associadas a dermatófitos zoofílicos, como o *T. rubrum*
- (C) As infecções crônicas estão associadas a dermatófitos antropofílicos, como o *T. rubrum*
- (D) As infecções agudas estão associadas a dermatófitos antropofílicos, como *T. rubrum*
22. Qual das afirmativas sobre paracoccidioidomicose não está correta?
- (A) O agente etiológico é um fungo dimórfico
- (B) A maioria dos pacientes adquire a infecção na América do Sul
- (C) Embora a infecção seja adquirida por inalação e seja iniciada nos pulmões, muitos pacientes desenvolvem lesões cutâneas e mucocutâneas
- (D) A maioria dos pacientes com doença ativa são homens
- (E) O agente etiológico apresenta resistência inerente à anfotericina B
23. Um paciente que recebeu transplante renal desenvolveu candidíase hospitalar sistêmica, mas o patógeno isolado do paciente, *Candida glabrata*, é resistente ao fluconazol. Uma alternativa razoável pode ser a administração oral de:
- (A) Flucitosina
- (B) Posaconazol
- (C) Griseofulvina
- (D) Anfotericina B
24. Qual dos seguintes fármacos antifúngicos não tem como alvo a biossíntese do ergosterol na membrana fúngica?
- (A) Voriconazol
- (B) Itraconazol
- (C) Terbinafina
- (D) Fluconazol
- (E) Micafungina
25. Qual das seguintes leveduras patogênicas não é membro da microbiota normal humana?
- (A) *Candida tropicalis*
- (B) *Malassezia globosa*
- (C) *Cryptococcus neoformans*
- (D) *Candida glabrata*
- (E) *Candida albicans*

Respostas

- | | | | |
|------|-------|-------|-------|
| 1. D | 8. B | 15. E | 22. E |
| 2. B | 9. D | 16. D | 23. B |
| 3. C | 10. B | 17. D | 24. E |
| 4. B | 11. B | 18. B | 25. C |
| 5. A | 12. C | 19. E | |
| 6. D | 13. D | 20. D | |
| 7. B | 14. D | 21. C | |

REFERÊNCIAS

- Anaissie EJ, McGinnis MR, Pfaller MA: *Clinical Mycology*. Philadelphia, Churchill Livingstone, 2003.
- Calderone RA (editor): *Candida and Candidiasis*. Washington, DC, ASM Press, 2002.
- Cappelletty D, Eiselstein-McKittrick K: The echinocandins. *Pharmacotherapy* 2007;27:369.
- Dismukes WE, Pappas PG, Sobel JD: *Clinical Mycology*. New York, Oxford University Press, 2003.
- Ferguson BJ (editor): Fungal rhinosinusitis: A spectrum of disease. *Otolaryngol Clin N Am* 2000;33:1.
- Galgiani JN, Ampel NM, Blair JE et al. Coccidioidomycosis. *Clin Infect Dis* 2005;41:1217.
- Heitman J, Kozel TR, Kwon-Chung KJ, Perfect JR, Casadevall A (editors): *Cryptococcus. From Human Pathogen to Model Yeast*. Washington, DC, ASM Press, 2011.
- Latgé J-P, Steinbach WJ (editors): *Aspergillus fumigatus and Aspergillosis*. Washington, DC, ASM Press, 2008.

- Merz WG, Hay RJ (editors): *Topley & Wilson's Microbiology and Microbial Infections*, 10th ed, vol 4 *Medical Mycology*. London, Arnold, 2005.
- Mitchell TG, Verweij P, Hoepelman AIM: Opportunistic and systemic fungi. In Cohen J, Opal SM, Powderly WG (editors): *Infectious Diseases*, 3rd ed, 2nd vol. London, Mosby, 2010, pp 1823–1852.
- Moen MD, Lyseng-Williamson KA, Scott LJ: Liposomal amphotericin B: A review of its use as empirical therapy in febrile neutropenia and in the treatment of invasive fungal infections. *Drugs* 2009;69:361.
- Pasqualotto AC, Denning DW: New and emerging treatments for fungal infections. *J Antimicrob Chemother* 2008;61(Suppl 1):i19.
- Perlroth J, Choi B, Spellberg B-J: Nosocomial fungal infections: Epidemiology, diagnosis, and treatment. *Med Mycol* 2007; 45:321.
- Pyrgos V, Shoham S, Walsh TJ: Pulmonary zygomycosis. *Semin Respir Crit Care Med* 2008;29:111.
- Queiroz-Telles F, Esterre P, Perez-Blanco M, Vitale RG, Salgado CG, Bonifaz A: Chromoblastomycosis: An overview of clinical manifestations, diagnosis and treatment. *Med Mycol* 2009;47:3.
- Richardson MD, Moore CB, Summerbell RC, Gupta AK: Superficial and subcutaneous fungal pathogens. In Cohen J, Opal SM, Powderly WG (editors): *Infectious Diseases*, 3rd ed, 2nd vol. London, Mosby, 2010, pp 1853–1867.

Parasitologia médica

Este capítulo apresenta um breve levantamento dos protozoários e helmintos parasitos de importância médica. Uma sinopse de cada parasito é fornecida dentro de quadros que são organizadas por sistema de órgão que está infectado (p. ex., no tecido intestinal e no sangue, infecções por protozoários intestinais; e no sangue e em tecidos, infecções helmínticas). Conceitos-chave são fornecidos no início das seções de protozoários e helmintos, para dar ao leitor um resumo dos paradigmas em parasitologia médica. As atualizações das informações fornecidas neste capítulo podem ser encontradas no Website dos Centers for Disease Control and Prevention (www.cdc.gov/ncidod/dpd), em “Parasitic Diseases” (Doenças Parasitárias).

CLASSIFICAÇÃO DOS PARASITOS

Os parasitos abordados neste capítulo são divididos em dois grandes grupos: **protozoários** e **helmintos parasitos**.

Os **protozoários** são eucariotos unicelulares que formam um reino inteiro. A classificação dos protozoários em um grupo taxonômico é um processo contínuo, e seu *status* é, frequentemente, um estado de fluxo. Por esta razão, este capítulo separa os parasitos protozoários em quatro grupos tradicionais com base em seus modos de locomoção e reprodução: flagelados, amebas, esporozoários e ciliados. O Quadro 46.1 lista vários parasitos protozoários clinicamente importantes pelo órgão que infectam, o modo de infecção, o diagnóstico, o tratamento e a localização geográfica.

(1) Os **flagelados** têm um ou mais flagelos em chicote, e em alguns casos, uma membrana ondulante (p. ex., tripanosomas). Incluem flagelados intestinais e do trato geniturinário (*Giardia* e *Trichomonas*, respectivamente) e flagelados de sangue e de tecido (*Trypanosoma* e *Leishmania*). (2) As **amebas** são normalmente ameboides e usam pseudópodos ou fluxo

protoplasmático para movimentar-se. São representadas em humanos por espécies de *Entamoeba*, *Naegleria* e *Acanthamoeba*. (3) Os **esporozoários** apresentam um ciclo de vida complexo, com alternância de fases reprodutiva sexuada e assexuada. Os parasitos humanos *Cryptosporidium*, *Cyclospora* e *Toxoplasma* e o parasito da malária (espécies de *Plasmodium*) são todos parasitos intracelulares. (4) **Ciliados** são protozoários complexos dotados de cílios, distribuídos em linhas ou manchas, com dois tipos de núcleos em cada indivíduo. *Balantidium coli*, um ciliado gigante que habita os intestinos de seres humanos e porcos, é o único parasito humano representante deste grupo, e, como a doença é considerada rara, não será abordada neste capítulo.

Anteriormente listada com esporozoários, pois possuem filamentos polares dentro de um esporo, os **microsporídeos** compreendem mais de 1.000 espécies de parasitos intracelulares que infectam os invertebrados (principalmente insetos) e hospedeiros vertebrados. Nos seres humanos, os microsporídeos são parasitos oportunistas de pacientes imunocomprometidos, inclusive aqueles submetidos à quimioterapia e transplantes de órgãos.

Pneumocystis carinii foi considerado por muito tempo um parasito protozoário, mas tem mostrado ser um membro dos fungos em vez de protozoário. Causa pneumonite de células plasmáticas intersticiais em indivíduos imunodeprimidos, sendo considerado um patógeno oportunista.

Os **helmintos parasitos**, ou vermes de seres humanos, pertencem a dois filos: Nematoda (vermes cilíndricos) e Platyhelminthes (vermes chatos).

(1) Os **nematódeos** estão entre a maior parte das espécies e em diversos animais. São alongados e cônicos em ambas as extremidades, arredondados na seção transversal, e não segmentados. Possuem apenas um conjunto de músculos longitudinais, o que lhes permite mover-se como um chicote, de

QUADRO 46.1 Sinopse das infecções por protozoários por sistema orgânico

Parasito/Doença	Local da infecção	Mecanismo da infecção	Diagnóstico	Tratamento	Área geográfica
Protozoários intestinais					
<i>Giardia lamblia</i> (flagelado) Giardiase	Intestino delgado	Ingestão de cistos na água, não inativados pelo cloro	Exame de fezes para O e P; Elisa para antígenos	Metronidazol ou quinacrina	Ubiquitário: campistas, estações de esqui, cães, animais selvagens, especialmente castores
<i>Entamoeba histolytica</i> (ameba) Amebíase	Colo; fígado; outros órgãos	Ingestão de cistos de contaminação fecal da água ou dos alimentos ou transmissão oroanal	Exame de fezes para O e P; Elisa para anticorpos e antígenos	Iodoquinol, furoato de diloxanida; metronidazol mais iodoquinol ou paromomicina	Mundial, onde ocorre contaminação fecal
<i>Cryptosporidium</i> (esporozoário) Criptosporidiose	Intestino delgado; trato respiratório	Ingestão de oocistos, contaminação fecal	Exame de fezes/coloração álcool-ácida; coloração por fluorescência direta; Elisa para antígenos; PCR	Nitazoxanida para pacientes não infectados pelo HIV	Ubiquitário, especialmente em áreas de criação de gado
<i>Cyclospora</i> (esporozoário) Ciclosporíase	Intestino delgado	Oocistos de contaminação fecal da água, produtos frescos	Exame de fezes — coloração álcool-ácida, microscopia por fluorescência UV	Sulfametoxazol/trimetoprima	Mundial, trópicos e subtropicais
Protozoários sexualmente transmitidos					
<i>Trichomonas vaginalis</i> (flagelado) Tricomoníase	Vagina; em geral assintomática no homem	Trofozoítos transmitidos de pessoa para pessoa por intercuro sexual	Exame microscópico de corrimento, urina e raspado de tecido	Metronidazol para ambos os parceiros	Ubiquitário na população sexualmente ativa
Flagelados do sangue e tecidos					
<i>Trypanosoma brucei rhodesiense</i> , Tripanossomíase do Leste da África, doença do sono	Sangue, linfa	Picada da tse-tse (dolorosa) lacera a pele e libera tripomastigotas	Tripomastigotas (extracelulares) em esfregaços de sangue, LCS ou aspirado de linfonodo; sorologia (CATT)	Estágio hemolítico: suramina Envolvimento tardio do SNC: Melarsoprol	África Oriental; os antílopes e corsas são os reservatórios animais para infecção humana
<i>Trypanosoma brucei gambiense</i> Tripanossomíase do Oeste da África, doença do sono	Sangue, linfa	Picada da tse-tse (dolorosa) lacera a pele e libera tripomastigotas	Tripomastigotas (extracelulares) em esfregaços de sangue, LCS ou aspirado de linfonodo; sorologia (CATT)	Estágio hemolítico: pentamidina Envolvimento tardio do SNC: eflornitina	Oeste da África; vegetação próxima de rios; somente humanos (não zoonótica)
<i>Trypanosoma cruzi</i> Doença de Chagas	Amastigotas intracelulares; coração, gânglios parassimpáticos	Fezes do inseto liberadas durante a picada ou no olho; transfusão de sangue, transmissão transplacentária	Tripomastigotas (extracelulares) em esfregaços de sangue, PCR; amastigotas intracelulares em tecidos	Nifurtimox	Américas do Norte, Central e do Sul (insetos vivem no telhado de casas de pau a pique, barro seco)

(continua)

Parasito/Doença	Local da infecção	Mecanismo da infecção	Diagnóstico	Tratamento	Área geográfica
<i>Leishmania major</i> , <i>Leishmania tropica</i> Leishmaniose cutânea do Velho Mundo	Pele; úlcera de bordas	O mosquito injeta promastigotas; amastigotas em macrófagos, monócitos	Pele e bordas de úlceras; histopatologia; cultura e PCR de microrganismos; teste cutâneo de reação intradérmica à leishmanina (reação de Montenegro)	Estibogluconato de sódio, antimonato de meglumina, pentamidina (todos IM ou EV)	Velho Mundo: Oriente Médio, Índia, África e Rússia
Complexo <i>Leishmania mexicana</i> Leishmaniose cutânea do Novo Mundo	Pele, ulcerações das bordas	O mosquito injeta promastigotas; amastigotas em macrófagos e monócitos	Pele e bordas de úlcera; histopatologia; cultura e PCR de microrganismos; teste cutâneo de reação intradérmica à leishmanina (reação de Montenegro)	Estibogluconato de sódio, antimonato de meglumina, pentamidina (todos IM ou EV)	Novo Mundo: México, Américas Central e do Sul, úlceras nos olhos de coletadores no Yucatán (<i>chicleros</i>); leishmaniose disseminada na Etiópia e na Venezuela induz anergia específica (síndrome distintiva)
<i>Leishmania aethiopica</i> , <i>Leishmania mexicana pifano</i> Forma disseminada ou difusa da leishmaniose cutânea	Pele; anergia resultando em lesões não ulcerativas sobre o corpo inteiro	O mosquito injeta promastigotas; amastigotas em macrófagos e monócitos	Pele e bordas de úlcera; histopatologia; cultura e PCR de microrganismos; teste cutâneo de reação intradérmica à leishmanina (reação de Montenegro)	Estibogluconato de sódio, antimonato de meglumina, pentamidina (todos IM ou EV)	Velho Mundo: Etiópia Novo Mundo: Venezuela
Complexo <i>Leishmania brasiliensis</i> Leishmaniose mucocutânea	Lesões de pele; pode destruir tecidos mucocutâneos na face e na boca	O mosquito injeta promastigotas; amastigotas em macrófagos e monócitos	Pele e bordas de úlcera; histopatologia; cultura e PCR de microrganismos; teste cutâneo de reação intradérmica à leishmanina (reação de Montenegro)	Estibogluconato de sódio (IM ou EV), antimonato de meglumina (IM ou EV), anfotericina B (EV)	Brasil, Peru, Bolívia
<i>Leishmaniasis donovani</i> Calazar, leishmaniose visceral		O mosquito injeta promastigotas; amastigotas nos macrófagos e monócitos do fígado, baço e medula óssea	Baço, fígado e aspirado de medula óssea; histopatologia; cultura e PCR de microrganismos	Anfotericina B em lipossomas (EV), estibogluconato de sódio (IM ou EV), antimonato de meglumina (IM ou EV), anfotericina B (EV)	Leishmaniose dérmica pós-calazar 1 a 3 anos após Rx na Índia, China, países mediterrâneos, Rússia, bacia amazônica, Sudão, Quênia, América do Sul
Amebas em tecidos					
<i>Naegleria</i> , <i>Acanthamoeba</i> , <i>Balamuthia</i> Meningoencefalite amebiana primária (<i>Entamoeba histolytica</i> — amebíase, ver protozoários intestinais)	Cérebro, cordão espinal, olhos	Nado em lagos de água doce, rios, fontes termais; as amebas de vida livre penetram na membrana nasal, passam para o cérebro ou via ferimentos ou penetração pelos olhos (<i>Acanthamoeba</i>)	Trofozoíto no LCS; suspeita clínica baseada em história recente de nado ou mergulho em águas naturais	Anfotericina B: intratecal + EV	Onde amebas de vida livre sobrevivem em sedimentos de fontes de água doce aquecida

(continua)

QUADRO 46.1 Sinopse das infecções por protozoários por sistema orgânico (continuação)

Parasito/Doença	Local da infecção	Mecanismo da infecção	Diagnóstico	Tratamento	Área geográfica
Esporozoários do sangue e de tecidos					
<i>Plasmodium vivax</i> Malária terçã benigna	Intracelular em hemácias; hipnozoítos no fígado podem causar recidiva	A fêmea do mosquito <i>Anopheles libera</i> esporozoítos na corrente sanguínea; os parasitos penetram no fígado e, daí, no sangue; podem ocorrer recidivas	Esfregaços de sangue (fino e espesso); estágio de anel em hemácias com manchas de Schüffner	^a Cloroquina (onde não ocorre resistência); em caso contrário, mefloquina ou atovaquona/proguanil, seguidos de primaquina para as recidivas	Trópicos, África (rara no oeste africano), Oriente Médio, Ásia, Américas Central e do Sul
<i>Plasmodium falciparum</i> Malária terçã maligna	Intracelular em hemácias	A fêmea do mosquito <i>Anopheles libera</i> esporozoítos na corrente sanguínea; os parasitos entram no fígado e passam para o sangue; não ocorre recidiva	Esfregaços de sangue (fino e espesso); gametócitos em forma de banana; duplo anel em hemácias	Cloroquina (onde não ocorre resistência); sulfato de quinina mais doxiciclina ou tetraciclina ou clindamicina; atovaquona/proguanil, mefloquina, ^b artesunato mais doxiciclina ou clindamicina; coartemeter/lumefantrina (coartem)	Espécies predominantes em áreas tropicais, mas especialmente na África Subsaariana
<i>Plasmodium ovale</i> Malária oval	Intracelular em hemácias; hipnozoítos no fígado podem causar recidiva	A fêmea do mosquito <i>Anopheles libera</i> esporozoítos na corrente sanguínea; os parasitos entram no fígado e daí passam para o sangue; podem ocorrer recidivas	Esfregaços de sangue (gota espessa e gota fina)	Cloroquina (quando não houver resistência); primaquina para recidivas	Tropical, África Subsaariana
<i>Plasmodium malariae</i> Malária quartã ou malariae	Intracelular em hemácias; hipnozoítos no fígado podem causar recidivas	Penetra no fígado por inoculação na corrente sanguínea pelo mosquito infectado; sem recidivas	Esfregaços de sangue (gota espessa e gota fina)	Cloroquina (quando não houver resistência)	Tropical, África, Ásia, América do Sul
<i>Babesia microti</i> Babesiose	Intracelular em hemácias	Picada de inseto; transfusões de sangue	Esfregaços de sangue; formas tétrades ("Cruz de Malta") no interior das hemácias	Clindamicina mais quinina; atovaquona mais azitromicina	EUA (MA, NY, CT, NJ, WI, GA, CA); Europa
<i>Toxoplasma gondii</i> Toxoplasmose	Intracelular no sistema nervoso central, medula óssea	Ingestão de parasitos em carne malcozida; ingestão de oocistos das fezes de gatos; via transplacentária; por transfusão de sangue	Sorologia (IgG, IgM)	Pirimetamina mais sulfadiazina	Mundial; áreas onde vivem gatos/felinos

CATT, teste de aglutinação em cartão para tripanossomas; CNS, sistema nervoso central; LCS, líquido cerebrospinal; Elisa, ensaio imunoenzimático; IM, intramuscular; IV, intravenoso; O&P, ovos e parasitos; PCR, reação em cadeia da polimerase; RBC, células vermelhas do sangue (hemácias).

^aRecomendações devem ser verificadas regularmente (www.cdc.gov/travel/).

^bPara revisão sobre o tratamento da malária, ver Rosenthal PJ 2012.

forma penetrante; um sistema digestório completo, que está bem adaptado para a ingestão de conteúdo intestinal, células, sangue ou produtos de degradação celular do hospedeiro; e um sistema reprodutivo sexuado altamente desenvolvido. Apresentam uma dura cutícula (muda), durante o desenvolvimento de larvas para adultos, e os ovos e estágios larvais são bem adaptados para a sobrevivência no ambiente externo. A maioria das infecções humanas é adquirida pela ingestão de ovos ou do estágio larval, mas as infecções por nematódeos também podem ser adquiridas a partir de insetos vetores e penetração da pele. (2) Os **platelmintos** são vermes dorsoventralmente achatados em seção transversal e são hermafroditas, com algumas exceções. Todas as espécies de importância clínica pertencem a duas classes: **Trematoda** (vermes) e **Cestoda** (vermes em forma de fita).

Os **trematódeos** são tipicamente achatados e em forma de folha, com duas ventosas musculares. Têm um sistema digestório bifurcado e possuem músculos circulares e longitudinais; falta-lhes a cutícula característica dos nematódeos, mas possuem um epitélio sincicial. Trematódeos são hermafroditas, com exceção dos esquistossomas (vermes do sangue), que têm vermes dos sexos masculino e feminino que existem acoplados dentro dos pequenos vasos sanguíneos de seus hospedeiros.

O ciclo de vida dos trematódeos humanos é geralmente iniciado quando os ovos são passados através da água doce, por meio de fezes ou urina. Os ovos incubam e desenvolvem-se, e liberam um miracídio ciliado, que infecta um caramujo hospedeiro que em geral é altamente específico para esta espécie de verme. Dentro do caramujo, o miracídio desenvolve-se em um esporocisto, que contém células germinais que, em última análise, desenvolvem-se na fase final das larvas — as cercárias. Estas nadam para fora do caracol e encistam-se como metacercárias em um segundo hospedeiro intermediário ou na vegetação, dependendo da espécie. A maioria das infecções por vermes é adquirida pela ingestão de metacercárias. As cercárias de esquistossomas, no entanto, penetram diretamente na pele de seus hospedeiros e não se encistam como as metacercárias.

Os **cestódeos**, ou tênias, são planos e possuem uma cadeia em forma de fita, de segmentos (proglótides) dos sexos masculino e feminino, contendo estruturas reprodutivas. Os vermes adultos podem atingir 10 m de comprimento e têm centenas de segmentos, cada qual liberando milhares de ovos. Na extremidade anterior de uma tênia adulta situa-se o escólex, que geralmente é elaborado com ventosas musculosas, ganchos ou estruturas que ajudam na sua capacidade de aderir à parede intestinal. Os vermes adultos não possuem boca nem intestino e absorvem seus nutrientes diretamente do hospedeiro através de seu tegumento.

O ciclo de vida dos cestódeos, assim como o dos trematódeos, é geralmente indireto (com um ou mais hospedeiros intermediários e uma série final). Os ovos são eliminados com as fezes e ingeridos por um hospedeiro intermediário (invertebrado, como uma pulga, ou vertebrados, como um mamífero); as larvas desenvolvem-se em formas determinadas que são peculiares a cada espécie dentro do hospedeiro intermediário (p. ex., cisticercose, no caso da *Taenia solium*, ou cisto hidático com *Echinococcus granulosus*). As larvas dos cestódeos geralmente são ingeridas, e a larva se desenvolve em um verme adulto no intestino do hospedeiro definitivo.

INFECÇÕES POR PROTOZOÁRIOS INTESTINAIS

Os principais conceitos relacionados com protozoários parasitos e os protozoários incluídos neste capítulo estão listados nos Quadros 46.2 e 46.3. Uma sinopse das infecções por protozoários parasitos é apresentada no Quadro 46.1.

GIARDIA LAMBLIA (FLAGELADO INTESTINAL)

Microrganismo

Giardia lamblia (também conhecida como *Giardia duodenalis* ou *Giardia intestinalis*) é o agente causador da giardíase e é o único protozoário patogênico comum encontrado no duodeno e no jejuno de seres humanos. *Giardia* existe em duas formas: trofozoíto e cisto. O trofozoíto de *G. lamblia* é um microrganismo em forma de coração, com quatro pares de flagelos, e cerca de 15 µm de comprimento (Fig. 46.1A). Um grande disco côncavo sugando na face ventral ajuda o microrganismo a aderir às vilosidades intestinais. Como os parasitos passam para o colo, normalmente encistam, e os cistos são eliminados nas fezes (Fig. 46.1B). São elipsoides, de paredes espessas, altamente resistentes, e têm 8 a 14 µm de comprimento; contêm dois núcleos como formas imaturas e quatro como cistos maduros.

QUADRO 46.2 Conceitos-chave: protozoários parasitos

Os protozoários parasitos abordados neste capítulo estão agrupados em flagelados, amebas, esporozoários e ciliados
Os flagelados e amebas multiplicam-se por fissão binária; os esporozoários reproduzem-se por um processo conhecido como merogonia (também chamado esquizogonia), no qual o núcleo replica previamente à citocinese
Os esporozoários também sofrem recombinação sexual, que leva a variação genômica e antigênica
Os protozoários podem multiplicar-se rapidamente (em algumas horas) no hospedeiro e podem causar o rápido início dos sintomas
As infecções intestinais são adquiridas pela ingestão de cistos (ou oocistos) resistentes do ambiente; as infecções da corrente sanguínea são mediadas por vetores
As infecções por protozoários intracelulares (<i>Trypanosoma cruzi</i> , espécies de <i>Leishmania</i> , <i>Cryptosporidium</i> , <i>Toxoplasma</i> e <i>Plasmodium</i>) são difíceis de tratar porque os fármacos precisam atravessar as membranas plasmáticas. Não existem vacinas disponíveis para nenhuma doença parasitária humana
Infecções latentes ocorrem com <i>Toxoplasma</i> (os cistos do parasito nos tecidos são chamados bradizoítos), <i>Plasmodium vivax</i> e <i>P. ovale</i> (parasitos no tecido hepático são chamados hipnozoítos)
Em infecções disseminadas causadas por protozoários, febre e sintomas de gripe ocorrem e não são específicos
Alguns protozoários parasitos são capazes de escapar da resposta imunológica do hospedeiro devido a suas características intracelulares e/ou por sofrerem variação antigênica

QUADRO 46.3 Protozoários parasitos

Protozoários intestinais	
<i>Giardia lamblia</i> (flagelado)	
<i>Entamoeba histolytica</i> (ameba)	
<i>Cryptosporidium hominis</i> (esporozoário)	
<i>Cyclospora cayetanensis</i> (esporozoário)	
Infecções por protozoários transmitidas sexualmente	
<i>Trichomonas vaginalis</i> (flagelado)	
Protozoários causadores de infecções no sangue e nos tecidos	
Flagelados	
<i>Trypanosoma brucei rhodesiense</i> e <i>Trypanosoma brucei gambiense</i>	
<i>Trypanosoma cruzi</i>	
<i>Leishmania donovani</i> , <i>Leishmania tropica</i> , <i>Leishmania mexicana</i>	
Amebas	
<i>Entamoeba histolytica</i> (ver protozoários intestinais)	
<i>Naegleria fowleri</i> e <i>Acanthamoeba castellanii</i>	
Esporozoários	
<i>Plasmodium vivax</i> , <i>Plasmodium falciparum</i> , <i>Plasmodium ovale</i> e <i>Plasmodium malariae</i>	
<i>Babesia microti</i>	
<i>Toxoplasma gondii</i>	
Microsporídeos	

Patologia e patogênese

De forma geral, *G. lamblia* só é fracamente patogênica para o homem. Os cistos podem ser encontrados em grande quantidade nas fezes de pessoas inteiramente assintomáticas. Em algumas, no entanto, o grande número de parasitos aderidos à parede do intestino pode causar irritação e baixo grau de inflamação do duodeno ou da mucosa intestinal, com consequente diarreia aguda ou crônica associada a hipertrofia das criptas, atrofia ou achatamento das vilosidades, e danos às células epiteliais. As fezes podem ser aquosas, semissólidas, gordurosas, volumosas e de mau cheiro em vários momentos durante o curso da infecção. Os sintomas de mal-estar, fraqueza, perda ponderal, cólicas abdominais, distensão e flatulência podem continuar por longos períodos. A coleta de múltiplas amostras de fezes por vários dias é recomendada para aumentar a probabilidade de detecção de cistos nos esfregaços.

Epidemiologia

G. lamblia ocorre em todo o mundo. Os seres humanos são infectados pela ingestão de água contaminada com fezes ou alimentos que contenham cistos de giárdia ou por contaminação fecal direta, que pode ocorrer em creches, campos de refugiados e em instituições, ou durante o sexo oroanal. Surtos epidêmicos têm sido relatados em estações de esqui nos EUA, onde a sobrecarga das instalações de esgoto ou de contaminação do abastecimento de água tem resultado em surtos repentinos de giardiase. Os cistos podem sobreviver na água por até 3 meses. Surtos entre campistas em áreas naturais sugerem que seres humanos podem ser infectados com várias giárdias de origem animal abrigadas por roedores, veados, bois, ovelhas, cavalos ou animais domésticos.

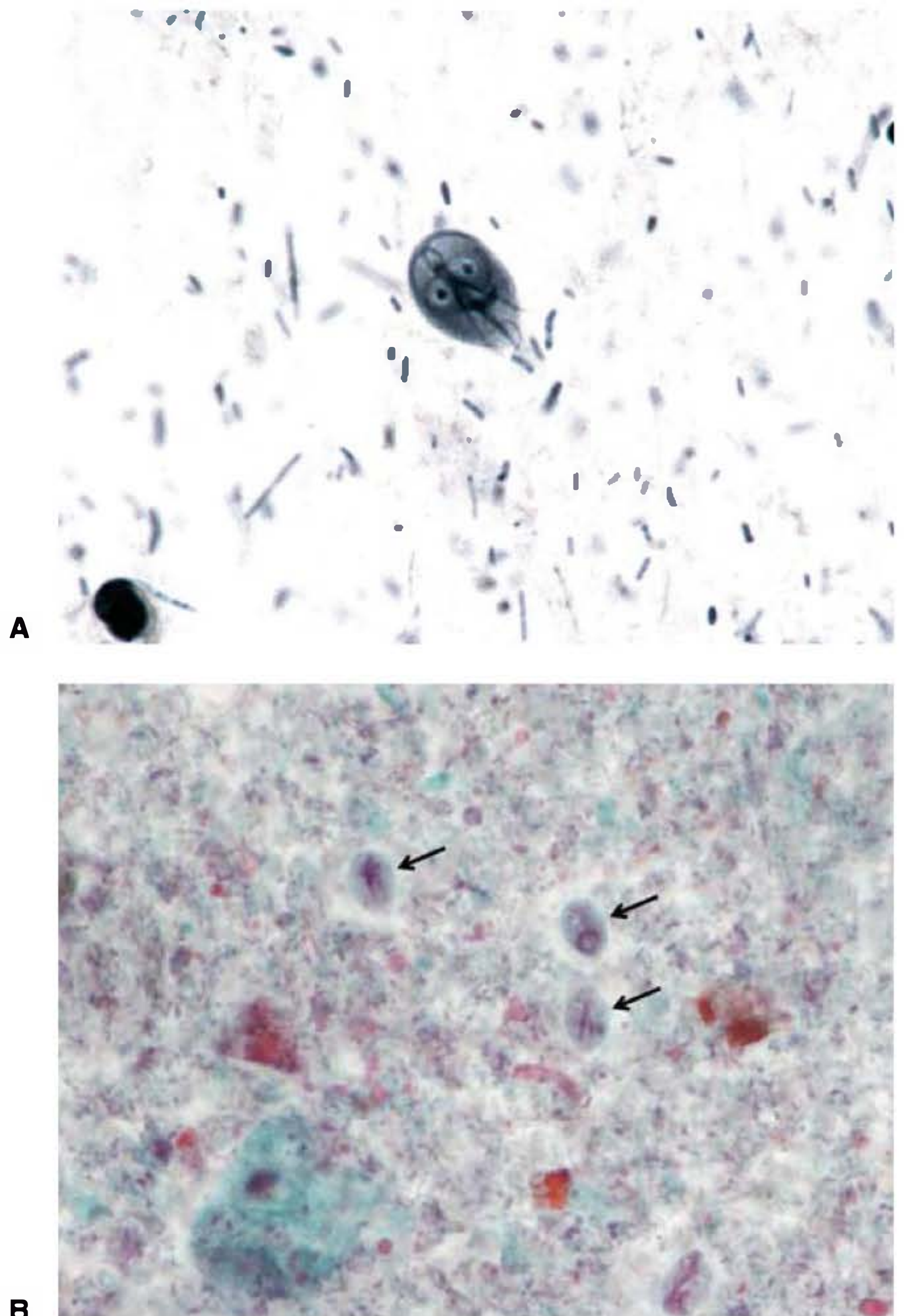


FIGURA 46.1 *Giardia lamblia*. (A) Trofozoíto (12 a 15 μm) (Utilizada, com autorização, de Sullivan J., *A Color Atlas of Parasitology*, 8th ed., 2009.). (B) Cisto (11 a 14 μm). (cortesia de D. Petrovic, Microbiology Section, Clinical Laboratories, UCSF).

ENTAMOEBA HISTOLYTICA (AMEBA INTESTINAL E DE TECIDOS)**Microrganismo**

Os cistos de *Entamoeba histolytica* estão presentes apenas no lúmen do colo e em fezes moles ou formadas, e seu tamanho varia de 10 a 20 μm (Fig. 46.2A). O cisto pode conter um vacúolo de glicogênio e corpos cromatóides (massas de ribonucleoproteína) com extremidades arredondadas características (em contraste com os fragmentos cromatóides presentes no desenvolvimento de cistos de *Entamoeba coli*). A divisão nuclear ocorre dentro do cisto, resultando em um cisto quadrinucleado, com desaparecimento dos corpos cromatóides e vacúolos de glicogênio. O diagnóstico, na maioria dos casos, baseia-se nas características do cisto, uma vez que trofozoítos geralmente só aparecem em fezes diarreicas nos casos ativos e sobrevivem por poucas horas.

O trofozoíto amebóide é uma forma presente apenas em tecidos (Fig. 46.2B). O citoplasma tem duas zonas, uma hialina na margem externa e uma região granular interna, que pode

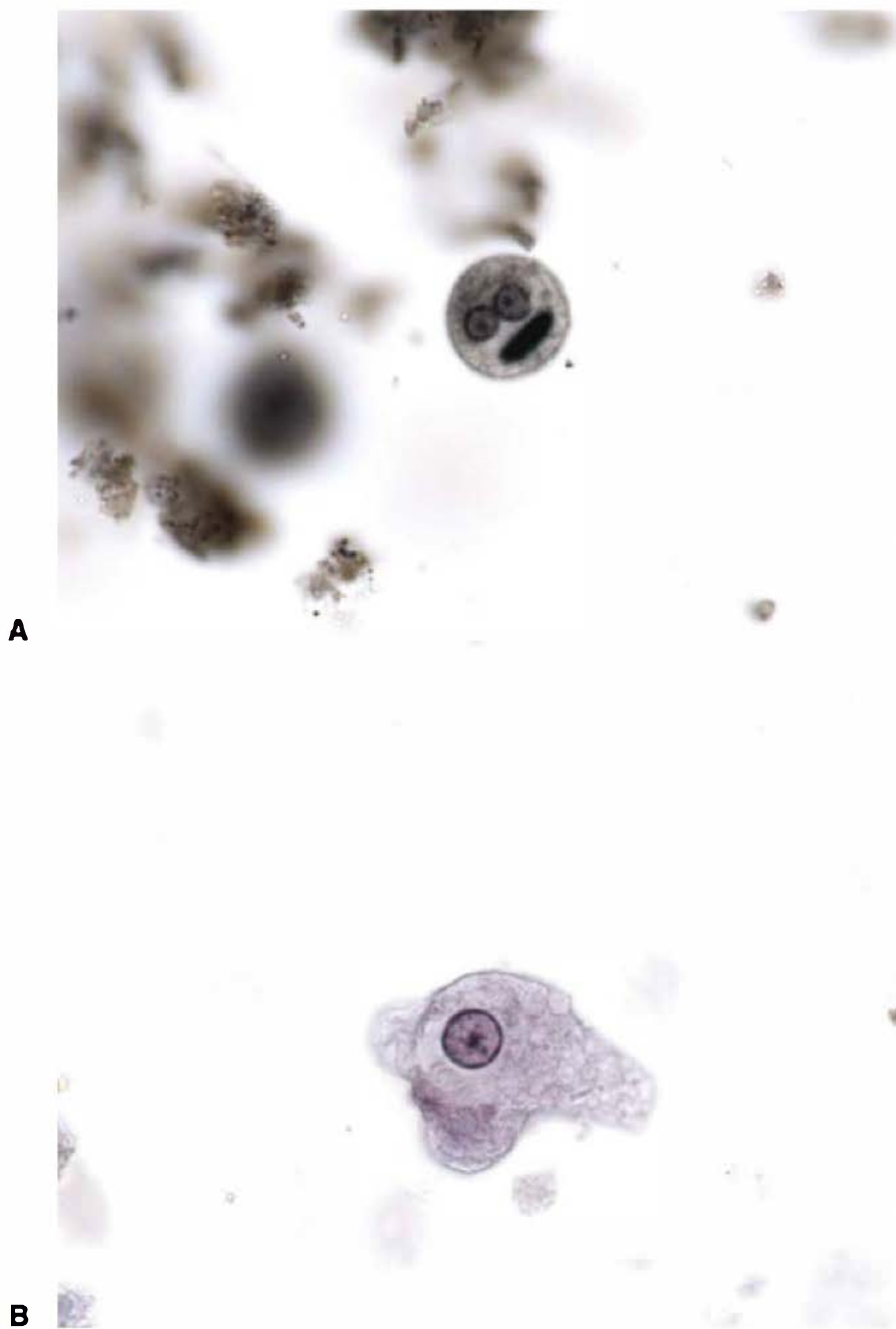


FIGURA 46.2 *Entamoeba histolytica*. (A) Cisto (12 a 15 μm) com 2 (de 4) núcleos e um corpo cromatoide. (B) Trofozoíto (10 a 20 μm). (Utilizada, com autorização, de Sullivan J., *A Color Atlas of Parasitology*, 8th ed., 2009.)

conter glóbulos vermelhos (patognomônicos), mas normalmente não contém nenhuma bactéria. A membrana nuclear é revestida por finos grânulos de cromatina regulares, com um pequeno corpo central (endossomo ou cariossoma).

Patologia e patogênese de amebas invasivas

Estima-se que cerca de 50 milhões de casos de doença invasiva ocorram a cada ano, com até 100.000 mortes (Stanley, 2003). A doença surge quando os trofozoítos de *E. histolytica* invadem o epitélio intestinal e formam úlceras discretas, com uma região central do tamanho de uma cabeça de alfinete e bordas elevadas, pelo qual o muco, as células necróticas e as amebas podem passar. Os trofozoítos multiplicam-se e acumulam-se acima da mucosa muscular, muitas vezes espalhando-se lateralmente. Segue-se uma rápida multiplicação e propagação lateral das amebas, comprometendo a mucosa e produzindo uma úlcera primária em forma de “balão”, característica da amebíase: um pequeno ponto de entrada, seguido de um estreito pescoço através da mucosa ligada a um espaço alargado de necrose na submucosa. Em geral não ocorre invasão bacteriana nesse momento, a reação celular é limitada, e o dano é causado por necrose lítica.

A disseminação posterior pode coalescer as colônias de amebas, comprometendo grandes áreas da superfície da mucosa. Os trofozoítos podem penetrar nas camadas musculares e, ocasionalmente, na serosa, causando uma perfuração na cavidade peritoneal. O posterior alargamento da área de necrose produz alterações macroscópicas na úlcera, que pode desenvolver bordas peludas salientes, invasão bacteriana secundária e acúmulo de leucócitos neutrofílicos. Lesões intestinais secundárias podem desenvolver-se como extensões da lesão primária (geralmente no ceco, no apêndice ou na parte próxima do colo ascendente). Os microrganismos podem migrar para a válvula ileocecal e para o terminal íleo, produzindo uma infecção crônica. O colo sigmoide e o reto são locais privilegiados para as lesões posteriores. Uma inflamação amebiana ou uma massa granulomatosa semelhante a um tumor (ameboma) podem se formar na parede intestinal, às vezes crescendo suficientemente para bloquear o lúmen intestinal.

Os fatores que determinam a invasão de amebas incluem os seguintes: o número de amebas ingeridas, a patogenicidade da cepa do parasito, fatores do hospedeiro, tais como motilidade intestinal e competência imunológica, e a presença de um número adequado de bactérias entéricas que aumentam o crescimento amebiano. A identificação rápida e correta das espécies de *Entamoeba* continua a ser um problema crítico. Os trofozoítos, especialmente com os glóbulos vermelhos no citoplasma, encontrados em fezes líquidas ou semiformadas, são patognomônicos.

Os sintomas variam muito, dependendo do local e da intensidade das lesões. Extrema sensibilidade abdominal, disenteria fulminante, desidratação e incapacitação ocorrem na doença grave. Na doença mais aguda, o início dos sintomas geralmente é gradual, e com frequência inclui episódios de diarreia, dor abdominal, câibras, náuseas e vômitos, e um desejo urgente de defecar. Mais frequentemente, haverá um período (uma semana, aproximadamente) de câibras e de desconforto, falta de apetite e perda ponderal, com mal-estar geral. Os sintomas podem desenvolver-se dentro de 4 dias de exposição, podendo ocorrer até 1 ano depois, ou nunca ocorrer.

A infecção extraintestinal é metastática e raramente ocorre por extensão direta do intestino. De longe a forma mais comum é a hepatite amebiana ou abscesso do fígado (4% ou mais de infecções clínicas), que se supõe ser decorrente da microembolia causada por trofozoítos através do sistema de circulação portal. Supõe-se que a microembolia hepática com trofozoítos é um acompanhamento comum das lesões do intestino, mas que essas lesões focais difusas raramente progridem. Um verdadeiro abscesso amebiano é progressivo, não supurativo (a menos que secundariamente infectado), e destrutivo sem compressão e formação de uma parede. Os conteúdos são necróticos e bacteriologicamente estéreis, com as amebas ativas estando confinadas às paredes. Uma característica “pasta de anchova” é produzida no abscesso e vista na drenagem cirúrgica. Mais de metade dos pacientes com abscesso hepático amebiano não apresenta história de infecção intestinal, e apenas um oitavo apresenta cistos nas fezes. Raramente, os abscessos amebianos ocorrem em outros lugares (p. ex., pulmão, baço, cérebro ou drenagem através da parede do corpo). Qualquer órgão ou tecido em contato com trofozoítos ativos pode tornar-se um local de invasão e abscesso. O abscesso hepático, geralmente mostrado como uma elevação da cúpula direita do diafragma,

pode ser observado por ultrassonografia, tomografia computadorizada, ressonância magnética ou digitalização com radioisótopos. Os exames sorológicos, nestes casos, em geral são fortemente positivos.

OUTRAS AMEBAS INTESTINAIS

E. histolytica invasiva ou patogênica é hoje considerada uma espécie distinta da *E. dispar*, espécie comensal não patogênica mais comum que habita o lúmen intestinal, sendo a denominação *E. histolytica* reservada apenas para a forma patogênica. *E. dispar* e *E. moshkovskii* são, com base em isoenzimas e análises genéticas, espécies distintas, embora sejam microscopicamente idênticas. *E. histolytica* deve ser diferenciada não só de *E. dispar* e *E. moshkovskii*, mas também de outros quatro microrganismos semelhantes a ameba que também são parasitos intestinais humanos: (1) *Entamoeba coli*, que é muito comum; (2) *Dientamoeba fragilis* (um flagelado), o único parasito intestinal além de *E. histolytica* que também é suspeito de causar diarreia e dispepsia mas é não invasivo; (3) *Iodamoeba bütschlii*; e (4) *Endolimax nana*. É necessária considerável experiência para se distinguir *E. histolytica* de outras formas, mas é preciso fazê-lo porque o diagnóstico equivocado muitas vezes leva a tratamentos desnecessários, supertratamento ou falha no tratamento.

Kits imunoenzimáticos (Elisa) estão disponíveis comercialmente para o diagnóstico sorológico de amebíase quando as fezes são frequentemente negativas. Os testes de Elisa para detectar o antígeno amebiano nas fezes são também sensíveis e específicos para *E. histolytica* e podem distinguir entre as infecções patogênicas e não patogênicas.

Epidemiologia

E. histolytica ocorre no mundo todo, principalmente em países em desenvolvimento com condições sanitárias e de higiene precárias. As infecções são transmitidas por via orofecal; cistos são geralmente ingeridos por meio de água, vegetais e alimentos contaminados; moscas também estão ligadas a transmissão em áreas de poluição fecal. A maioria das infecções é assintomática, sendo os cistos assintomáticos uma fonte de contaminação para os surtos onde ocorrem vazamentos de esgoto no abastecimento de água ou falhas de saneamento (como em instituições de tratamento mental, de idosos, de crianças ou em prisões).

CRYPTOSPORIDIUM (ESPOROZOÁRIO INTESTINAL)

Microrganismos

As espécies de *Cryptosporidium*, tipicamente *C. hominis*, podem infectar o intestino em pessoas imunodeprimidas (p. ex., indivíduos com Aids) e causar diarreia grave, intratável. São conhecidas há muito tempo como parasitos de roedores, aves, macacos *rhesus*, gado e outros herbívoros, e provavelmente foram uma causa não reconhecida de gastroenterite e diarreia autolimitadas e brandas em seres humanos. Oocistos medindo 4 a 5 μm são passados pelas fezes em grande número e são imediatamente

infecciosos. Quando oocistos em alimentos e água contaminados são ingeridos, os esporozoítos desencistam-se e invadem as células intestinais; os parasitos multiplicam-se assexuadamente no interior da porção apical das células intestinais, são liberados e infectam outras células intestinais, e começam um novo ciclo. Também se reproduzem sexuadamente, formando microgamontes masculinos e macrogamontes femininos que se fundem e desenvolvem os oocistos.

Patologia e patogênese

Cryptosporidium habita a borda escovada das células da mucosa epitelial do trato gastrointestinal, especialmente a superfície das vilosidades do intestino delgado inferior (Fig. 46.3A). A principal característica clínica da criptosporidiose é diarreia aquosa, geralmente leve e autolimitada (1 a 2 semanas) em pessoas normais mas que pode ser grave e prolongada em pacientes imunodeprimidos, em muitos jovens ou em indivíduos idosos. O intestino delgado é o sítio mais comumente infectado, mas as infecções por *Cryptosporidium* também podem ser encontradas em outros órgãos, inclusive o trato digestório e os pulmões.

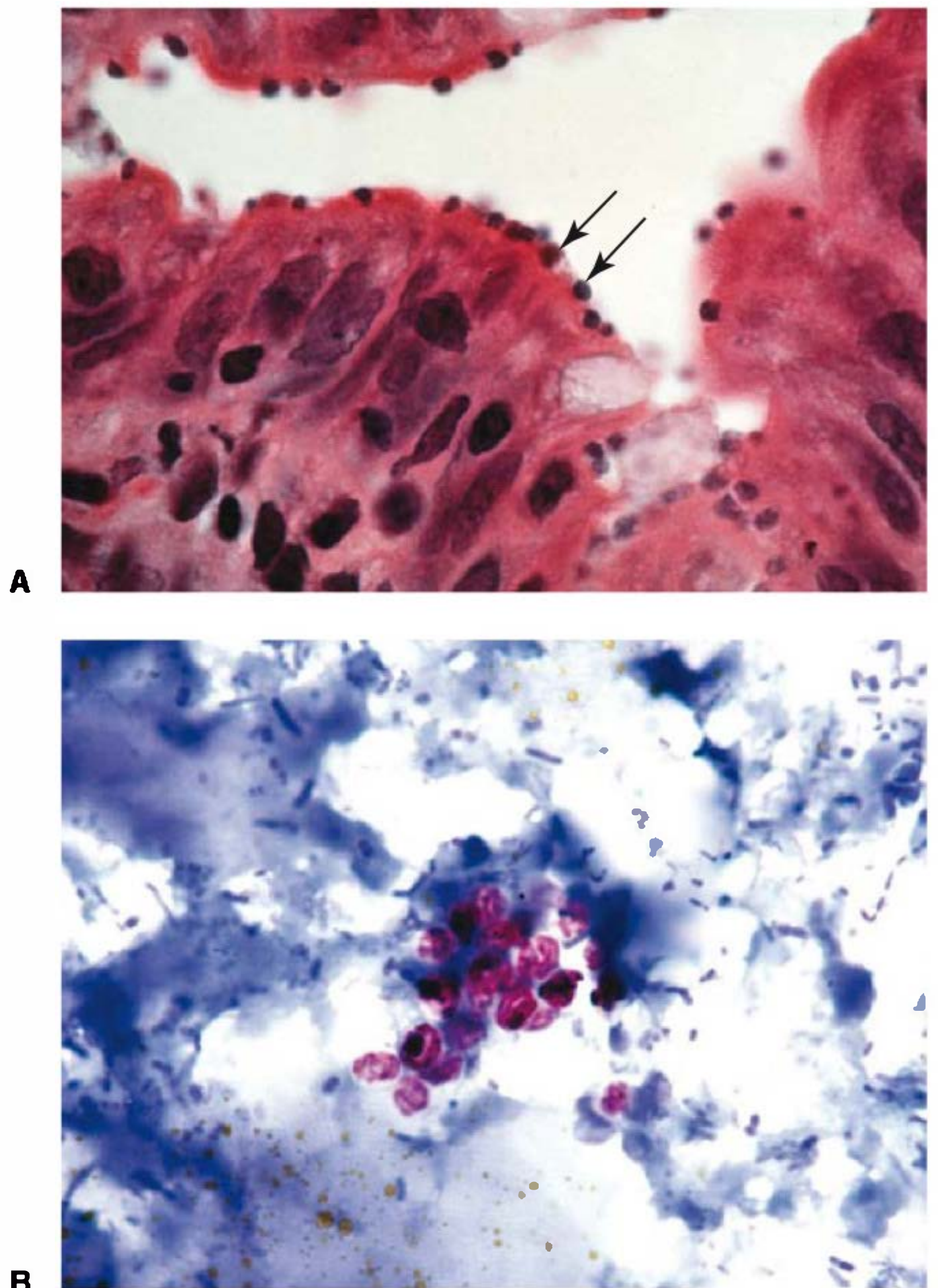


FIGURA 46.3 *Cryptosporidium*. (A) Secção histológica de intestino com microrganismos (setas) na porção apical de células epiteliais. (Cortesia de Pathology, UCSF.) (B) Oocistos (4 a 5 μm), coloração rosa em amostra de fezes corada em álcool-ácido. (Utilizada, com autorização, de Sullivan J., *A Color Atlas of Parasitology*, 8th ed., 2009.)

O diagnóstico depende da detecção de oocistos em amostras frescas de fezes. As técnicas de concentração das fezes por meio de coloração álcool-ácida modificada geralmente são necessárias (Fig. 46.3B). Testes baseados em anticorpos monoclonais podem detectar baixos níveis de infecção, e a microscopia fluorescente com coloração de auramina é útil. Testes de Elisa estão atualmente disponíveis para detecção de antígeno fecal.

Epidemiologia

O período de incubação da criptosporidiose é de 1 a 12 dias, e a doença é adquirida a partir de animais de fezes humanas infectados ou de água ou alimentos contaminados por fezes. Para pacientes de alto risco (imunocomprometidos, muito jovens ou idosos), é necessário evitar o contato com fezes de animais e observar sanitização cuidadosa. Os microrganismos estão disseminados e provavelmente infectam assintomaticamente uma parcela significativa da população humana. Surto ocasionais, tais como o que ocorreu em Milwaukee no início de 1993, que afetou mais de 400.000 pessoas, podem ser o resultado de proteção, tratamento ou filtração da água de grandes centros urbanos inadequados. Nesse caso, o gado de uma grande fazenda leiteira aparentemente foi a fonte de contaminação do fornecimento de água. A capacidade de pouco mais de 30 parasitos iniciarem uma infecção — e a habilidade do parasito de completar seu ciclo de vida, incluindo a fase sexuada, dentro de um mesmo indivíduo — torna possível a ocorrência de infecções fulminantes observadas com frequência em indivíduos imunossuprimidos.

CYCLOSPORA (ESPOROZOÁRIO INTESTINAL)

Microrganismo

O ciclo de vida de *Cyclospora* é similar ao do *Cryptosporidium* e parece envolver somente um único hospedeiro. *Cyclospora*, entretanto, difere de *Cryptosporidium* porque seus cistos são imediatamente infecciosos quando presentes nas fezes. Diferentemente dos oocistos de *Cryptosporidium*, que são infecciosos nas fezes, os oocistos de *Cyclospora* levam dias ou semanas para se tornarem infecciosos. Devido a esta característica, a transmissão direta entre pessoas por meio da exposição fecal é improvável. A ciclosporíase tem sido associada a fontes de água ou alimentos infectados de vários tipos de produtos frescos, inclusive framboesas e manjeriço, desde os anos 1990 (Herwaldt, 2000).

Patologia e patogênese

A arquitetura das mucosas alterada com encurtamento das vilosidades intestinais devido a edema difuso e infiltração de células inflamatórias leva a diarreia, anorexia, fadiga e perda ponderal. A duração dos sintomas entre pessoas não imunes e não tratadas é frequentemente prolongada, mas autolimitada, com sintomas remitente-recidivos permanecendo por várias semanas ou meses. O período de incubação para infecções por *Cyclospora* é de cerca de 1 semana, similar as infecções com

Cryptosporidium. São necessárias requisições específicas para os testes laboratoriais de *Cyclospora* (o mesmo para *Cryptosporidium*) quando se analisam as fezes para a presença de oocistos (8 a 10 µm), que são álcool-ácido positivos (avermelhados). As infecções por *Cyclospora* são tratáveis com sulfametoxazol-trimetoprima (SMZ-TMP).

INFECÇÕES POR PROTOZOÁRIOS SEXUALMENTE TRANSMITIDOS

TRICHOMONAS VAGINALIS (FLAGELADO GENITURINÁRIO)

Microrganismo

Trichomonas vaginalis existe somente como trofozoíto (não existe o estágio de cisto); possui quatro flagelos livres que surgem a partir de um único caule e um quinto flagelo, que forma uma membrana ondulante. É piriforme, com aproximadamente 20 µm de comprimento e 10 µm de largura.

Patologia e patogênese

T. vaginalis é sexualmente transmissível e a maior parte das infecções é assintomática ou branda para ambos os sexos. Na mulher, a infecção é normalmente limitada à vulva, à vagina e cérvix, geralmente não se estendendo ao útero. A superfície das mucosas pode estar sensível, inflamada, com erosão e revestida por um corrimento cor de creme ou amarelado. No homem, a próstata, vesículas seminais e uretra podem estar infectadas. Os sinais e sintomas na mulher, além de corrimento vaginal profuso, incluem sensibilidade local, prurido vulvar e sensação de queimação. Cerca de 10% dos homens infectados apresentam um corrimento uretral branco e fino. O período de incubação é de cerca de 5 a 28 dias.

Epidemiologia

T. vaginalis é um parasito comum em homens e mulheres. A transmissão ocorre pelo intercuro sexual, mas toalhas, duchas, instrumentos de exame e outros objetos contaminados podem ser responsáveis por algumas infecções. Os lactentes podem ser infectados durante o nascimento. O controle das infecções por *T. vaginalis* sempre exige tratamento simultâneo de ambos os parceiros sexuais. Proteção mecânica (preservativo) deve ser utilizada durante o intercuro sexual até que a infecção tenha sido erradicada em ambos os parceiros.

PROTOZOÁRIOS DE INFECÇÕES DO SANGUE E TECIDOS

HEMOFLAGELADOS

Os hemoflagelados dos seres humanos incluem os gêneros *Trypanosoma cruzi* e *Leishmania* (Quadro 46.4). Existem dois tipos distintos de tripanossomas humanos: (1) africano,

QUADRO 46.4 Comparação entre espécies de *Trypanosoma* e de *Leishmania*

Hemoflagelados	Doença	Vetor	Estágios em seres humanos
<i>Trypanosoma brucei rhodesiense</i>	Doença do sono africana (aguda)	Mosca tsé-tsé	Tripomastigotas no sangue
<i>Trypanosoma brucei gambiense</i>	Doença do sono africana (crônica)	Mosca tsé-tsé	Tripomastigotas no sangue
<i>Trypanosoma cruzi</i>	Doença de Chagas	Picada do inseto	Tripomastigotas no sangue; amastigotas intracelulares
Espécies de <i>Leishmania</i>	Leishmaniose cutânea, mucocutânea, visceral	Mosquito-pólvora	Amastigotas intracelulares em macrófagos e monócitos

que causa a doença do sono e é transmitido pela mosca tsé-tsé (p. ex., *Glossina*): *Trypanosoma brucei rhodesiense* e *Trypanosoma brucei gambiense*; e (2) americano, que causa a doença de Chagas e é transmitido por barbeiros (p. ex., *Triatoma*): *Trypanosoma cruzi*. O gênero *Leishmania*, dividido em inúmeras espécies que infectam seres humanos, causa leishmaniose cutânea (botão oriental), mucocutânea (espúndia) e visceral (calazar). Todas estas infecções são transmitidas por flebotomíneos (*Phlebotomus* no Velho Mundo e *Lutzomyia* no Novo Mundo).

TRYPANOSOMA BRUCEI RHODESIENSE E T. BRUCEI GAMBIENSE (HEMOFLAGELADOS)

Microrganismos

O gênero *Trypanosoma* aparece no sangue como tripomastigotas, com corpo alongado sustentando uma membrana ondulante lateral longitudinal e um flagelo que fica nas margens de livre circulação entre a borda da membrana e emerge na extremidade anterior como uma extensão em forma de chicote (Fig. 46.4). O cinetoplasto (DNA circular na única

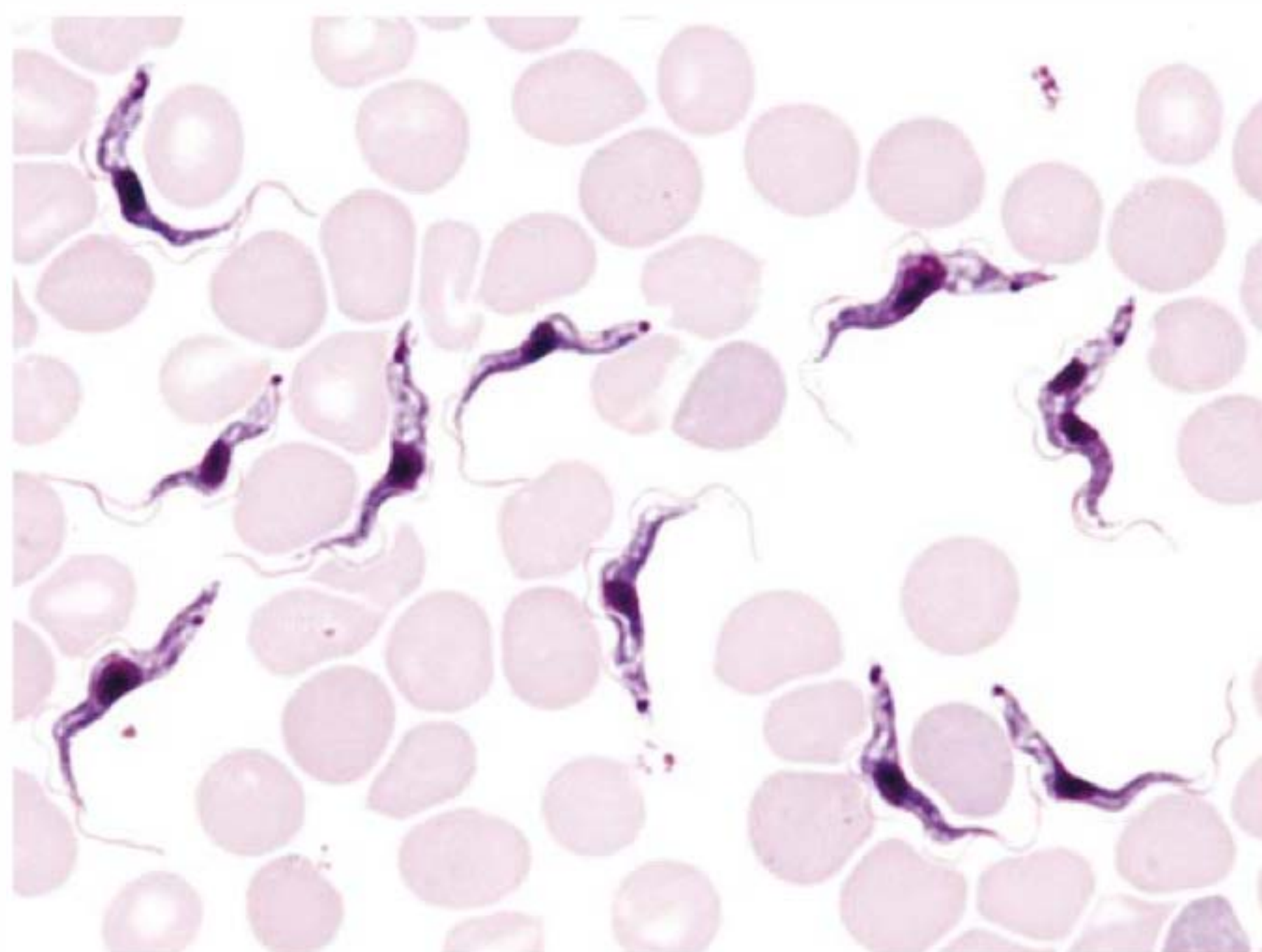


FIGURA 46.4 Tripomastigotas (14 a 35 μm) de *Trypanosoma brucei gambiense* (ou *Trypanosoma brucei rhodesiense*, na prática indistinguíveis) em um esfregaço de sangue (hemácia = 10 μm). (Utilizada, com autorização, de Sullivan J., *A Color Atlas of Parasitology*, 8th ed., 2009.)

mitocôndria) é um corpo de coloração escura que se encontra imediatamente adjacente ao corpo basal do qual surge o flagelo. *Trypanosoma brucei rhodesiense*, *T. brucei gambiense* e *T. brucei brucei* (que causam uma doença do sono chamada nagana em gado de criação e animais de caça) são indistinguíveis morfológicamente, mas diferem bioquímica, ecológica e epidemiologicamente.

Patologia e patogênese

Os tripanossomas infectantes de *T. b. gambiense* e *T. b. rhodesiense* são introduzidos através da picada da mosca tsé-tsé e multiplicam-se no local da inoculação, causando endurecimento variável e inchaço (lesão primária), que pode evoluir para uma forma de cancro tripanossomal. As formas africanas multiplicam-se extracelularmente como tripomastigotas no sangue, bem como em tecidos linfóides. Disseminam-se para os gânglios linfáticos, para corrente sanguínea e, em fases terminais, para o sistema nervoso central (SNC), onde produzem a síndrome típica da doença do sono: cansaço, dificuldade para comer, perda de tecido, inconsciência e morte.

O envolvimento do SNC é mais característico da tripanossomíase africana. O *T. b. rhodesiense* aparece no líquido cerebrospinal em cerca de 1 mês, e o *T. b. gambiense*, em alguns meses, mas ambos estão presentes em pequenas quantidades. A infecção por *T. b. gambiense* é crônica e leva a meningoencefalite progressiva difusa, seguindo para morte pela síndrome do sono geralmente em 1 a 2 anos. A infecção por *T. b. rhodesiense* é mais rápida e fatal, produzindo sonolência e coma somente na última semana de uma infecção terminal. Os tripanossomas são transmissíveis através da placenta e infecções congênitas ocorrem em áreas hiperendêmicas.

Os tripanossomas africanos do complexo *T. brucei* são notáveis, pois sofrem variação antigênica através de uma série de glicoproteínas de superfície controladas geneticamente, que revestem a superfície do microrganismo (glicoproteínas de superfície variantes ou VSG). As sucessivas ondas de parasitos na corrente sanguínea são recobertas, cada qual, por uma camada distinta. Esse processo é devido a alterações geneticamente induzidas da glicoproteína de superfície. Ao produzir diferentes membranas de superfície antigênica, o parasito é capaz de evadir a resposta por anticorpos do hospedeiro. Cada população é reduzida, mas prontamente substituída por outro tipo antigênico antes que a anterior seja eliminada. Acredita-se que cada tripanossoma possua cerca de 1.000 genes VSG, um exemplo de formação de genes em mosaico.

Epidemiologia

A tripanossomíase africana é restrita aos cinturões conhecidos da mosca tsé-tsé. O *T. b. gambiense*, transmitido pela *Glossina palpalis*, mosca tsé-tsé presente nas margens dos rios e por alguns outros vetores tsé-tsé presentes em florestas úmidas, estende-se do Oeste para a África Central e causa uma infecção relativamente crônica, com progressivo envolvimento do SNC. O *T. b. rhodesiense*, transmitido pela *Glossina morsitans*, pela *Glossina pallidipes* e pela *Glossina fuscipes*, ocorre nas savanas do leste e Sudeste da África, com focos a oeste do Lago Vitória. Provoca um pequeno número de casos, mas é mais virulento. Os antílopes podem servir como reservatórios de *T. b. rhodesiense*, enquanto os seres humanos são os principais reservatórios de *T. b. gambiense*. O controle depende da procura, seguida de isolamento e tratamento dos pacientes com a doença; controle do movimento de pessoas dentro e fora dos cinturões da mosca; uso de inseticidas em veículos; e a instituição do controle da mosca, principalmente com inseticidas aéreos e pela alteração dos habitats. O contato com os animais reservatórios é difícil de ser controlado, e o emprego de repelente de insetos é de pequeno valor contra picadas de mosca tsé-tsé.

TRYPANOSOMACRUZI (HEMOFLAGELADO)

Microrganismo

O *Trypanosoma cruzi* apresenta três estágios de desenvolvimento: epimastigotas no vetor, tripomastigotas (na corrente sanguínea), e um estágio intracelular arredondado, o amastigota. As formas de *T. cruzi* no sangue estão presentes durante a fase inicial aguda e a intervalos, a partir daí, em menor número. São tripomastigotas típicos com um grande cinetoplasto terminal, arredondado em preparações coradas, mas são difíceis de distinguir morfologicamente do tripanossoma africano. As formas teciduais, que são mais comuns no músculo cardíaco, no fígado e no cérebro, desenvolvem-se como amastigotas que se multiplicam para formar uma colônia intracelular após a invasão da célula hospedeira ou fagocitose do parasito (Fig. 46.5).

Patologia e patogênese

As formas infectantes do *T. cruzi* não passam para os seres humanos pela picada de insetos triatomíneos (que é o modo de entrada do *T. rangeli* não patogênico); em vez disso, são introduzidos quando as fezes infectadas do inseto são esfregadas na conjuntiva, no local da picada, ou por uma ruptura na pele. No local de entrada do *T. cruzi*, pode haver um nódulo inflamatório subcutâneo ou chagoma. Inchaço unilateral das pálpebras (sinal de Romana) é característico no início da doença, principalmente em crianças. A lesão primária é acompanhada de febre aguda, linfadenite regional e difusão para o sangue e tecidos.

A miocardite intersticial é a condição mais comum e grave na doença de Chagas. Outros órgãos afetados são o fígado, o baço e a medula óssea, especialmente em infecções crônicas por *T. cruzi*. A invasão ou destruição dos nervos do plexo nas paredes do trato alimentar leva a megaesôfago e megacolo,

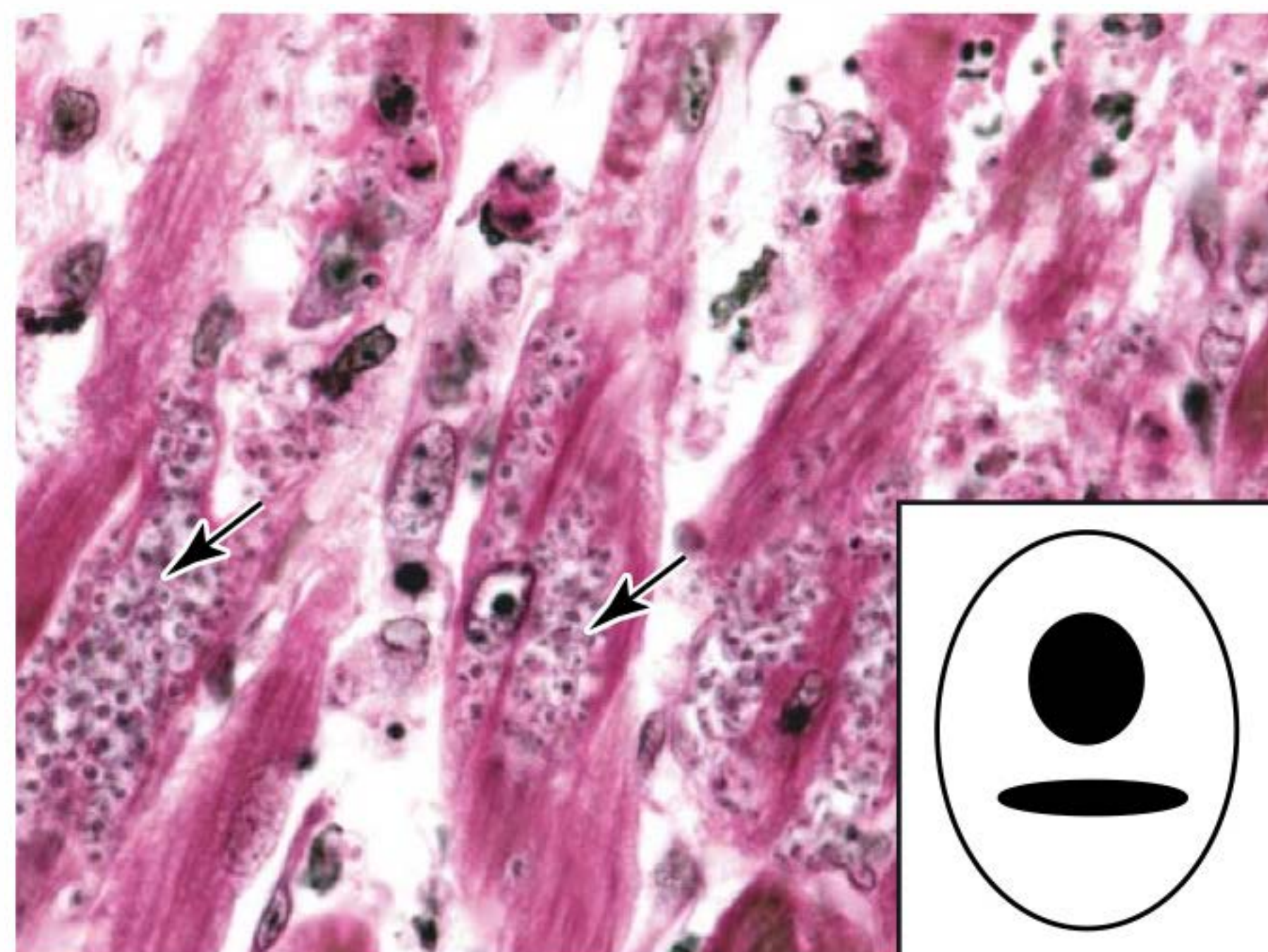


FIGURA 46.5 Colônias amastigotas de *Trypanosoma cruzi* (setas) em músculo cardíaco. Os amastigotas apresentam 1 a 3 μm de diâmetro nas seções de tecido. (Utilizada, com autorização, de Sullivan J., *A Color Atlas of Parasitology*, 8th ed., 2009.) **Inserção:** Diagrama de um amastigota com a característica de "ponto" (núcleo) e traço (cinetoplasto).

especialmente na doença de Chagas brasileira. Megaesôfago e megacolo estão ausentes na doença de Chagas colombiana, venezuelana e da América Central. O *Trypanosoma rangeli*, das Américas Central e do Sul, infecta o homem sem causar doença, e deve, portanto, ser cuidadosamente diferenciado das espécies patogênicas.

Epidemiologia

A tripanossomíase americana (doença de Chagas) é especialmente importante nas Américas Central e do Sul, embora a infecção de animais se estenda muito mais amplamente — p. ex., para Maryland para o sul da Califórnia, nos EUA. Alguns casos humanos autóctones foram relatados no Texas e sul da Califórnia. Uma vez que nenhum tratamento eficaz é conhecido, é particularmente importante controlar os vetores com inseticidas residuais e modificação no habitat, como substituição das paredes (de adobe ou pau a pique no interior do Brasil) por paredes de tijolos e dos telhados de palha, onde os insetos vivem, por telhas, para evitar contato com reservatórios animais. A doença de Chagas ocorre principalmente em pessoas de baixas condições socioeconômicas. Estima-se que 8 a 12 milhões de pessoas abriguem o parasito, e muitos desses indivíduos apresentem danos cardíacos, resultando em drástica redução da sua capacidade de trabalho e da sua expectativa de vida.

ESPÉCIES LEISHMANIA (HEMOFLAGELADOS)

Microrganismos

O mosquito transmite os promastigotas infectantes durante a picada. Os promastigotas rapidamente transformam-se em amastigotas após sofrerem fagocitose pelos macrófagos ou

monócitos e multiplicam-se em seguida, preenchendo o citoplasma da célula. Ocorre uma explosão de células infectadas, e os parasitos liberados são novamente fagocitados. Esse processo é repetido, produzindo uma lesão cutânea ou infecção visceral, dependendo da espécie do parasito e da resposta do hospedeiro. Os amastigotas são ovoides e têm cerca de 2 a 3 μm de tamanho. O núcleo e o cinetoplasto, em forma de bastão e de coloração escura, podem ser vistos como um “ponto” e um “traço”.

O gênero *Leishmania*, amplamente distribuído na natureza, tem um número de espécies que são quase idênticas morfológicamente. As características clínicas da doença são características diferenciadoras tradicionais, mas atualmente são reconhecidas muitas exceções. As leishmânias diferentes apresentam uma variedade de características clínicas e epidemiológicas que, por conveniência, são combinadas em três grupos clínicos: (1) **leishmaniose tegumentar** (úlceras orientais, erupção de Bagdá, úlcera cutânea úmida inflamada, úlcera cutânea seca, úlceras de *chicleros*, uta e outros nomes); (2) **leishmaniose tegumentar americana** (espúndia); e (3) a **leishmaniose visceral** (calazar — Hindi ou febre negra).

Existem diferenças em termos de virulência, tropismo tecidual e características biológicas e epidemiológicas, bem como nos critérios sorológicos e bioquímicos entre as cepas. Algumas espécies podem induzir síndromes diversas (p. ex., a leishmaniose visceral a partir de microrganismos de leishmaniose tegumentar ou cutânea ou leishmaniose a partir de microrganismos da leishmaniose visceral). De modo semelhante, uma mesma condição clínica pode ser causada por diferentes agentes.

Patologia e patogênese

L. tropica, *L. major*, *L. mexicana*, *L. braziliensis* e outras formas cutâneas induzem uma lesão cutânea no local da inoculação pelo mosquito (leishmaniose cutânea, botão oriental, erupção de Delhi, etc.) As camadas da derme são as primeiras afetadas, com infiltrado celular e proliferação intracelular de amastigotas e disseminação extracelular, até que a infecção penetra na epiderme e causa ulceração. Podem ser encontradas lesões-satélite (hipersensibilidade ou leishmaniose cutânea recidivante) que contêm pouco ou nenhum parasito, não respondem prontamente ao tratamento e induzem uma reação granulomatosa cicatrizante forte. Na Venezuela, a forma disseminada cutânea, causada por *L. mexicana pifanoi*, é conhecida. Na Etiópia, uma forma chamada *L. aethiopica* provoca leishmaniose cutânea disseminada, com uma lesão similar, não ulcerativa e com bolhas. Ambas as formas são tipicamente anérgicas e não reativas ao antígeno de teste cutâneo, contendo um grande número de parasitos nas bolhas dérmicas.

L. braziliensis braziliensis causa **leishmaniose mucocutânea** ou **nasofaríngea** na América do Sul amazônica. É conhecida por muitas denominações locais. As lesões são de crescimento lento mas extenso (às vezes, 5 a 10 cm). A partir desses locais, a migração parece ocorrer rapidamente para a superfície da mucosa da nasofaringe ou palatina, onde o crescimento não pode mais realizar-se durante anos. Depois de meses a mais de 20 anos, uma erosão implacável pode desenvolver-se, destruindo o septo nasal e regiões vizinhas. Em



FIGURA 46.6 Paciente com espúndia causada por *Leishmania braziliensis*. (Reproduzida, com autorização, OMS/TDR.)

alguns casos, a morte ocorre por asfixia devido ao bloqueio da traqueia, impossibilidade de se alimentar ou infecção respiratória. Este é o quadro clássico da espúndia (Fig. 46.6), encontrada com maior frequência na bacia amazônica. No altiplano peruano, as características clínicas (uta) assemelham-se ao do botão oriental. As infecções por *L. braziliensis guyanensis* frequentemente se espalham ao longo das vias linfáticas, onde aparecem como uma cadeia linear de lesões não ulcerativas. A infecção por *L. mexicana* é geralmente mais restrita a uma única lesão ulcerativa e indolor, que se cura em cerca de um ano, deixando uma cicatriz circular característica. No México e na Guatemala, frequentemente há envolvimento das orelhas (úlceras dos *chicleros*), em geral com uma infecção que ataca a cartilagem sem ulcerações e com poucos parasitos.

L. donovani, que causa a **leishmaniose visceral** ou calazar, dissemina-se a partir do local da inoculação para multiplicar-se nas células reticuloendoteliais, especialmente macrófagos no baço, no fígado, em linfonodos e na medula óssea (Fig. 46.7). Isto é acompanhado de hiperplasia acentuada do baço. Emagrecimento progressivo é acompanhado de fraqueza crescente. Há febre irregular, às vezes, com agitação. Os casos não tratados com sintomas de calazar em geral são fatais. Algumas formas, especialmente na Índia, desenvolvem uma recorrência cutânea rosada, com parasitos abundantes em vesículas cutâneas, 1 a 2 anos mais tarde (pós-calazar leishmanioide dérmico).

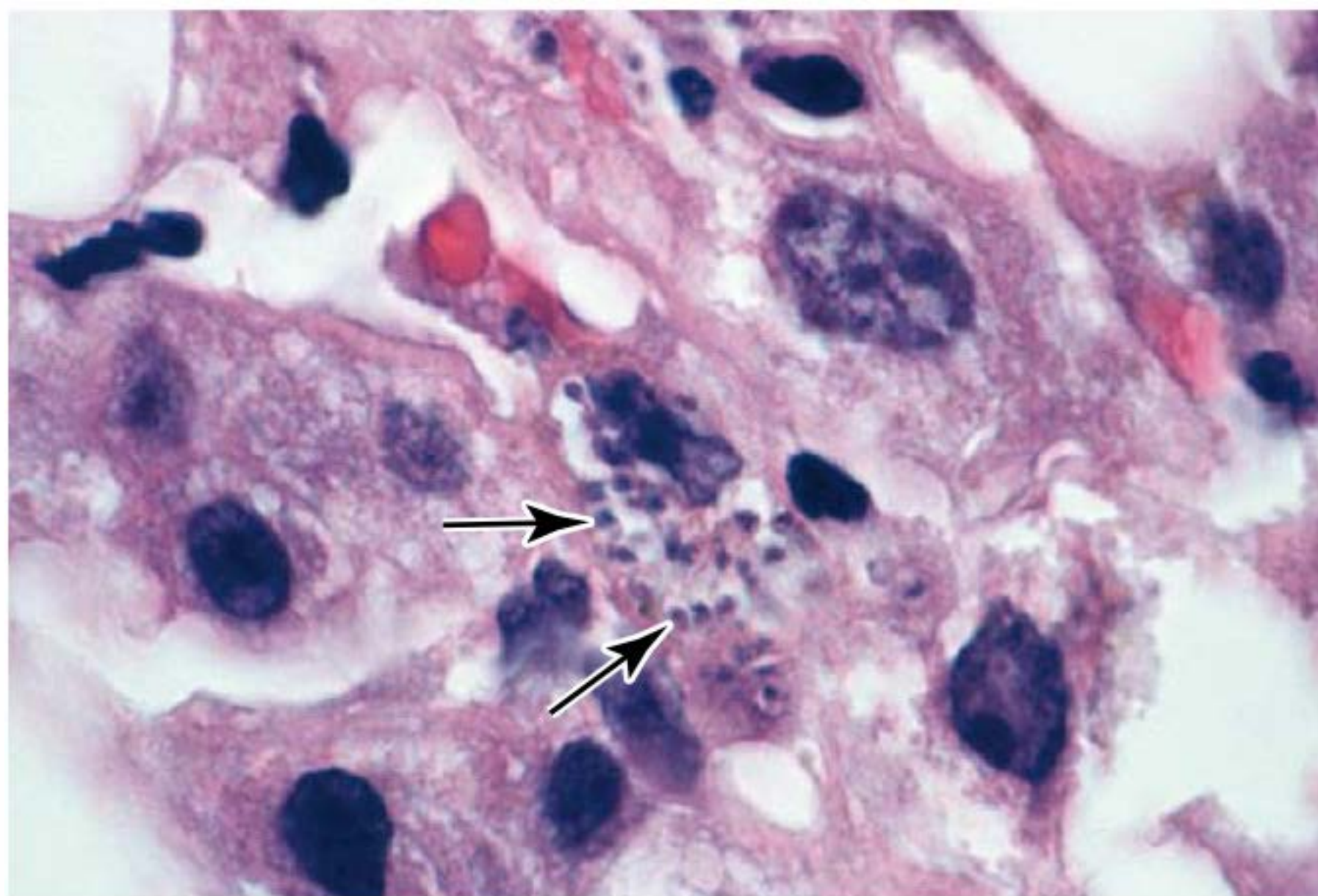


FIGURA 46.7 Amastigotas de *Leishmania donovani* (setas) de uma biópsia de fígado. (Cortesia de Pathology, UCSF.)

Epidemiologia

De acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS), considera-se que ocorram 2 milhões de novos casos de leishmaniose anualmente (1,5 milhão de casos de leishmaniose cutânea e 500.000 de leishmaniose visceral), com um número estimado de 12 milhões de pessoas atualmente infectadas no mundo (OMS, 2009).

O botão oriental ocorre principalmente na região do Mediterrâneo, no norte da África, no Oriente Médio e no Oriente Próximo. O tipo “úmido”, causado por *L. major*, é rural, e os roedores que vivem em tocas são o reservatório principal; o tipo “seco”, causado pela *L. tropica*, é urbano, e os seres humanos são presumivelmente o único reservatório. Quanto ao *L. braziliensis*, existe um número de hospedeiros animais selvagens, mas aparentemente não há reservatórios em animais domésticos. Os flebotomíneos são os vetores envolvidos em todas as formas.

L. donovani é encontrado em focos na maioria dos países tropicais e subtropicais. Sua distribuição local está relacionada com a prevalência de vetores flebotomíneos específicos. No litoral do Mediterrâneo, na Ásia Central e na América do Sul, os reservatórios são canídeos silvestres; e, no Sudão, vários carnívoros e roedores silvestres são reservatórios de espécies endêmicas de calazar. Não foram encontrados reservatórios animais para as formas da Índia e do Quênia. O controle é feito pela destruição de criadouros e abate de cães, se for o caso, e pela proteção das pessoas contra picadas do mosquito.

ENTAMOEBAS HISTOLYTICAS (AMEBAS DE TECIDOS) — VERSEÇÕES SOBRE INFECÇÕES POR PROTOZOÁRIOS INTESTINAIS

NAEGLERIA FOWLERI, ACANTHAMOEBA CASTELLANII E BALAMUTHIA MANDRILLARIS (AMEBAS DE VIDA LIVRE)

Microrganismos

A meningoencefalite primária amebiana (MPA) e a encefalite granulomatosa amebiana (EGA) ocorrem na Europa e na

América do Norte pela invasão amebiana do cérebro. As amebas de vida livre do solo *Naegleria fowleri*, *Acanthamoeba castellanii*, *Balamuthia mandrillaris* e, possivelmente, espécies de *Hartmannella* têm sido implicadas. A maioria dos casos desenvolveu-se em crianças que foram nadar e mergulhar em águas mornas contaminadas pelo solo (p. ex., em lagoas e rios).

Patologia e patogênese

As amebas, principalmente *Naegleria fowleri*, entram pelo nariz e através da lâmina criviforme do osso etmoide, passando diretamente para o tecido cerebral, onde rapidamente formam ninhos de amebas que causam hemorragia e danos extensos, principalmente nas porções basais do cérebro e no cerebelo (Fig. 46.8).

O período de incubação é de 1 a 14 dias; os primeiros sintomas incluem dores de cabeça, febre, letargia, rinite, náuseas, vômitos e desorientação, e assemelham-se aos da meningite bacteriana aguda. Na maioria dos casos, os pacientes entram em coma e morrem dentro de uma semana. A chave para o diagnóstico é a suspeita clínica com base na história recente de nadar ou mergulhar em águas mornas.

A entrada de *Acanthamoeba* no SNC ocorre a partir de úlceras cutâneas ou penetração traumática, com ceratite a partir de punção da superfície da córnea ou ulceração a partir de soro contaminado, usado com lentes de contato. A EGA é causada por *Acanthamoeba* e *Balamuthia* e é frequentemente associada a indivíduos imunocomprometidos. A infecção do SNC a partir da lesão da pele pode ocorrer semanas ou meses depois. Recebe a denominação encefalite granulomatosa amebiana para distingui-la da infecção cerebral rápida e explosiva por *Naegleria* (MPA). O tratamento com anfotericina B tem sido bem-sucedido em alguns casos, principalmente nas raras circunstâncias em que o diagnóstico pode ser feito rapidamente.

ESPÉCIES PLASMODIUM (ESPOROZOÁRIO DO SANGUE)

A malária é, de todas as doenças parasitárias, a que mais mata. Estima-se que ao menos 1 milhão de pessoas morra por malária



FIGURA 46.8 As áreas escuras do cerebelo são regiões de necrose causada por amebas *Naegleria fowleri*. (Cortesia de Pathology, UCSF.)

a cada ano, principalmente crianças de até 5 anos (OMS, Malaria Report, 2005). Mais de 80% das mortes ocorrem na África Subsaariana.

Microrganismos

Quatro espécies de *Plasmodium* causam a malária em seres humanos: *Plasmodium vivax*, *P. falciparum*, *P. malariae* e *P. ovale*. As duas espécies mais comuns são *P. falciparum* e *P. vivax*, sendo *P. falciparum* a mais patogênica de todas. A transmissão para seres humanos ocorre por meio da picada do mosquito fêmea hematófaga de *Anopheles* (Fig. 46.9). As características morfológicas e de outras espécies estão resumidas no Quadro 46.5 e ilustradas nas Figuras 46.10 e 46.11A a C.

A infecção humana resulta da picada de um mosquito *Anopheles* fêmea infectado, através do qual os esporozoítos são injetados na corrente sanguínea. Os esporozoítos rapidamente (em geral dentro de 1 h) penetram nas células parenquimatosas do fígado, onde ocorre o primeiro estágio de desenvolvimento em humanos (fase exoeritrocítica do ciclo de vida). Posteriormente, inúmeras progêneses assexuadas, os merozoítos, rompem-se e deixam as células do fígado, entram na corrente sanguínea e invadem as hemácias. Os merozoítos não retornam das células vermelhas do sangue para as células do fígado.

Os parasitos nas células vermelhas multiplicam-se de uma forma característica da espécie, saindo das células do hospedeiro de maneira sincrônica. Este é o ciclo eritrocítico, com ninhadas sucessivas de merozoítos surgindo a intervalos de 48 h (*P. vivax*, *P. falciparum* e *P. ovale*) ou a cada 72 h (*P. malariae*). Durante os ciclos eritrocíticos, alguns merozoítos entram nas

células vermelhas e tornam-se diferenciados como gametócitos masculinos ou femininos. O ciclo sexual, portanto, começa no hospedeiro vertebrado, mas para a sua continuação para a fase esporogônica os gametócitos devem ser retomados e ingeridos pelas fêmeas de *Anopheles* sugadoras de sangue.

Os *P. vivax* e *P. ovale* podem persistir em formas latentes ou hipnozoítos, depois que os parasitos tiverem desaparecido do sangue periférico. O ressurgimento de uma infecção eritrocítica (recidiva) ocorre quando merozoítos de hipnozoítos saem do fígado, não são fagocitados na corrente sanguínea, e são bem-sucedidos no restabelecimento de uma infecção de células vermelhas (malária clínica). Sem tratamento, as infecções por *P. vivax* e *P. ovale* podem persistir como recaídas periódicas por até 5 anos. Infecções com duração de 40 anos por *P. malariae* foram relatadas; supõe-se tratar-se de uma infecção eritrocítica oculta em vez de uma infecção exoeritrocítica, sendo por isso chamada de recrudescência para distingui-la de uma recaída.

Patologia e patogênese

O período de incubação da malária é geralmente de 9 a 30 dias, dependendo da espécie infectante. Para *P. vivax* e *P. falciparum*, esse período é geralmente de 10 a 15 dias, mas pode levar semanas ou meses. O período médio de incubação de *P. malariae* é de cerca de 28 dias. Deve-se sempre suspeitar de malária *falciparum*, que pode ser fatal, se ocorrer febre, com ou sem outros sintomas, a qualquer momento entre 1 semana após a primeira possível exposição à malária e 2 meses (ou até mais) após a última exposição possível.

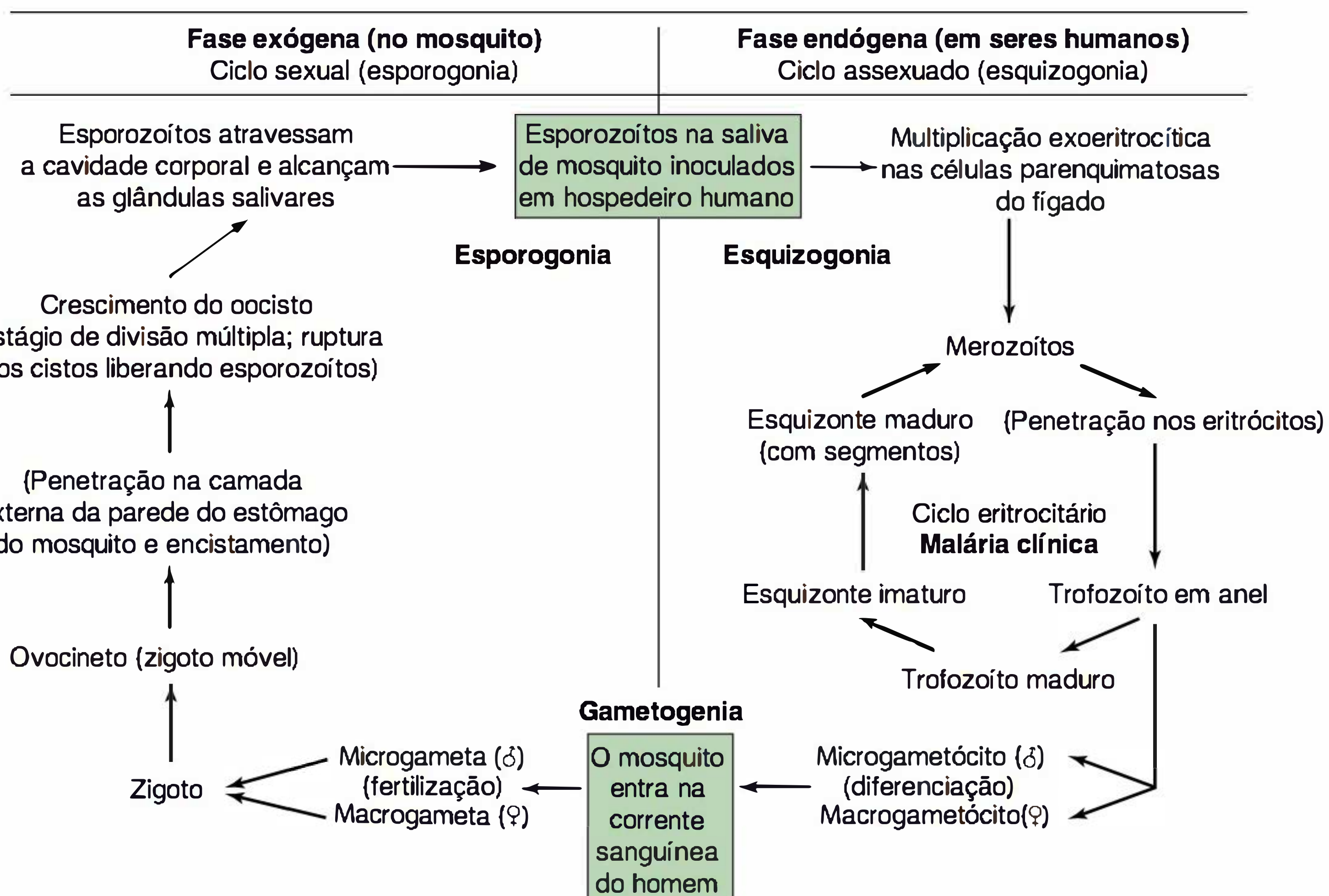


FIGURA 46.9 Ciclo de vida dos parasitos da malária. O ciclo contínuo ou a multiplicação tardia no fígado podem provocar recidivas periódicas durante vários anos (1 a 2 anos em *Plasmodium ovale* e 3 a 5 anos em *Plasmodium vivax*). A recidiva não ocorre com *Plasmodium falciparum*, embora possa haver um longo período pré-patente, resultando no aparecimento de sintomas iniciais até 6 meses ou mais após a exposição.

QUADRO 46.5 Alguns aspectos característicos dos parasitos da malária em seres humanos (preparações coradas pelo método de Romanowsky)

	<i>Plasmodium vivax</i> (malária terçã benigna)	<i>P. falciparum</i> (malária terçã maligna)	<i>P. malariae</i> (malária quartã)	<i>P. ovale</i> (malária oval)
Eritrócitos parasitados	De tamanho aumentado, pálidos. Pontilhado fino (manchas de Schüffner). Invadem principalmente reticulócitos e eritrócitos jovens	Sem aumento de tamanho. Pontilhados grosseiros (fendas de Maurer). Invadem todos os eritrócitos, independente da idade	Sem aumento de tamanho. Ausência de pontilhados (exceto com corantes especiais). Invadem principalmente eritrócitos mais velhos	De tamanho aumentado, pálido. Granulações de Schüffner evidentes. Células frequentemente ovais, fimbriadas ou crenadas
Nível de parasitemia máxima usual	Até 30.000/μL de sangue	Pode exceder 200.000/μL; geralmente 50.000/μL	Menos de 10.000/μL	Menos de 10.000/μL
Trofozoítos em estágio de anel	Grandes anéis (1/3 a 1/2 do diâmetro do eritrócito). Em geral, um grânulo de cromatina; anel delicado	Pequenos anéis (1/5 do diâmetro do eritrócito). Geralmente dois grânulos; é comum a ocorrência de múltiplas infecções; anel delicado, pode aderir aos eritrócitos	Grandes anéis (1/3 do diâmetro do eritrócito). Geralmente um grânulo de cromatina; anel espesso	Grandes anéis (1/3 do diâmetro do eritrócito). Geralmente um grânulo de cromatina; anel espesso
Pigmento nos trofozoítos em desenvolvimento	Fino; castanho-claro; disperso	Grosseiro; preto; poucos agregados	Grosseiro; castanho-escuro; agregados dispersos; abundante	Grosseiro; amarelo-escuro; disperso
Trofozoítos maduros	Muito pleomórficos	Compactos e arredondados ^a	Formas em bastão ocasionais	Compactos e arredondados
Esquizontes maduros (com segmentos)	Mais de 12 merozoítos (14 a 24)	Geralmente mais de 12 merozoítos (8 a 32). Muito raros no sangue periférico ^a	Menos de 12 merozoítos grandes (6 a 12). Frequentemente em roseta	Menos de 12 merozoítos grandes (6 a 12). Frequentemente em roseta
Gametócitos	Redondos ou ovais	Em crescente	Redondos ou ovais	Redondos ou ovais
Distribuição no sangue periférico	Todas as formas	Somente anéis e crescentes (gametócitos) ^a	Todas as formas	Todas as formas

^a Em geral, apenas os estágios de anel ou gametócitos são observados no sangue periférico infectado por *P. falciparum*; os estágios pós-anel tornam os eritrócitos viscosos, de modo que eles tendem a ser retidos nos leitos capilares profundos, exceto em infecções maciças e geralmente fatais.

As parasitemias por *P. vivax*, *P. malariae* e *P. ovale* são de grau relativamente baixo, principalmente porque os parasitos favorecem tanto hemácias jovens como velhas, mas não ambas; *P. falciparum* invade hemácias de todas as idades, inclusive as células-tronco da eritropoiese na medula óssea, de modo que a parasitemia pode ser muito alta. O *P. falciparum* também faz que os glóbulos vermelhos parasitados produzam inúmeros botões salientes que aderem ao revestimento endotelial dos vasos sanguíneos, com consequentes obstrução, trombose e isquemia local. As infecções por *P. falciparum* são, portanto, muito mais graves do que as outras, com uma taxa muito maior de complicações graves e frequentemente fatais (malária cerebral, hiperpirexia malárica, distúrbios gastrintestinais, malária algida, febre hemoglobinúrica). A consideração de malária no diagnóstico diferencial em pacientes com uma apresentação sugestiva e história de viagem para áreas endêmicas é crucial, porque atrasos no tratamento podem levar a uma doença grave ou morte por malária *falciparum*.

Paroxismos periódicos de malária estão intimamente relacionados com eventos na corrente sanguínea. Um calafrio inicial, com duração de 15 min a 1 h, começa com a geração sincrônica de divisão de parasitos e ruptura das células hospedeiras

(hemácias) e escape para o sangue. Náuseas, vômitos e dores de cabeça são comuns nesse período. O estágio febril que se segue, e que dura algumas horas, caracteriza-se por uma febre em picos, que frequentemente chega a 40°C ou mais. Durante esse estágio, os parasitos invadem novas células vermelhas. O terceiro estágio, ou sudorese, conclui o episódio. A febre desaparece, o paciente adormece e acorda mais tarde, sentindo-se relativamente bem. Nos estágios iniciais da infecção, os ciclos são frequentemente assíncronos e o padrão de febre é irregular; mais tarde, os paroxismos podem ocorrer a intervalos regulares de 48 a 72 h, embora a pirexia por *P. falciparum* possa durar 8 h ou mais, podendo exceder os 41°C. Conforme a doença progride, surgem esplenomegalia e, em menor extensão, hepatomegalia. Anemia normocítica também se desenvolve, especialmente em infecções por *P. falciparum*.

Anemia normocítica de gravidade variável pode ser detectada. Durante as crises, pode haver leucocitose transitória; posteriormente, desenvolve-se leucopenia, com um aumento relativo de células mononucleares. Podem ocorrer resultados anormais nos testes de função hepática durante os ataques, que voltam ao normal com o tratamento ou recuperação espontânea. A presença de proteínas na urina de crianças com

Estágios	Parasitas			
	<i>Plasmodium vivax</i>	<i>Plasmodium ovale</i>	<i>Plasmodium malariae</i>	<i>Plasmodium falciparum</i>
Estágio de anel				
Trofozoíto em desenvolvimento				
Esquizonte em desenvolvimento				
Esquizonte				
Microgametócito				
Macrogametócito				

FIGURA 46.10 Características morfológicas dos estágios de desenvolvimento dos parasitos da malária nos eritrócitos. Observar os pontos de Schüffner citoplasmáticos e as células hospedeiras aumentadas nas infecções por *Plasmodium vivax* e *Plasmodium ovale*; o trofozoíto em forma de bastonete frequentemente observado na infecção por *Plasmodium malariae*, e os pequenos anéis infectantes e frequentemente múltiplos, bem como os gametócitos em forma de banana nas infecções por *Plasmodium falciparum*. Em geral, os anéis e os gametócitos são observados apenas em esfregaços de sangue periférico de pacientes com infecção por *P. falciparum*. (Reproduzida, com autorização, de Goldsmith R, Heyneman D: *Tropical Medicine and Parasitology*. McGraw-Hill, 1989. The McGraw-Hill Companies, Inc.)

P. malariae é sugestiva de nefrose quartã. Em infecções graves por *P. falciparum*, o dano renal pode causar oligúria e o aparecimento de proteínas e células vermelhas na urina.

Epidemiologia e controle

Atualmente, a malária está mais limitada a regiões tropicais e subtropicais, embora os surtos na Turquia atestem a capacidade desta doença de reaparecer em áreas das quais o agente foi eliminado. Malária em zonas temperadas é relativamente incomum, embora graves surtos epidêmicos possam ocorrer quando uma grande população não imune dessas áreas está exposta; em geral é instável e relativamente fácil de controlar ou erradicar. A malária tropical é geralmente mais estável, difícil

de controlar, e muito mais difícil de erradicar. Nos trópicos, a malária geralmente desaparece em altitudes acima de 6.000 pés. *P. vivax* e *P. falciparum*, as espécies mais comuns, são encontradas em todo o cinturão da malária. *P. malariae* também está amplamente distribuído, mas é consideravelmente menos comum. O *P. ovale* é raro, exceto na África Ocidental, em que parece substituir *P. vivax*. Todas as formas de malária podem ser transmitidas por via transplacentária, por transfusão de sangue ou por agulhas compartilhadas entre usuários de drogas quando um deles está infectado. Tais casos não desenvolvem uma infecção do fígado; dessa maneira, não ocorre recidiva. A infecção natural (exceto transmissão transplacentária) só ocorre por meio da picada de um mosquito *Anopheles* fêmea infectado.

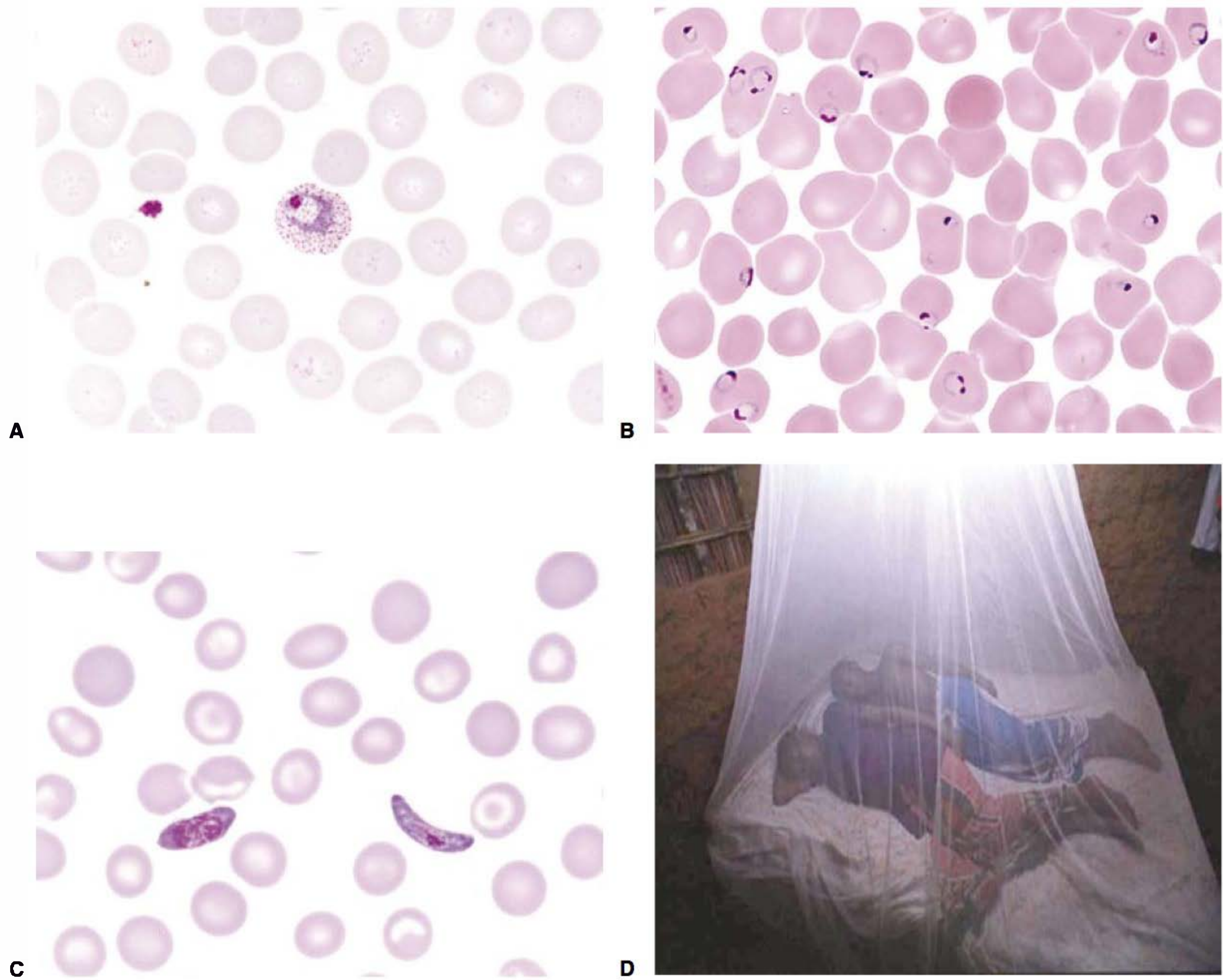


FIGURA 46.11 Características distintas entre os dois parasitos mais comuns da malária: (A) Trofozoíto de *Plasmodium vivax* no interior de uma hemácia com granulações de Schüffner. (B) Anéis duplos e (C) Gametócitos em forma de banana são observados em infecções típicas por *Plasmodium falciparum*. (D) Redes de leito impregnadas com inseticida são uma importante maneira de proteção contra os mosquitos transmissores da malária. (A a C) Usada, com autorização, de Sullivan J., *A Color Atlas of Parasitology*, 8th ed., 2009. (D) Usada, com autorização, da biblioteca de imagens da OMS/TDR/Crump.)

O controle da malária depende da eliminação dos locais de reprodução do mosquito, de proteção pessoal contra os mosquitos (p. ex., telas, redes de proteção tratadas com piretrina [ver Fig. 46.11D], roupas de proteção com mangas e calças compridas e repelentes), medicamentos supressivos para as pessoas expostas, e tratamento adequado dos casos e dos portadores. A erradicação exige prevenção de contato entre os mosquitos *Anopheles* e seres humanos o suficiente para prevenir a transmissão, com eliminação de todos os processos ativos pelo tratamento e pela cura espontânea. Os resultados dos esforços maciços em áreas de alta endemicidade tropical têm sido infrutíferos. Projetos custosos de erradicação realizados entre 1955 e 1970 foram substituídos por programas de controle especificamente voltados para o mosquito vetor e para a ecologia e epidemiologia da malária em cada área. Esses programas devem ser mantidos como responsabilidade permanente de saúde pública. Um grande esforço da OMS, para “fazer recuar o paludismo” está atualmente em evolução.

Atualmente, não existe uma vacina disponível contra a malária. Um antígeno de superfície do esporozoíto foi testado

como uma vacina antiesporozoíto, mas os testes iniciais em seres humanos não foram bem-sucedidos. Uma vacina com o tripeptídeo sintético SPf66 foi testada na Colômbia, tendo sido considerada parcialmente eficaz (< 50%). Uma vacina profilática completa teria que ser ativa contra os esporozoítos e merozoítos das espécies-alvo, com um efeito antigametocítico para reduzir a transmissão. Com o aumento de relatos de malária *falciparum* multirresistente e com os esquemas complexos e variáveis sugeridos para diferentes áreas, tanto para profilaxia quanto para tratamento, recomenda-se uma revisão das recomendações dos Centers for Disease Control and Prevention (CDC) (<http://wwwnc.cdc.gov/travel/>).

BABESIA MICROTI (ESPOROZOÁRIO DO SANGUE)

As espécies de *Babesia* infectam as células vermelhas do sangue e são parasitos animais disseminados que causam icterícia infecciosa em cães e a febre do gado do Texas (febre da água

vermelha). A babesiose, uma infecção transmitida por carrapato, é causada nos EUA por *Babesia microti*. É considerada uma doença infecciosa emergente em seres humanos e o número de casos está aumentando — mais de 300 casos em Massachusetts com foco primário em Nantucket Island. A maioria das infecções em pacientes imunocompetentes é assintomática, mas nas pessoas afetadas a doença desenvolve-se em 7 a 10 dias após a picada do carrapato e caracteriza-se por mal-estar, anorexia, náuseas, fadiga, febre, mialgia, artralgia e depressão. A babesiose humana é mais grave em idosos do que em jovens, em pacientes esplenectomizados e em pacientes com Aids. A babesiose nesses indivíduos pode assemelhar-se à malária *falci-parum*, com febre alta, anemia hemolítica, hemoglobinúria, icterícia e falência renal; as infecções, às vezes, são fatais. *Babesia* pode ser confundida em seres humanos com *P. falciparum* em virtude de sua forma de anel em hemácias, e a presença de uma forma semelhante a uma “cruz-de-malta” na hemácia sem pigmento ou gametócitos é diagnóstica.

TOXOPLASMA GONDII (ESPOROZOÁRIO DE TECIDO)

Microrganismo

Toxoplasma gondii pertence ao grupo de esporozoários e tem distribuição mundial, infectando uma ampla variedade de animais e aves. Os hospedeiros finais normais são estritamente os gatos e membros da família Felidae. Estes são os únicos hospedeiros nos quais o estágio sexuado de produção de oocistos de *Toxoplasma* pode se desenvolver.

Os microrganismos (tanto os esporozoítos de oocistos quanto bradizoítos de cistos teciduais) invadem as células da mucosa do intestino delgado do gato, onde formam os esquizontes ou gametócitos. Após a fusão dos gametas sexuais, os oocistos desenvolvem-se, saindo da célula hospedeira para o lúmen intestinal do gato, passando para o exterior por meio das fezes. Em cerca de 48 h, os oocistos infectantes estão resistentes ao ambiente. Quando os oocistos são ingeridos pelo gato, os parasitos repetem seus ciclos assexuado e sexuado. Se os oocistos forem ingeridos por hospedeiros intermediários, como certas aves, roedores e mamíferos, inclusive os seres humanos, os parasitos podem estabelecer uma infecção, mas só se reproduzem assexuadamente. Neste último caso, o oocisto se abre no duodeno (humano ou animal) e libera os esporozoítos, que passam através da parede intestinal, circulam pelo corpo, invadindo várias células, especialmente macrófagos, onde formam os trofozoítos, que se multiplicam e se rompem, espalhando a infecção para os linfonodos e outros órgãos. Essas células em forma decrescente que se multiplicam rapidamente (**taquizoítos**) iniciam o estágio agudo da doença. Posteriormente, penetram nas células nervosas, especialmente as do cérebro e dos olhos, onde se multiplicam lentamente (como bradizoítos) para formar cistos teciduais de repouso, iniciando o estágio crônico da doença. Os cistos de tecido (anteriormente chamados pseudocistos) são infectantes quando ingeridos por gatos (resultando no estágio sexuado no intestino com produção de

oocistos); quando são ingeridos por outros animais, mais cistos teciduais são produzidos (assexuadamente).

Patologia e patogênese

Em seres humanos, o microrganismo produz toxoplasmose congênita ou pós-natal. A infecção congênita, que se desenvolve apenas quando as mães não imunes são infectadas durante a gravidez, é geralmente de grande gravidade; a toxoplasmose pós-natal geralmente é muito menos grave. A maioria das infecções humanas é assintomática. No entanto, infecções fatais fulminantes podem ocorrer em pacientes com Aids, presumivelmente por alteração de uma infecção crônica para aguda. Diferentes graus da doença podem ocorrer em indivíduos imunossuprimidos, resultando em retinite ou coriorretinite, encefalite, pneumonite ou várias outras condições.

O taquizoíto destrói diretamente as células e tem predileção pelas células do parênquima e do sistema reticuloendotelial. Os seres humanos são relativamente resistentes, mas uma infecção branda dos linfonodos, semelhante à mononucleose infecciosa, pode ocorrer. Quando um cisto de tecido se rompe, liberando numerosos bradizoítos, uma reação de hipersensibilidade local pode provocar inflamação, obstrução dos vasos sanguíneos e morte celular perto do cisto danificado.

A infecção congênita leva a natimortos, coriorretinite, calcificações intracerebrais, distúrbios psicomotores e hidrocefalia ou microcefalia. Nesses casos, a mãe foi infectada pela primeira vez durante a gravidez. A toxoplasmose pré-natal é uma das principais causas de cegueira e outros defeitos congênitos. A infecção durante o primeiro trimestre geralmente resulta em morte fetal ou grandes anomalias do SNC. As infecções no segundo e no terceiro trimestres podem provocar danos neurológicos menos graves, embora sejam muito mais comuns. As manifestações clínicas dessas infecções podem ser postergadas até o nascimento, e, às vezes, até a infância. Os problemas neurológicos ou dificuldades de aprendizagem podem ser causados pelos efeitos longamente postergados de toxoplasmose pré-natal tardia.

Epidemiologia

Sem dúvida, é importante, no controle, evitar o contato humano com fezes de gato, especialmente para mulheres grávidas com testes sorológicos de resultados negativos. Uma vez que os oocistos geralmente levam 48 h para se tornar infectantes, a troca diária do leito de gatos (e sua eliminação com segurança) pode impedir a transmissão. No entanto, as mulheres grávidas devem evitar qualquer contato com os gatos, especialmente filhotes. Uma fonte de exposição humana igualmente importante é a carne crua ou malcozida, na qual cistos infectantes do tecido são frequentemente encontrados. Os seres humanos (e outros mamíferos) podem ser infectados seja a partir de oocistos em fezes de gato ou de cistos teciduais em carne malcozida. O congelamento da carne a -20°C por 48 h ou aquecimento a 50°C por 4 a 6 min proporcionam a esterilização. A limpeza da cozinha, lavar as mãos após contato com carne crua, e a ausência de gatos são essenciais durante a gravidez. O rastreamento sorológico periódico para anticorpos IgG e IgM para

Toxoplasma é recomendado. Ver Cook e Zumk (2003) e Guerrant et al. (2006) para informações adicionais.

MICROSPORÍDEOS

Os **microsporídeos** são um conjunto único de parasitos intracelulares caracterizados por um esporo unicelular que contém uma espécie de mola espiral com filamentos tubulares polares através da qual o esporoplasma é forçosamente descarregado em uma célula hospedeira. A identificação de espécies e gêneros é baseada em microscopia eletrônica para visualização da morfologia do esporo, dos núcleos e do filamento polar enrolado. A coloração tricrômica de azul modificada pode detectar microsporídeos em amostras de urina, fezes e secreção nasofaríngea. Todas as classes de vertebrados (especialmente peixes) e muitos grupos de invertebrados (especialmente insetos) são infectados em praticamente todos os tecidos.

A transmissão se dá principalmente por ingestão de esporos nos alimentos ou na água. A transmissão transplacentária é comum. Poucos casos eram conhecidos entre os seres humanos até que infecções sistêmicas, intestinais e oftalmológicas foram observadas em pacientes com Aids. Hoje, os microsporídeos são cada vez mais reconhecidos como um grupo de parasitos oportunistas, provavelmente disseminados, abundantes e não patogênicos em pessoas imunologicamente intactas, mas uma contínua ameaça para as imunocomprometidas. Às vezes ocorrem juntamente com *Cryptosporidium* em pacientes com Aids.

Entre os indivíduos imunodeprimidos (principalmente pacientes com Aids) foram encontradas as infecções por microsporídeos (Guerrant et al. 2006). Infecções oculares: *Encephalitozoon hellum*, *Vittaforma corneae* (*Nosema corneum*) e *Nosema ocularum*. Infecções intestinais: *Enterocytozoon bienersi* e *Encephalitozoon intestinalis*. Não existe tratamento para infecções com *Encephalitozoon hellum*, *Encephalitozoon cuniculi*, espécies de *Pleistophora*, *Bracheola vesicularum*, *B. (Nosema) algerae*, *B. (Nosema) connori* ou *Trachipleistophora hominis*, que ocorrem principalmente em pacientes com Aids.

INFECÇÕES INTESTINAIS POR HELMINTOS

Os principais conceitos relacionados com helmintos parasitos e helmintos incluídos neste capítulo estão listados nos Quadros 46.6 e 46.7. Uma sinopse das infecções por helmintos é dada no Quadro 46.8.

Estima-se que 1,5 bilhão de pessoas estejam infectadas com *Ascaris lumbricoides*, a principal lombriga de seres humanos; 1,3 bilhão de pessoas estão infectadas com ancilostomídeos (*Ancylostoma duodenale* ou *Necator americanus*); e 800 milhões estão infectados com *Trichuris* (*Trichuris trichiura*) (website dos CDC, www.cdc.gov/ncidod/dpd, "Parasitic Diseases" (Doenças Parasitárias)).

A maioria das infecções intestinais por helmintos é relativamente benigna, exceto quando a carga de vermes é alta e o número de vermes adultos no intestino chega a centenas. Em infecções por vermes intestinais, o intestino geralmente abriga

QUADRO 46.6 Conceitos-chave: helmintos parasitos

Os helmintos parasitos abordados neste capítulo estão agrupados em nematódeos, trematódeos e cestódeos
A maioria das infecções é adquirida pela ingestão de ovos ou estágio larval, com exceção dos ancilostomídeos, oxiúros humanos, esquistossomas, cujas larvas penetram na pele, e as filárias, que são transmitidas por vetores
De modo geral, a maioria das infecções intestinais por nematódeos e cestódeos envolve os estágios adultos e não é muito patogênica, exceto quando existe um grande número de vermes. A maioria dessas patologias está associada ao estágio larval (p. ex., microfírias e triquinias no caso de nematódeos; e cisticercos e cistos hidáticos no caso de cestódeos)
Nas infecções por trematódeos, a patologia geralmente está associada ao estágio adulto, uma vez que os vermes adultos são encontrados em tecidos humanos — por exemplo, trematódeos hepáticos e pulmonares (o estágio larval ocorre no hospedeiro animal ou em outras fontes)
A eosinofilia é o ponto cardinal de uma infecção de tecidos por vermes parasitos
As características patológicas dos nematódeos que infectam tecidos estão intrinsecamente associadas à resposta do hospedeiro. A elefantíase, um alargamento e crescimento mórbido das pernas, dos seios e da genitália, é uma resposta imunopatológica à infecção de longa duração por <i>Wuchereria</i> ou <i>Brugia</i>
A maioria dos helmintos não se reproduz por multiplicação assexuada no hospedeiro humano: um ovo ou uma larva produz um verme. A exceção é <i>Echinococcus granulosus</i> , que se multiplica assexuadamente dentro de cistos hidáticos
O único helminto intracelular é a <i>Trichinella</i> , cujo estágio larval é intracelular no interior das células musculares (conhecida como <i>nursecell</i>)
A maioria dos vermes que habitam o lúmen intestinal é de fácil tratamento, enquanto vermes que habitam tecidos são mais difíceis de tratar com fármacos
A gravidade da doença e os sintomas causados pelas infecções por helmintos geralmente estão associados a cargas elevadas de vermes (p. ex., ancilostomíase e anemia)
Larva <i>migrans</i> é uma denominação empregada quando o estágio larval de um nematódeo que normalmente infecta um hospedeiro animal migra por tecidos humanos (p. ex., pele, vísceras e sistema nervoso central). Uma forte resposta imunológica é desencadeada pelo verme migrante e induz a patologia. A larva <i>migrans</i> está associada a infecções zoonóticas, nas quais os animais são o hospedeiro normal e os seres humanos são acidentalmente infectados
A combinação de baixo saneamento, condutas humanas e climas tropicais levam a uma alta prevalência de infecção por nematódeos "do solo" (<i>Ascaris</i> , ancilostomídeos)

o estágio adulto do parasito, exceto para *Strongyloides*, *Trichinella* e *Taenia solium*, que não só residem no intestino como adultos como também possuem larvas capazes de migrar por todos os tecidos.

A maioria das infecções por nematódeos é adquirida por via orofecal, e os comportamentos humanos e a falta de saneamento e de higiene contribuem para a transmissão. No caso das três infecções intestinais mais comuns (vermes em chicote, ancilostomíase e ascaridíase), os ovos necessitam de incubação no solo por alguns dias ou semanas nos climas quentes e tropicais.

QUADRO 46.7 Helmintos parasitos**Infecções intestinais por helmintos**

Nematódeos

Enterobius vermicularis (oxiúro)*Trichuris trichiura* (tricocéfaló)*Ascaris lumbricoides* (verme cilíndrico humano)*Ancylostoma duodenale* e *Necator americanus* (ancilostomídeos humanos)*Strongyloides stercoralis* (oxiúro humano)*Trichinella spiralis*

Trematódeos

Fasciolopsis buski (trematódeo intestinal gigante)

Cestódeos

Taenia saginata (tênia do boi)*Taenia solium* (tênia do porco)*Diphyllobothrium latum* (tênia do peixe)*Hymenolepis nana* (tênia anã)*Dipylidium caninum* (tênia do cão)**Infecções helmínticas do sangue e dos tecidos**

Nematódeos

Wuchereria bancrofti (filariose linfática)*Brugia malayi* (filariose linfática)*Onchocerca volvulus* (cegueira do rio)*Dracunculus medinensis* (verme da Guiné)*Ancylostoma duodenale* e *Necator americanus* (grande prurido — ver Infecções intestinais por helmintos)*Strongyloides stercoralis* (larva *currentis* — ver Infecções intestinais por helmintos)*Trichinella spiralis* (triquinelose da larva — ver Infecções intestinais por helmintos)Larva *migrans* (Infecções zoonóticas por larvas de nematódeos)*Ancylostoma caninum* (ancilostomídeo do cão)*Anisakis simplex* (verme de peixe)*Toxocara canis* (tênia do cão)*Baylisascaris procyonis* (verme cilíndrico do guaxinim)

Trematódeos

Fasciola hepatica (trematódeo de fígado de carneiro)*Clonorchis sinensis* (trematódeo hepático chinês)*Paragonimus westermani* (trematódeo do pulmão)*Schistosoma mansoni*, *Schistosoma japonicum*, *Schistosoma haematobium* (trematódeos do sangue)

Cestódeos (infecções causadas pelos estágios larvais)

Taenia solium (cisticercose/neurocisticercose — ver Infecções intestinais por helmintos)*Echinococcus granulosus* (cisto hidático)

Hábitos alimentares de comer alimentos crus ou levemente cozidos contribuem para a maior parte das infecções por trematódeos e cestódeos. Essas infecções podem ser adquiridas pela ingestão de hospedeiros intermediários malcozidos, inclusive legumes, peixe, carne bovina e carne de porco. O cozimento completo e o congelamento matam os parasitos, evitando assim infecções de origem alimentar. Certos comportamentos humanos e a estreita associação com animais de estimação também são fatores que contribuem para a infecção por *Dipylidium caninum* e *Echinococcus granulosus*.

ENTEROBIUSVERMICULARIS(NEMATÓDEO INTESTINAL)**Microrganismo**

As fêmeas de **enteróbios** (cerca de 10 mm de comprimento) possuem uma região delgada direcionada para a extremidade

posterior. Os machos têm cerca de 3 mm de comprimento, e apresentam uma extremidade curva posterior (Fig. 46.12A e B). Os enteróbios são encontrados em todo o mundo, mas, sobretudo, em regiões de clima temperado do que em climas tropicais. São os helmintos mais comuns nos EUA e infectam principalmente crianças.

Patologia e patogênese

O principal sintoma associado a infecções por enteróbios é prurido anal, principalmente à noite, causado por uma reação de hipersensibilidade aos ovos que são depositados ao redor da região perianal por vermes fêmeas, que migram para a região inferior do colo à noite. Coçar a região anal promove a transmissão, uma vez que os ovos são altamente infecciosos horas após terem sido depositados (transmissão mão-boca). Ocorrem irritabilidade e fadiga pela perda do sono, mas a infecção é relativamente benigna.

Os ovos são obtidos por meio da técnica da fita adesiva pela manhã, antes da evacuação. A fita transparente é aplicada diretamente na região perianal, e em seguida colocada sobre uma lâmina de microscópio para ser examinada. Os ovos, em forma de bola de futebol americano, apresentam uma casca fina e têm aproximadamente 50 a 60 µm de comprimento (Fig. 46.12C). As larvas infecciosas às vezes são visíveis no interior do ovo. Os pequenos vermes adultos podem ser vistos no exame parasitológico de fezes O e P (ovos e parasitos). Por serem os ovos muito leves e altamente contagiosos, é importante que toalhas de uso pessoal e roupa de cama sejam lavadas em água quente, para evitar reinfecção.

TRICHURIS TRICHIURA (VERME EM FORMA DE CHICOTE, NEMATÓDEO INTESTINAL)**Microrganismo**

As fêmeas adultas têm aproximadamente 30 a 50 mm de comprimento; os machos adultos são menores (Fig. 46.13A e B). A extremidade anterior dos vermes é fina, e a posterior mais espessa, dando-lhe um aspecto de “chicote”, daí o nome *Trichuris*. Os vermes adultos habitam o colo, onde machos e fêmeas se acasalam. As fêmeas liberam os ovos (Fig. 46.13C) nas fezes, e os ovos se tornam infectantes após cerca de 3 semanas de incubação em solos úmidos e umbrosos. O homem adquire a infecção pela ingestão de alimentos contaminados com os ovos infectantes. Uma vez que os ovos são ingeridos, as larvas eclodem no intestino delgado, onde amadurecem e migram para o colo.

Patologia e patogênese

As extremidades anteriores dos vermes alojam-se no interior da mucosa intestinal, causando pequenas hemorragias com a destruição das células da mucosa e infiltração de eosinófilos, linfócitos e células plasmáticas. As infecções com uma baixa carga parasitária geralmente são assintomáticas, mas as infecções de cargas moderada e pesada apresentam dor abdominal, distensão e diarreia. A infecção grave pode levar a diarreia profusa, sanguinolenta, cólicas, tenesmo e prolapso

QUADRO 46.8 Sinopse das infecções por helmintos por sistema orgânico

Parasito/Doença	Local da infecção	Mecanismo da infecção	Diagnóstico	Tratamento	Área geográfica
Nematódeos intestinais					
<i>Enterobius vermicularis</i> Oxiúro	Lúmen do ceco, colo	Ingestão de ovos; autocontaminação por via oroanal	Teste da fita adesiva; microscopia para os ovos	Pamoato de pirantel, mebendazol	Mundial, áreas temperadas
<i>Trichuris trichiura</i> Tricocéfalo	Ceco, colo	Ingestão de ovos do solo ou alimentos contaminados com fezes	Exame de fezes para O e P (ovos)	Mebendazol, albendazol	Mundial, muito comum
<i>Ascaris lumbricoides</i> Ascariíase, verme cilíndrico comum	Intestino delgado; larvas através dos pulmões	Ingestão de ovos do solo ou alimentos contaminados com fezes	Exame de fezes para O e P (ovos)	Albendazol, mebendazol	Mundial, muito comum
<i>Ancylostoma duodenale</i> , <i>Necator americanus</i> Ancilostomídeos humanos	Intestino delgado; larvas através da pele, pulmões	Larvas no solo penetram através da pele	Exame de fezes para O e P (ovos)	Albendazol, mebendazol	Mundial, trópicos
<i>Strongyloides stercoralis</i> Estrongiloidíase, oxiúro humano	Intestino delgado, larvas através da pele, pulmões	Larvas no solo penetram a pele e (raramente) autorreinfecção interna	Exame de fezes, escarro, lavado brônquico para O e P (larvas)	Ivermectina, albendazol	Mundial, trópicos e subtrópicos
<i>Trichinella spiralis</i> Triquinelose	Adultos no intestino delgado por 1 a 4 meses; larvas encistadas no tecido muscular	Ingestão de carne infectada malcozida de porco ou outro animal	Sorologia e músculo (larvas)	Albendazol (mais esteroides para sintomas graves)	Mundial
Trematódeo intestinal					
<i>Fasciolopsis buski</i> Trematódeo intestinal gigante	Intestino delgado	Ingestão de metacercárias encistadas na vegetação aquática	Exame de fezes para O e P (ovos)	Praziquantel	Leste e Sudeste da Ásia
Cestódeos intestinais					
<i>Taenia saginata</i> Tênia do boi	Intestino delgado	Ingestão de cisticercos encistados em carne malcozida	Exame de fezes para O e P (segmentos de tênia)	Praziquantel	África, México, EUA, Argentina, Europa, lugares onde se come carne bovina
<i>Taenia solium</i> Tênia do porco (ver também Cisticercose)	Intestino delgado	Ingestão de cisticercos encistados em carne de porco malcozida	Exame de fezes para O e P (segmentos de tênia)	Praziquantel	Mundial, onde se come carne de porco, especialmente México, Américas Central e do Sul, Filipinas, Sudeste Asiático
<i>Diphyllobothrium latum</i> Tênia do peixe	Intestino delgado	Ingestão de larvas encistadas em carne de peixe malcozida	Exame de fezes para O e P (ovos, segmentos de tênia)	Praziquantel	Mundial, onde se come peixe cru

(continua)

QUADRO 46.8 Sinopse das infecções por helmintos por sistema orgânico (continuação)

Parasito/Doença	Local da infecção	Mecanismo da infecção	Diagnóstico	Tratamento	Área geográfica
<i>Hymenolepis nana</i> Tênia anã	Intestino delgado	Ingestão de ovos de fezes ou água contaminadas; autoinfecção pela rota orofecal	Exame de fezes para O e P (ovos, segmentos de tênia)	Praziquantel	Mundial
<i>Dipylidium caninum</i> Tênia do cão	Intestino delgado	Ingestão de larvas em pulgas	Exame de fezes para O e P (segmentos de tênia)	Praziquantel	Mundial
Infecções de tecidos por nematódeos					
<i>Wucheria bancrofti</i> , <i>Brugia malayi</i> Filariase	Vermes adultos em linfonodos e dutos linfáticos	Picada de mosquito transmite as larvas	Esfregaço de sangue para microfilárias	Dietilcarbamazina	Trópicos e subtropicais, África Subsaariana, Sudeste da Ásia, Pacífico Ocidental, Índia, América do Sul, Caribe
<i>Onchocerca volvulus</i> Oncocercíase Cegueira dos rios africana	Nódulos na pele em adultos	Picada da mosca negra transmite as larvas	Cortes na pele para microfilárias; nódulos subcutâneos	Ivermectina	África tropical, América Central
<i>Dracunculus medinensis</i> Verme-da-guiné	Em adultos, na região subcutânea das pernas, tornozelos e pés	Ingestão de água contaminada com copédodes infectados	Verme em bolhas na pele	Remoção lenta do verme com auxílio de um bastão; remoção cirúrgica; tratamento da ferida	Quase erradicada com exceção de poucos países da África Subsaariana
<i>Ancylostoma duodenale</i> , <i>Necator americanus</i> , <i>Trichinella spiralis</i> , <i>Strongyloides stercoralis</i> Nematódeo de larva migrans	Ver nematódeos intestinais				
<i>Ancylostoma caninum</i> e outros vermes domésticos Erupção deslizando, LMC	Larva de migração subcutânea	Contato com solo contaminado por fezes de cães ou gatos	Exame físico e histórico	Albendazol, ivermectina, tiabendazol tópico	Tropical e subtropical, muito local mas disseminada
<i>Anisakis simplex</i> Anisaquíase (VLM)	Gastrointestinal — larvas no estômago ou na parede intestinal, raramente penetram as vísceras	Ingestão da larva em peixe cru ou malcozido	Endoscopia, radiologia, eosinofilia	Remoção cirúrgica ou endoscópica do verme	Bacia do Pacífico (Japão, Califórnia, Havai), países escandinavos onde as pessoas comem peixe

QUADRO 46.8 Sinopse das infecções por helmintos por sistema orgânico (continuação)

Parasito/Doença	Local da infecção	Mecanismo da infecção	Diagnóstico	Tratamento	Área geográfica
Espécies de <i>Toxocara</i> Vermes cilíndricos de cães e gatos (VLM, OLM, NLM)	As larvas migram para as vísceras, fígado, pulmão, olhos e cérebro	Ingestão de ovos em solo contaminado por fezes de cães ou gatos	Sorologia; eosinofilia	Albendazol, mebendazol	Mundial, áreas onde cães e gatos defecam
<i>Baylisascaris procyonis</i> Verme cilíndrico do guaxinim (VLM, OLM, NLM)	Vísceras, sistema nervoso central — larvas migram para os olhos e cérebro	Ingestão de ovos das fezes de guaxinim	Sorologia (KR Kazacos, Dept Vet Med, Purdue Univ), eosinofilia, neuroimagem	Albendazol, mebendazol, corticosteroides	América do Norte, áreas onde os guaxinins defecam (latrinas de guaxinins)
Parasito/Doença	Local da infecção	Mecanismo da infecção	Diagnóstico	Tratamento	Área geográfica
Infecções em tecidos por trematódeos					
<i>Fasciola hepatica</i> Fasciolíase Trematódeo do fígado de ovelhas	Vermes adultos no fígado (ducto biliar, após migração através do parênquima)	Ingestão de metacercárias no agrião e plantas aquáticas	Exame de fezes para O e P (ovos)	Triclabendazol, bitionol	Mundial, especialmente em áreas de criação de ovelhas
<i>Clonorchis sinensis</i> Clonorquíase Trematódeo hepático chinês	Vermes adultos no fígado (dutos biliares)	Ingestão de metacercárias em peixe cru ou malcozido	Exame de fezes para O e P (ovos)	Praziquantel	China, Coreia, Indochina, Japão e Taiwan
<i>Paragonimus westermani</i> Paragonimíase Trematódeo de pulmão	Vermes adultos nos pulmões	Ingestão de metacercárias em caranguejos e outros crustáceos	Exame de fezes para O e P, escarro, lavado brônquico (ovos)	Praziquantel	Ásia Central, Américas do Norte e do Sul, África
<i>Schistosoma mansoni</i> Bilharzia, trematódeo do sangue, esquistossoma	Adultos em vasos venosos do intestino grosso, fígado	Cercárias (larvas) penetram pela pele em águas infestadas por caracóis infectados	Exame de fezes para O e P (ovos)	Praziquantel	Da África ao Oriente Próximo, trópicos e subtropicais, América do Sul e Caribe
<i>Schistosoma japonicum</i>	Adultos em vasos venosos do intestino delgado, fígado	Cercárias (larvas) penetram pela pele em águas infestadas por caracóis infectados	Exame de fezes para O e P (ovos)	Praziquantel	China, Filipinas, Japão
<i>Schistosoma haematobium</i>	Adultos em vasos venosos da bexiga	Cercárias (larvas) penetram pela pele em águas infestadas por caracóis infectados	Urina para O e P (ovos)	Praziquantel	África, amplamente; Madagascar; Oriente Médio
Infecções de tecidos por cestódeos					
<i>Taenia solium</i> (larval) Cisticercose Neurocisticercose (envolvimento do SNC)	Cisticercos na pele, fígado, pulmões, rins, músculos, olhos, cérebro	Ingestão de ovos via rota orofecal	Tomografias, RM, radiografias, sorologia	Excisão cirúrgica, albendazol, praziquantel	Mundial, especialmente em áreas de criação de porcos
<i>Echinococcus granulosus</i> (larval) Hidatidose, cisto hidático unilocular	Cisto hidático no fígado, baço, pulmões, peritônio e cérebro	Contato com cães, raposas e outros canídeos; ovos nas fezes	Tomografias, RM, radiografias, sorologia	Albendazol, remoção cirúrgica	Mundial, especialmente em lugares de criação de ovelhas

LMC, larva *migrans* cutânea; SNC, sistema nervoso central; RM, ressonância magnética; NLM, larva *migrans* neural; O e P, ovos e parasitos; OLM, larva *migrans* ocular; VLM larva *migrans* visceral.



FIGURA 46.12 *Enterobius vermicularis*. (A) Fêmea adulta (10 mm de comprimento). (B) Macho adulto (3 mm de comprimento). (C) Teste da fita adesiva revela um ovo (50 a 60 μm de comprimento) com uma larva infecciosa em seu interior. (Usada, com autorização, de Sullivan J., *A Color Atlas of Parasitology*, 8th ed., 2009.)

retal. Os vermes ocasionalmente podem migrar para o apêndice, causando apendicite.

ASCARIS LUMBRICOIDES, VERMECILÍNDRICO HUMANO, NEMATÓDEO INTESTINAL

Microrganismo

Ascaris adultos são grandes: as fêmeas medem 20 a 50 cm, e os machos, 15 a 30 cm de comprimento (Fig. 46.14). O homem adquire a infecção após ingestão dos ovos, as larvas alcançam o duodeno, penetram através da mucosa, migram para o sistema circulatório, alojando-se nos capilares pulmonares, penetram nos alvéolos e migram dos bronquíolos para a traqueia e faringe; as larvas são deglutidas e retornam ao intestino e maturam,

tornando-se vermes adultos. Após acasalamento, as fêmeas podem eliminar 200.000 ovos por dia, que são lançados nas fezes. Os ovos são infectantes após cerca de 1 mês no solo e são infecciosos por vários meses (Fig. 46.14B).

Patologia e patogênese

Se estiverem presentes em número elevado, os vermes adultos podem provocar obstrução mecânica do intestino e dos canais biliares e pancreáticos. Os vermes tendem a migrar, se forem administrados fármacos como anestésicos ou esteroides, levando a perfuração intestinal e peritonite, passagem dos vermes pelo ânus, vômitos e dor abdominal. A migração das larvas através dos pulmões induz uma resposta inflamatória (pneumonite), especialmente após uma segunda infecção, levando a broncospasmo, produção de muco e síndrome de Löeffler (tosse, eosinofilia e infiltrados pulmonares).



FIGURA 46.13 *Trichuris trichiura*. (A) Fêmea adulta (30 a 50 mm de comprimento). (B) Macho adulto (30 a 45 mm). (C) Ovos (50 μm) com plugs polares distintos. (Usada, com autorização, de Sullivan J., *A Color Atlas of Parasitology*, 8th ed., 2009.)

ANCYLOSTOMA DUODENALE E NECATOR AMERICANUS (ANCILOSTOMÍDEOS HUMANOS — NEMATÓDEOS INTESTINAIS)

Microrganismo

As fêmeas de **ancilostomídeos** têm aproximadamente 10 mm de comprimento; os machos são um pouco menores e são dotados de uma bolsa copulatória característica (região posterior terminal alargada), que é usada para copular com a fêmea. As fêmeas podem liberar mais de 10.000 ovos por dia nas fezes, onde a larva nasce a partir do ovo dentro de um ou dois dias (Fig. 46.15A). As larvas podem sobreviver em solo úmido por algumas semanas, à espera de alguém descalço que passe pelo local em que ela se encontra. Essas larvas penetram na pele

do hospedeiro e migram de maneira semelhante à do *Ascaris* para a parte final do intestino delgado, onde amadurecem e transformam-se em vermes adultos.

Patologia e patogênese

No intestino, os vermes adultos aderem às vilosidades intestinais com seus dentes bucais (Fig. 46.15B) e se alimentam de sangue e tecidos com o auxílio de anticoagulantes (Harrison *et al.*, 2002). Algumas centenas de vermes presentes no intestino podem causar ancilostomíase, que se caracteriza por anemia ferropriva grave. Os sintomas intestinais também incluem desconforto abdominal e diarreia. A infecção cutânea inicial pela larva provoca uma condição conhecida como “coceira do chão”, caracterizada por eritema e prurido intenso. Os pés e os tornozelos são locais comuns de infecção devido à exposição pelo hábito de andar descalço.



FIGURA 46.14 *Ascaris lumbricoides*. (A) As fêmeas adultas são maiores que os machos adultos (comprimento da régua = 16 cm). (B) Um ovo de *Ascaris* (55 a 75 μm) com protuberâncias características (mamilados). (Usada, com autorização, de Sullivan J., *A Color Atlas of Parasitology*, 8th ed., 2009.)



FIGURA 46.15 *Ancylostoma duodenale*. (A) Verme adulto com dois pares de dentes na cápsula bucal. (B) Ovo de película fina (60 a 75 μm) na clivagem inicial de um teste de ovos e parasito. (Usada, com autorização, de Sullivan J., *A Color Atlas of Parasitology*, 8th ed., 2009.)

STRONGYLOIDES STERCORALIS (OXIÚRO HUMANO — NEMATÓDEO INTESTINAL E DE TECIDO)

Microrganismo

As fêmeas adultas (cerca de 2 mm de comprimento) de *Strongyloides stercoralis* que habitam o intestino são partenogênicas; ou seja, não precisam acasalar com os machos para se reproduzir. Depositam os ovos no intestino; as larvas eclodem dos ovos e passam para as fezes. Essas larvas podem desenvolver-se em formas parasitárias ou em vermes machos e fêmeas de vida livre, que acasalam e produzem várias gerações de vermes no solo; um grande exemplo de adaptação evolutiva para sustentar a população. Em certas condições ambientais, tais como temperatura, as larvas dessas formas de vida livre podem evoluir para formas parasitárias. Assim, *Strongyloides stercoralis* tem uma adaptação evolucionária única, que pode reforçar bastante o seu sucesso reprodutivo.

Patologia e patogênese

De importância clínica, *Strongyloides* pode produzir uma reinfecção interna ou autorreinfeção se larvas recém-eclodidas não saírem do hospedeiro, mas, ao contrário, sofrerem suas mudas dentro do intestino. Essas larvas penetram no intestino, migram através do sistema circulatório, entram nos pulmões (Fig. 46.16) e no coração (similar à migração dos ancilostomídeos ao penetrarem na pele), e desenvolvem-se em fêmeas parasitos no intestino. Esses nematódeos são capazes de manter uma infecção por muitos anos e, em caso de imunossupressão, podem produzir uma hiperinfecção, na qual ocorre uma infecção fulminante e fatal. Em infecções disseminadas, os sintomas e sinais clínicos envolvem principalmente o trato gastrointestinal (diarreia grave, dor abdominal, sangramento gastrointestinal, náuseas e vômitos), os pulmões (tosse, sibilos e hemoptise)



FIGURA 46.16 *Strongyloides stercoralis*, larvas de um lavado broquiolar. (Cortesia de Norman Setijono, UCSF.)

e a pele (exantema, prurido, larva *currens*). As larvas que migram do intestino levam bactérias entéricas que podem causar infecções locais ou sepsse, resultando em morte.

TRICHINELLA SPIRALIS (NEMATÓDEO INTESTINAL E DE TECIDO)

Microrganismo

Trichinella spiralis é adquirida pela ingestão de carne de porco crua ou malcozida, infectada com o estágio larval desses nematódeos. No intestino delgado, as larvas transformam-se em vermes adultos, e depois de acasalarem com os machos, as fêmeas liberam novas larvas. Estas penetram no intestino, circulam pelo sangue e acabam por encistar-se no tecido muscular. As fêmeas dos vermes adultos vivem por algumas semanas, e depois da primeira semana de infecção podem causar diarreia, dor abdominal e náuseas. Os sintomas intestinais são brandos e muitas vezes passam despercebidos.

Patologia e patogênese

Os principais sintomas da triquinelose são causados principalmente por larvas encistadas no tecido muscular (Fig. 46.17). A fase de migração no tecido dura cerca de um mês, com febre alta, tosse e eosinofilia. À medida que as larvas se encistam, ocorrem edema e células inflamatórias (PMN e eosinófilos) infiltram-se nos tecidos. A calcificação, que pode ou não destruir as larvas, ocorre em 5 a 6 meses. Tecidos musculares altamente ativos, tais como o diafragma, músculos da língua, masseter, intercostais e extraoculares, são comumente infectados. Os indivíduos podem sofrer de mialgias e fraqueza, e a eosinofilia pode aumentar nos primeiros seis meses, mas depois diminui.

A triquinelose é uma doença zoonótica; os seres humanos adquirem a infecção ao comerem carne de porco crua ou malcozida (p. ex., linguiça caseira), e são um hospedeiro final para

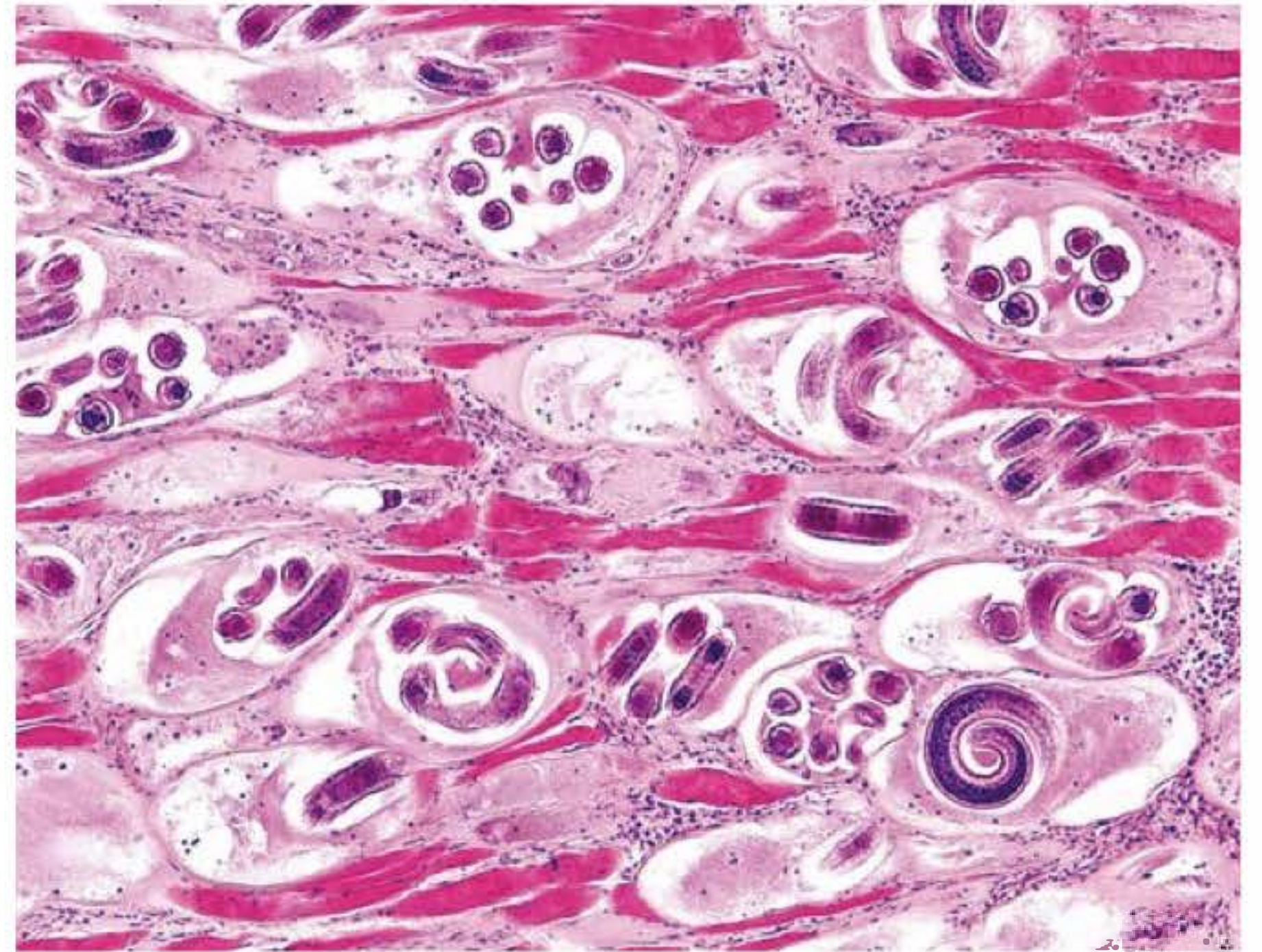


FIGURA 46.17 *Trichinella spiralis*, larvas encistadas no tecido muscular. (Usada, com autorização, de Sullivan J., *A Color Atlas of Parasitology*, 8th ed., 2009.)

essas infecções. O ciclo de vida é mantido em animais selvagens, como javalis e ursos, ou em animais domésticos, onde ocorre a transmissão entre suínos.

FASCIOLOPSIS BUSKI (TREMATÓDEO INTESTINAL GIGANTE — TREMATÓDEO INTESTINAL)

Fasciolopsis buski, o verme gigante do intestino de seres humanos (e suínos), é encontrado na Ásia e tem 20 a 75 mm de comprimento. O estágio de metacercária larval encista na vegetação, como as castanhas-d'água ou *caltrops* vermelho. Estes são ingeridos crus com a vegetação e em seguida saem do cisto e amadurecem no intestino. A maior parte das infecções é leve e assintomática, mas os danos causados pelos grandes vermes são ulceração, abscessos da parede intestinal, diarreia, dor abdominal e obstrução intestinal.

TAENIA SAGINATA (TÊNIA DO BOI — CESTÓDEO INTESTINAL) E TAENIA SOLIUM (TÊNIA DO PORCO — CESTÓDEO INTESTINAL E DE TECIDO)

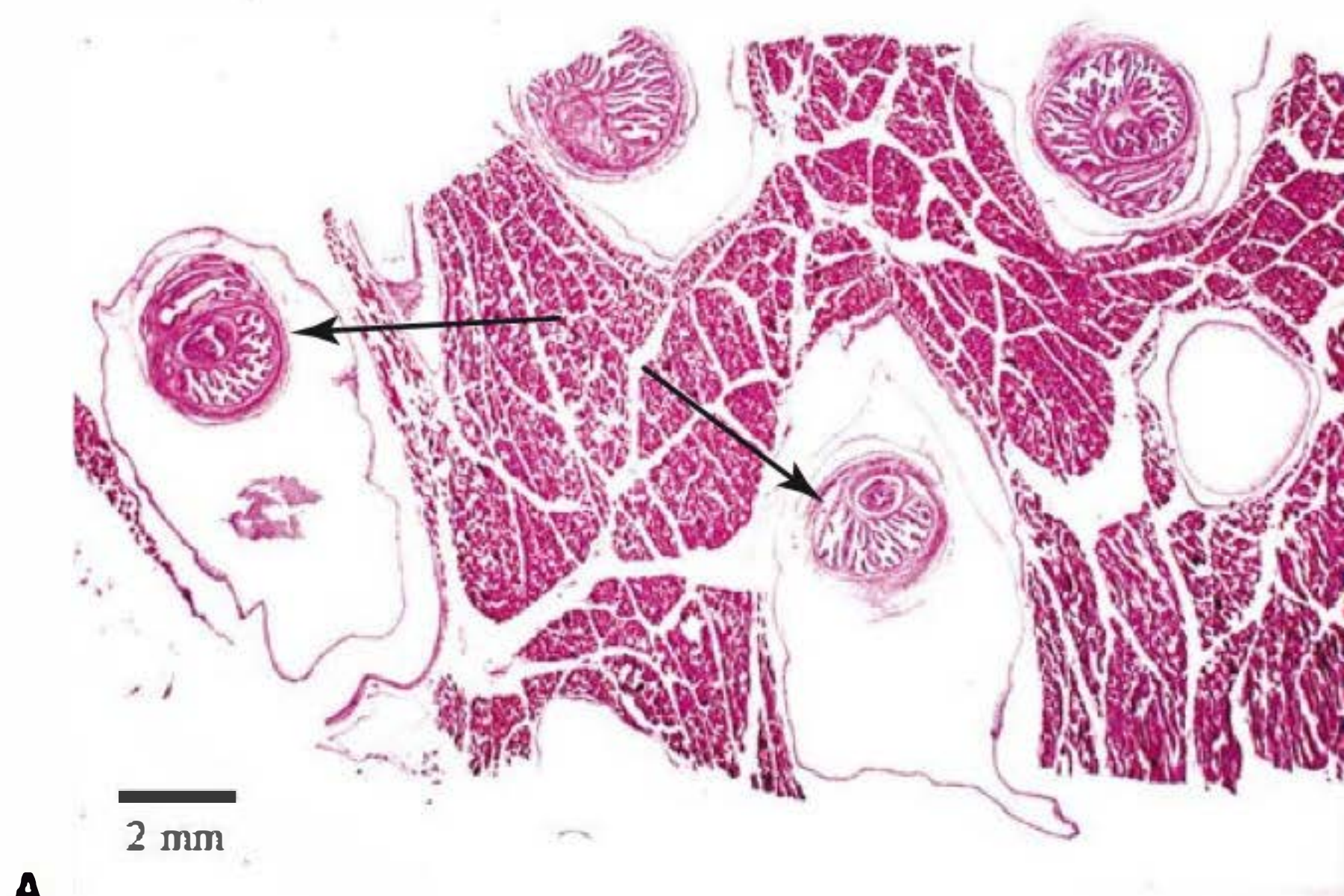
Microrganismos

Se os seres humanos comerem carne bovina ou suína que contenha larvas semelhantes a bexigas, chamadas cisticercos, eles adquirem infecções por *T. saginata* e *T. solium*, respectivamente. Os cisticercos, que têm aproximadamente o tamanho de ervilhas, transformam-se em vermes adultos que podem atingir vários metros de comprimento no intestino. Os vermes adultos geralmente causam poucos problemas, e a maioria é assintomática; os sintomas intestinais leves incluem diarreia e dor abdominal.

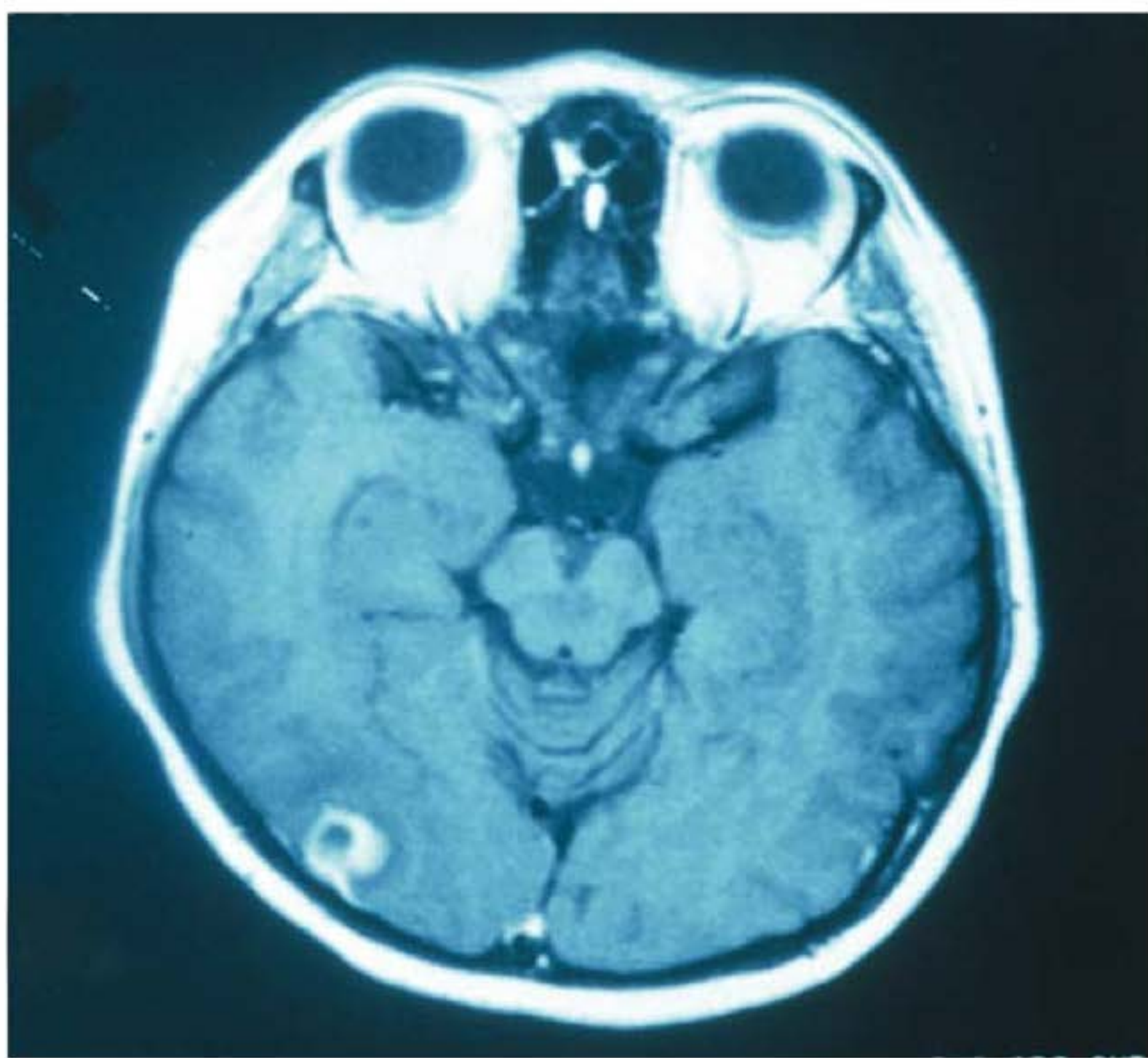
No intestino, os segmentos terminais contendo ovos rompem-se do verme adulto e passam para as fezes. Quando os ovos de fezes humanas são consumidos por gado bovino (*T. saginata*) ou por suínos (*T. solium*), as larvas eclodem dos ovos, migram e encistam como cisticercos em vários tecidos, inclusive no músculo de boi (carne bovina) ou no músculo de suíno (carne de porco). Os seres humanos são infectados quando comem carne crua ou malcozida contendo cisticercos. Estes, então, transformam-se em vermes adultos no intestino humano.

Patologia e patogênese

Uma diferença clinicamente significativa entre *T. saginata* e *T. solium* é que o ser humano pode ser o hospedeiro intermediário de *T. solium*, semelhante ao porco. Logo, se o homem ingerir ovos de *T. solium*, os cisticercos encistam em vários tecidos humanos, inclusive na pele, no músculo (Fig. 46.18A), nos rins, coração, no fígado e no cérebro (Fig. 46.18B). Esta condição em seres humanos é conhecida como cisticercose, e



A



B

FIGURA 46.18 Cisticercose por *Taenia solium*. (A) Diversos cisticercos (formas larvais) encistadas no músculo. (Usada, com autorização, de Sullivan J., *A Color Atlas of Parasitology*, 8th ed., 2009.) (B) Um cisticercos visto em uma ressonância magnética do cérebro. (Cortesia de Pathology, UCSF.)

os sintomas estão associados aos tecidos envolvidos (p. ex., diminuição da acuidade visual, na oftalmocisticercose; na neurocisticercose, os sintomas são dor de cabeça, náuseas, vômitos, distúrbios mentais e convulsões causadas por cisticercos encistados no cérebro). Com a tênia da carne bovina *T. saginata*, os vermes adultos desenvolvem-se apenas em seres humanos e os cisticercos de *T. saginata* não se desenvolvem em seres humanos (apenas no gado ou em outros herbívoros).

DIPHYLLOBOOTHRIUM LATUM (TÊNIA GIGANTE DO PEIXE — CESTÓDEO INTESTINAL)

Microrganismo

Diphyllobothrium latum, a tênia gigante do peixe em seres humanos (e muitos outros animais que se alimentam de peixes), atinge um tamanho enorme, às vezes superior a 10 m de comprimento. Os seres humanos adquirem a infecção quando comem peixe cru ou malcozido que esteja infectado com as larvas conhecidas como plerocercoides, que parecem grãos de arroz branco na carne do peixe. No intestino, o verme cresce rapidamente e desenvolve-se em uma cadeia de segmentos capazes de liberar mais de 1 milhão de ovos por dia.

Patologia e patogênese

As doenças causadas por estes vermes são principalmente vago desconforto abdominal e perda de apetite, levando a perda ponderal. *D. latum* tem uma capacidade incomum de absorver vitamina B₁₂, e entre alguns grupos — especialmente os finlandeses — uma deficiência de vitamina B₁₂ levando a diversos níveis de anemia perniciosa pode, raramente, desenvolver-se.

HYMENOLEPIS NANA (TÊNIA ANÃ — CESTÓDEO INTESTINAL)

Microrganismo

Hymenolepis nana, a tênia anã de seres humanos (e roedores), tem somente 4 cm de comprimento. Encontrada no mundo inteiro, é uma das infecções mais comuns por tênia em seres humanos, devido ao fato de que os ovos podem omitir a fase habitual de desenvolvimento normal em um inseto e infectar diretamente o homem a partir de ovos eliminados em fezes de outros seres humanos (ciclo de vida direto ou abreviado). Alternativamente, se o inseto que abriga a fase larval for comido inadvertidamente, as larvas se desenvolvem em vermes adultos nos seres humanos (ciclo de vida indireto). Os seres humanos podem ser infectados de ambas as maneiras.

Patologia e patogênese

Ocasionalmente, ocorrem infecções maciças, sobretudo em crianças, como resultado de autoinfecção interna quando os ovos eclodem no intestino, sem sair deste. Além dessas circunstâncias de infecção extremamente pesada, a doença causada por esses vermes limita-se a pequenas perturbações intestinais.

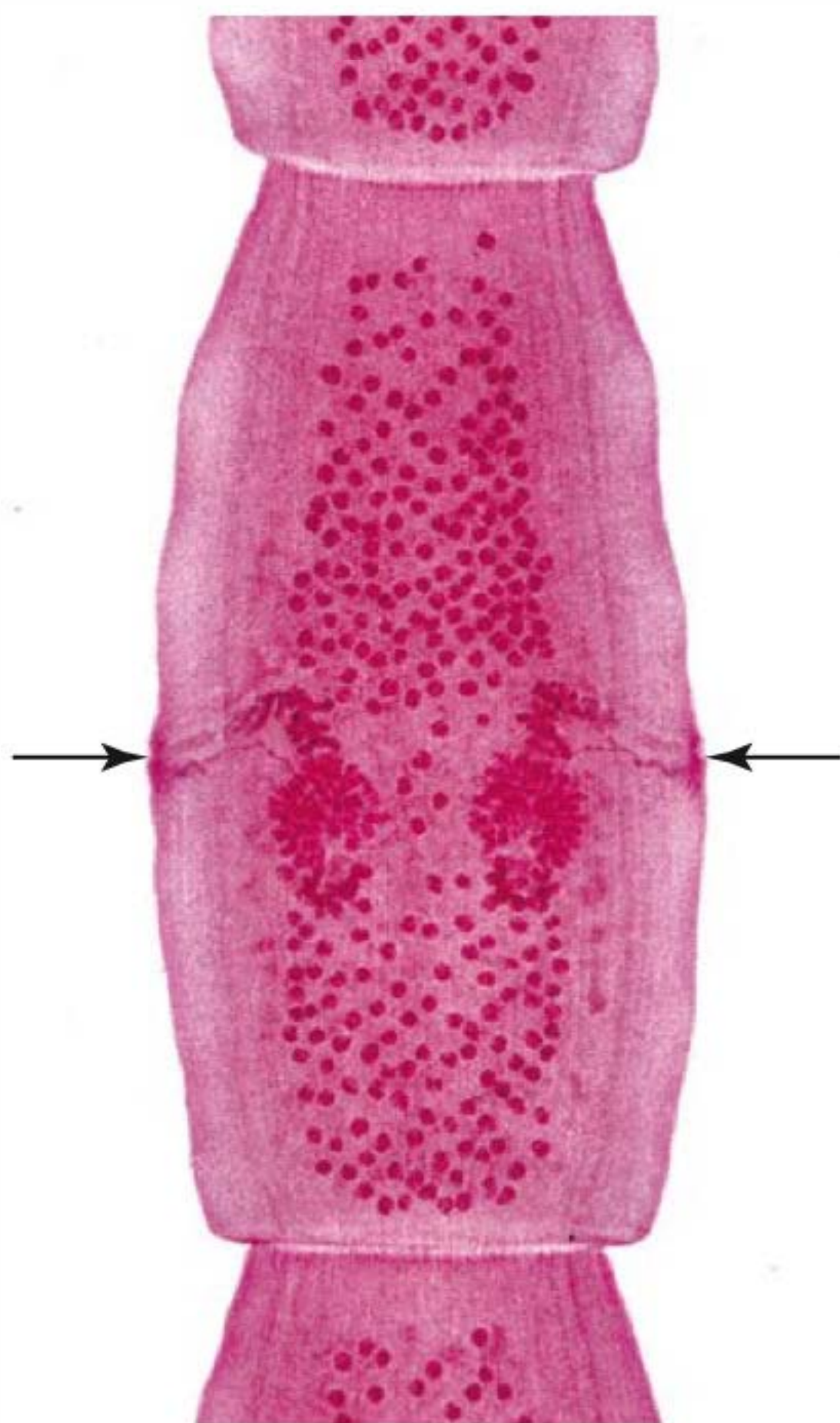


FIGURA 46.19 *Dipylidium caninum*, segmento de verme em forma de fita (23 mm de comprimento x 8 mm de largura), em forma de semente de abóbora e que possui poros genitais característicos (setas) em ambos os lados. (Usada, com autorização, de J. Sullivan, *A Color Atlas of Parasitology*, 8th ed., 2009.)

DIPYLIDIUM CANINUM (TÊNIA DO CÃO — CESTÓDEO INTESTINAL)

Dipylidium caninum é um cestódeo que acomete mais comumente canídeos, felídeos e donos de animais, especialmente crianças. Os vermes adultos habitam o intestino e liberam segmentos característicos de poros duplos contendo aglomerados de ovos nas fezes do hospedeiro (Fig. 46.19). Os ovos são comidos pelas pulgas em fase larval, nas quais o parasito se desenvolve em sua fase larval. As pulgas adultas infectadas que ainda abrigam o parasito são, por sua vez, ingeridas por cães e gatos quando lambem o local em que as pulgas estão picando. Devido à sua estreita associação com seus animais de estimação, o ser humano pode adquirir a infecção, mas é frequentemente assintomático. Em crianças, a infecção pode causar diarreia e inquietação.

INFECÇÕES DO SANGUE E DE TECIDOS POR HELMINTOS

WUCHERERIA BANCROFTI BRUGIA MALAYI (FILARIOSE LINFÁTICA — NEMATÓDEOS DE TECIDOS)

Microrganismos

As filárias-nematódeos *Wuchereria bancrofti*, *Brugia malayi* e *Onchocerca volvulus* são vermes delgados e longos, cujas

formas adultas são encontradas em tecidos. A filariose linfática é causada pelo verme adulto de *Wuchereria bancrofti* e *Brugia malayi* e afeta mais de 120 milhões de pessoas em 80 países ao longo dos trópicos e subtropicais da Ásia, África, no Pacífico Ocidental e em partes do Caribe e América do Sul. Vermes adultos de *W. bancrofti* e *B. malayi* (fêmeas, 60 a 100 mm de comprimento; machos, 15 a 40 mm de comprimento) são encontrados nos vasos linfáticos, onde a fêmea libera minúsculas larvas, chamadas microfílias, na linfa. As microfílias são arrastadas para o sangue periférico, sendo encontradas durante períodos específicos do dia, dependendo dos hábitos alimentares do seu inseto vetor (conhecido como periodicidade). Com *W. bancrofti* e *B. malayi*, a infecção é transmitida por mosquitos; assim, a prevenção envolve, em primeiro lugar, proteção contra picadas do mosquito. As medidas de controle pessoal incluem o uso de redes de proteção, repelentes e roupas de proteção.

Patologia e patogênese

Os vermes adultos inseridos nos tecidos linfáticos são a principal causa de reações inflamatórias e fibróticas. Os sinais e sintomas da infecção aguda incluem linfangite, com febre, gânglios linfáticos dolorosos, edema e inflamação espalhada pelos linfonodos afetados. Elefantíase é o nome do alargamento bruto mórbido dos membros, dos seios e dos órgãos genitais que ocorre em uma infecção crônica (Fig. 46.20), sendo uma resposta imunopatológica aos vermes adultos maduros ou mortos nos tecidos linfáticos.

ONCHOCERCA VOLVULUS (CEGUEIRA DO RIO — NEMATÓDEO DE TECIDO)

A OMS estima que a prevalência global da oncocercose é de mais de 17 milhões de pessoas, das quais 270.000 estão cegas e outras 500.000 têm deficiência visual causada pelo parasito. A maioria das pessoas infectadas vive na África Ocidental e central, mas a doença também é encontrada no Iêmen e em seis países das Américas.

Microrganismo

As infecções por *Onchocerca volvulus* são transmitidas quando moscas negras do gênero *Simulium* infectadas alimentam-se na pele humana. Essas moscas não perfuram os vasos sanguíneos com finas bucais delicados, como fazem os mosquitos. Em vez disso, a mosca negra infectada mói o tecido da pele e alimenta-se da poça de sangue e pele, onde as larvas de *Onchocerca* são liberadas. As larvas desenvolvem-se em vermes adultos (as fêmeas têm 300 a 500 mm; os machos, 200 a 400 mm de comprimento) nos tecidos subcutâneos, onde se tornam encapsulados com o tecido do hospedeiro e formam um nódulo (oncocercoma) de 1 a 2 cm de diâmetro (Fig. 46.21). Os vermes adultos acasalam, e as fêmeas liberam microfílias, que migram dentro da pele. A mosca negra ingere as microfílias durante sua picada, e as microfílias se tornam larvas infectantes na mosca negra cerca de 1 semana depois. A mosca negra procria em rios



FIGURA 46.20 Mulher com filariose linfática. (Reproduzida, com autorização, da biblioteca de imagens da OMS/TDR/Crump.)

caudalosos e em águas bem oxigenadas, daí o nome da doença: “cegueira dos rios”.

Patologia e patogênese

Com *Onchocerca*, são as microfílias liberadas dos vermes fêmeas que causam os danos mais graves. As microfílias que migram, encontradas exclusivamente nos fluidos intersticiais da pele e dos tecidos subcutâneos (não na corrente sanguínea), causam alterações da pigmentação da pele e perda de fibras elásticas, levando a “virilha pendurada”, a outras alterações cutâneas, e prurido intenso, às vezes intratável e insuportável. Muito mais grave é a cegueira que afeta milhões de pessoas, principalmente na África (principalmente em homens). A deficiência visual desenvolve-se ao longo de muitos anos pelo acúmulo de microfílias no humor vítreo, uma vez que as microfílias não são transmitidas pelo sangue e podem concentrar-se e permanecer nos fluidos do olho. Turvação da visão, fotofobia e, finalmente, danos à retina resultam em cegueira incurável.



A



B

FIGURA 46.21 *Onchocerca volvulus*. (A) Palpação de um nódulo subcutâneo. (Reproduzida, com autorização, da biblioteca de imagens da OMS/TDR/Crump.) (B) Nódulos que foram removidos cirurgicamente contendo vermes adultos. (Cortesia de Pathology, UCSF.)

DRACUNCULUS MEDINENSIS (VERME-DA-GUINÉ — NEMATÓDEO DE TECIDO)

Microrganismo

O verme-da-guiné, *Dracunculus medinensis*, apresenta um ciclo aquático através de copépodes (“pugas-d’água”, um grupo abundante de microcrustáceos aquáticos). Os copépodes ingerem as larvas liberadas de bolhas na pele humana que estouram quando imersas em água fria, espalhando um grande número de larvas. Os copépodes infectados são inadvertidamente ingeridos quando se bebe água infestada não tratada. Após um ano de circulação errante sistêmica no corpo, os vermes

amadurecem e acasalam. As fêmeas então atravessam a pele — geralmente a parte inferior da perna, onde provocam bolhas que se formam entre o pé e o tornozelo. Que melhor maneira de aliviar a dor e a irritação causadas pelas bolhas senão imergir a perna em água fria? A água fria estimula o verme fêmea a liberar suas larvas, e o ciclo vital continua.

Patologia e patogênese

D. medinensis induz uma ampla variedade de alterações patológicas, dependendo do local da infecção em adultos e da resposta do hospedeiro à presença do parasito ou à remoção do verme. A maioria das doenças causadas por vermes-da-guiné é resultado de infecções bacterianas secundárias. Essas infecções podem ser decorrentes de sepse no ponto de emergência da extremidade anterior do verme que sai das bolhas cutâneas. Os vermes adultos mortos (ou peças destes) na pele também podem iniciar infecção grave, levando a gangrena ou anafilaxia. Esses vermes são importantes causas de debilidade e perda econômica na África, onde os esforços direcionados para o controle e a erradicação estão em andamento e a erradicação completa é uma possibilidade real dentro de alguns anos.

LARVAMIGRANS (INFECÇÕES ZOONÓTICAS POR LARVAS DE NEMATÓDEOS)

Microrganismos

Larva *migrans* ocorre quando os seres humanos são infectados por nematódeos que normalmente parasitam hospedeiros animais. Os seres humanos são um hospedeiro final; as larvas se degeneram, induzindo uma resposta imunológica aos vermes mortos ou que estão morrendo, e não se tornam reprodutivamente maduras no homem. Eosinofilia é uma característica comum, e os de exames de fezes para ovos e parasitos não têm utilidade no diagnóstico. Existem diversas formas de larva *migrans*.

Patologia e patogênese

A larva *migrans* cutânea (LMC): também chamada erupção rastejante, é adquirida quando a pele descoberta (muitas vezes, das mãos ou dos pés descalços) tem contato com larvas de *Ancylostoma caninum* (que causa a **ancilostomíase canina**) presentes no solo. As larvas migram nas camadas epiteliais da pele, deixando nesta um traçado vermelho e pruriente. Os sinais da LCM são eritema e pápulas no local de entrada e traçados serpiginosos na pele.

Larva *migrans* visceral (LMV): mamíferos marinhos (focas, golfinhos e baleias) são os hospedeiros normais de *Anisakis* (verme de baleias). Essas larvas (de cerca de 15 mm de comprimento) são encontradas em hospedeiros intermediários, como o bacalhau, o arenque e o salmão que, se forem ingeridos acidentalmente em pratos de peixe cru ou malcozido, podem invadir a mucosa do estômago ou tecido intestinal causando fortes dores abdominais e cólicas que simulam as da apendicite ou da obstrução do intestino delgado. Granulomas eosinofílicos formam-se ao redor da larva no estômago ou nos tecidos

intestinais, e as larvas podem migrar para tecidos fora do trato gastrointestinal.

Larva *migrans* ocular (LMO) e larva *migrans* neural (LMN): a ingestão de ovos de lombriga de cão (*Toxocara canis*) e de lombriga de guaxinim (*Baylisascaris procyonis*) pode levar a LMV, LMO e LMN. As larvas eclodem dos ovos no intestino e migram por toda a circulação. As larvas instalam-se em tecidos variados, o que resulta na formação de granulomas em torno das larvas. Os sintomas da LMV incluem febre, hepatomegalia e eosinofilia; a LMO pode levar a deficiência visual e cegueira do olho afetado. Uma única larva no cérebro (LMN) pode levar a disfunção motora grave e cegueira, e as infecções causadas pelo verme do guaxinim podem ser fatais (Gavin *et al.*, 2006).

CLONORCHIS SINENSIS (TREMATÓDEO HEPÁTICO CHINÊS), FASCIOLA HEPATICA (TREMATÓDEO DE OVINOS) E PARAGONIMUS WESTERMANI (TREMATÓDEO DO PULMÃO) — TREMATÓDEOS DE TECIDO

Microrganismos

Estima-se que mais de 980 milhões de pessoas do Sudeste Asiático e da região do Pacífico Ocidental estão em risco de adquirir uma infecção transmitida por *Clonorchis*, *Fasciola* e *Paragonimus* (Keiser e Utzinger, 2005).

Quando os seres humanos comem alimentos malcozidos ou crus provenientes de áreas endêmicas, podem adquirir *Clonorchis* pela ingestão de metacercárias encistadas em peixes de água doce (p. ex., a carpa), *Fasciola*, pela ingestão de metacercárias encistadas em vegetação aquática (p. ex., no agrião), e *Paragonimus*, ao comerem crustáceos hospedeiros, como caranguejo ou lagosta de água doce (às vezes, caranguejo em saladas).

Patologia e patogênese

As metacercárias de *Clonorchis sinensis* (trematódeo hepático chinês) excisam-se do intestino e migram para os dutos biliares, onde pode ser encontrada uma carga parasitária de 500 a 1.000 ou mais vermes adultos. Os trematódeos causam irritação mecânica dos dutos biliares que resulta em fibrose e hiperplasia. Em infecções prolongadas, os vermes causam febre, calafrios, dor epigástrica e eosinofilia; colangite crônica que pode progredir para atrofia do parênquima hepático, fibrose portal e icterícia devida a obstrução biliar, e cirrose hepática.

A *Fasciola hepatica* (verme do fígado de carneiros), comumente encontrada no fígado de ovinos, bovinos e outros herbívoros, penetra na parede intestinal, entra no celoma, invade o tecido hepático e passa a residir nos dutos biliares. A infecção aguda causa dor abdominal, febre intermitente, eosinofilia, mal-estar e perda ponderal devida a danos hepáticos. A infecção crônica pode ser assintomática ou levar a obstrução intermitente do trato biliar.

As metacercárias no pulmão humano do trematódeo de-sencistam-se no intestino humano, e os vermes jovens migram para os pulmões, onde tornam-se encapsulados no tecido

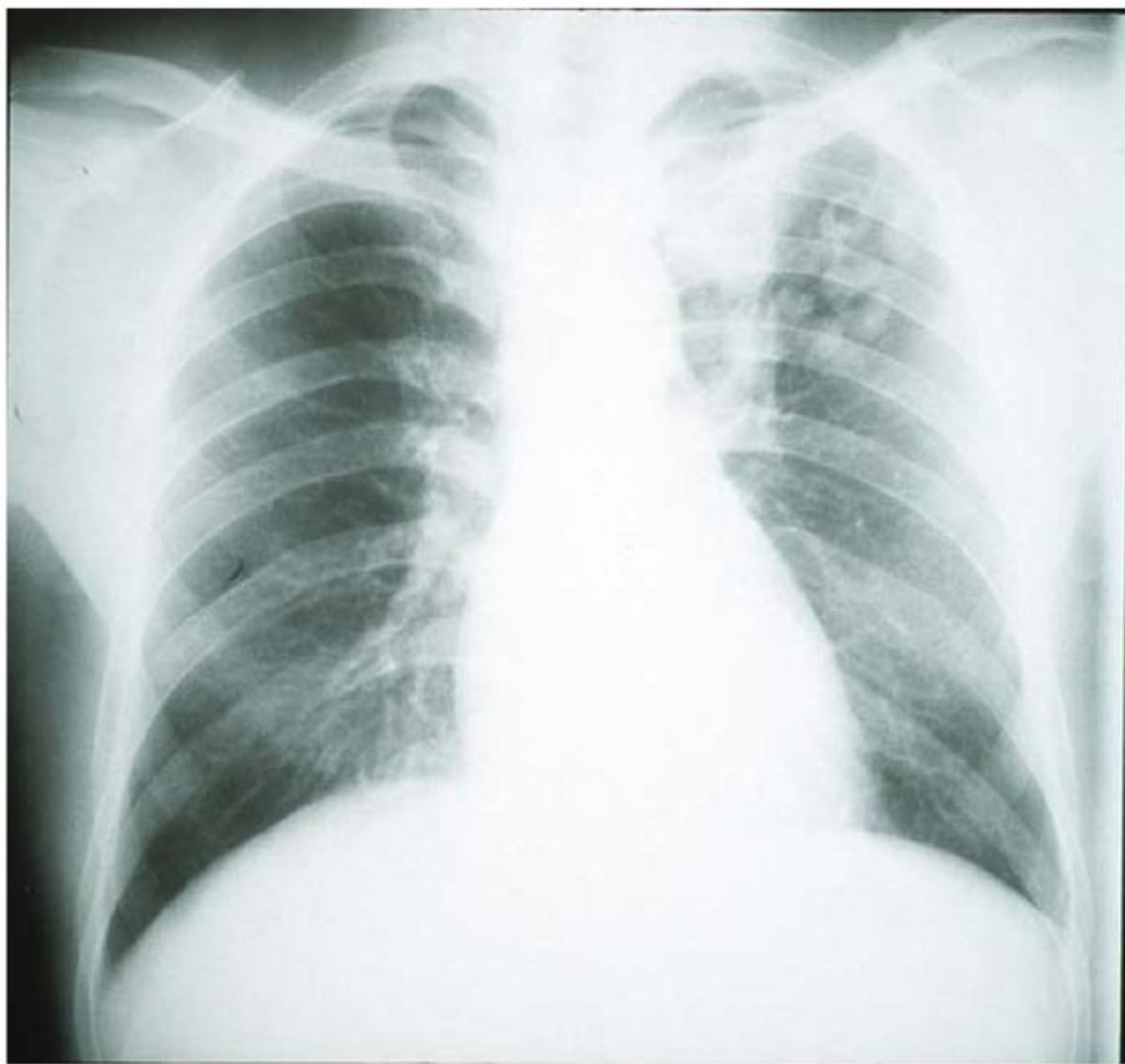


FIGURA 46.22 Vermes adultos de *Paragonimus westermani* são vistos no quadrante superior esquerdo dos pulmões em uma radiografia de pulmão. (Cortesia de Radiology, UCSF.)

pulmonar (Fig. 46.22). Os ovos lançados pelos vermes adultos sobem pela traqueia para a faringe, sendo expectorados ou ingeridos, passando, então, para as fezes. Os ovos no pulmão induzem uma resposta inflamatória com formação de granulomas ao redor dos ovos. Os vermes adultos no pulmão aparecem como nódulos brancoacinzentados, de aproximadamente 1 cm de tamanho dentro do pulmão, mas os vermes podem ser encontrados em sítios ectópicos (cérebro, fígado e na parede intestinal). Como os sintomas da tuberculose pulmonar são semelhantes aos da paragonimíase (tosse e hemoptise), é importante considerar a infecção pelo verme de pulmão no diagnóstico diferencial.

SCHISTOSOMA MANSONI, S. JAPONICUM E S. HAEMATOBIIUM (TREMATÓDEOS DO SANGUE)

Microrganismos

Estima-se que mais de 200 milhões de pessoas em todo o mundo estejam infectadas com espécies de *Schistosoma*. Os vermes adultos são longos e finos (machos, 6 a 12 mm de comprimento; fêmeas, 7 a 17 mm) e podem viver 10 a 20 anos em cópula dentro do sistema venoso (Fig. 46.23A): *S. mansoni*: veias mesentéricas inferiores do intestino grosso; *S. japonicum*: veias mesentéricas inferiores e superiores do intestino delgado; *S. haematobium*: veias da bexiga.

Os seres humanos adquirem a infecção quando entram em contato com água infestada com cercárias infecciosas. As cercárias são atraídas pelo calor do corpo e pelos lipídeos da pele e penetram na pele exposta. Em 30 min, as cercárias penetram na

epiderme e transformam-se em esquistossômulos, que passam para a circulação periférica, onde se tornam adultos no sistema hepatoportal ou no plexo venoso que envolve a bexiga. As fêmeas dos esquistossomos começam a liberar os ovos cerca de 5 a 8 semanas após a infecção.

Patologia e patogênese

A patologia mais significativa está associada aos ovos do esquistossoma, não aos vermes adultos. A fêmea do esquistossoma pode liberar centenas ou milhares de ovos por dia no sistema venoso. Quando os ovos são liberados, muitos são levados de volta à circulação e alojam-se no fígado (*S. mansoni* e *S. japonicum*) ou na bexiga (*S. haematobium*), enquanto os outros ovos são capazes de atingir o lúmen intestinal e passar para o exterior pelas fezes (*S. mansoni* e *S. japonicum*) ou pela urina (*S. haematobium*). Uma reação granulomatosa envolve os ovos e leva a fibrose do fígado com *S. mansoni* e *S. japonicum*. Em casos crônicos, o fluxo sanguíneo para o fígado é dificultado, o que leva a hipertensão do sistema portal, acúmulo de ascite na cavidade abdominal, hepatoesplenomegalia e varizes de esôfago.

Nas infecções por *S. haematobium*, ocorre envolvimento do trato urinário: dor uretral, aumento da frequência urinária, disúria, hematúria e obstrução da bexiga levando a infecções bacterianas secundárias.

Em indivíduos que viajam para países endêmicos, os achados clínicos de esquistossomose aguda incluem erupção cutânea com coceira (prurido do nadador) que ocorre cerca de 1 h após as cercárias penetrarem na pele, seguida de cefaleia, calafrios, febre, diarreia e eosinofilia (conhecida como febre do caramujo ou febre de Katayama) 2 a 12 semanas após a exposição (Salvana e King, 2008).

O diagnóstico é feito por O e P: ovos de *S. mansoni* (espícula lateral) e de *S. japonicum* (espícula fracamente visível) nas fezes; ovos de *S. haematobium* (espícula terminal) na urina (Fig. 46.23).

INFEÇÕES DE TECIDO POR CESTÓDEOS (CAUSADAS PELO ESTÁGIO LARVAL)

TAENIA SOLIUM — CISTICERCOSE/NEUROCISTICERCOSE

Ver *T. solium* na seção Infecções por helmintos intestinais.

ECHINOCOCCUS GRANULOSUS (CISTO HIDÁTICO)

Microrganismo

Echinococcus granulosus é uma tênia pequena, de três segmentos, encontrada somente no intestino de cães e outros canídeos. Os ovos deixam esses hospedeiros e infectam animais de pasto. Tal como ocorre com os vermes das carnes bovina e suína,

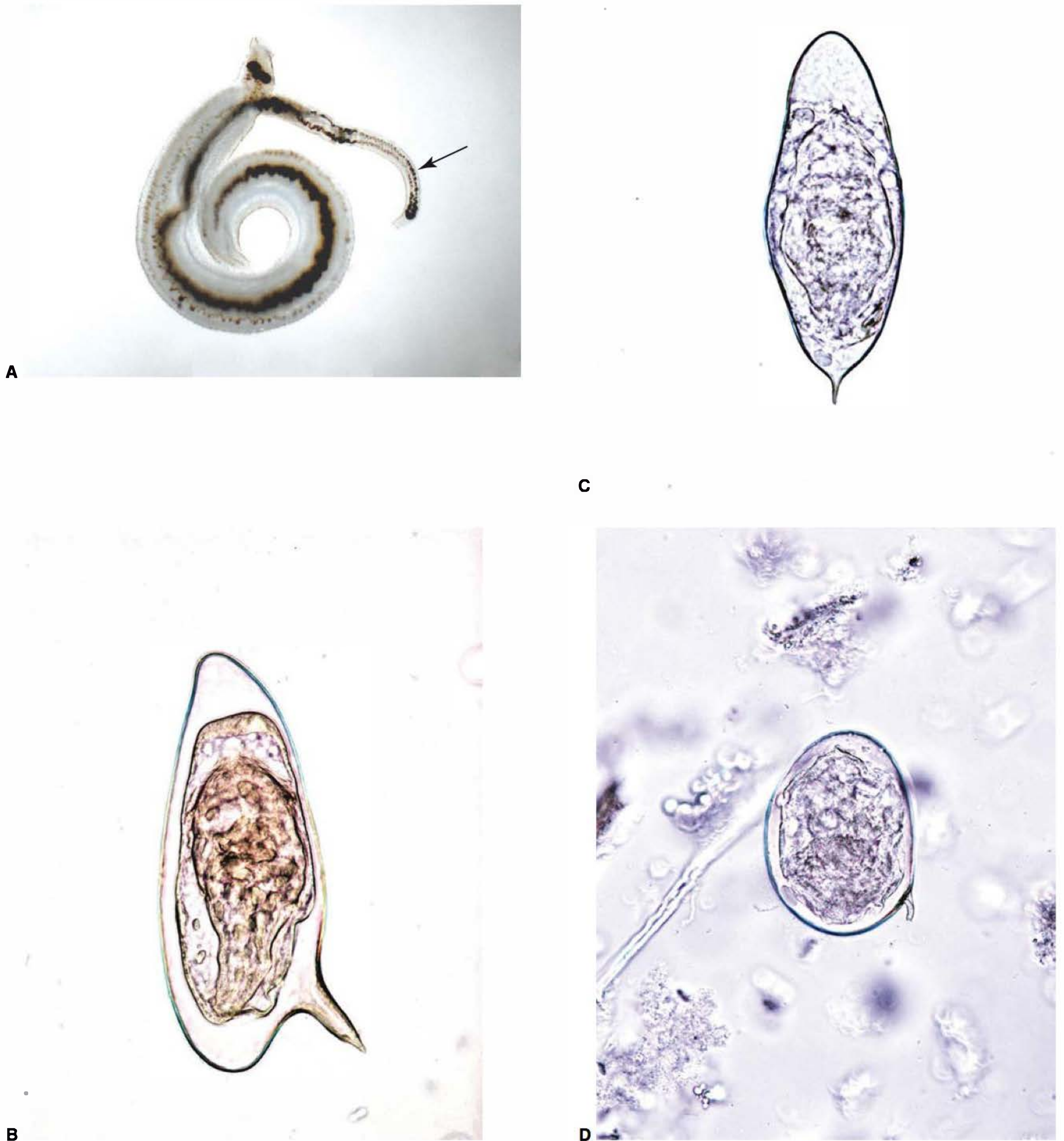


FIGURA 46.23 (A) Vermes adultos de *Schistosoma mansoni* em cópula. O verme fêmea (seta) está contido dentro do canal ginecóforo do macho. (Cortesia de Conor Caffrey, Sandler Center, UCSF.) (B) Ovo de *Schistosoma mansoni* com espícula lateral (110 a 175 μm de comprimento x 45 a 70 μm de largura). (C) Ovo de *Schistosoma haematobium* com espícula terminal (110 a 170 μm de comprimento x 40 a 70 μm de largura). (D) Ovo de *Schistosoma japonicum* com pequena espícula (70 a 100 μm x 55 a 65 μm largura). (Utilizada, com autorização, de Sullivan J., *A Color Atlas of Parasitology*, 8th ed, 2009.)

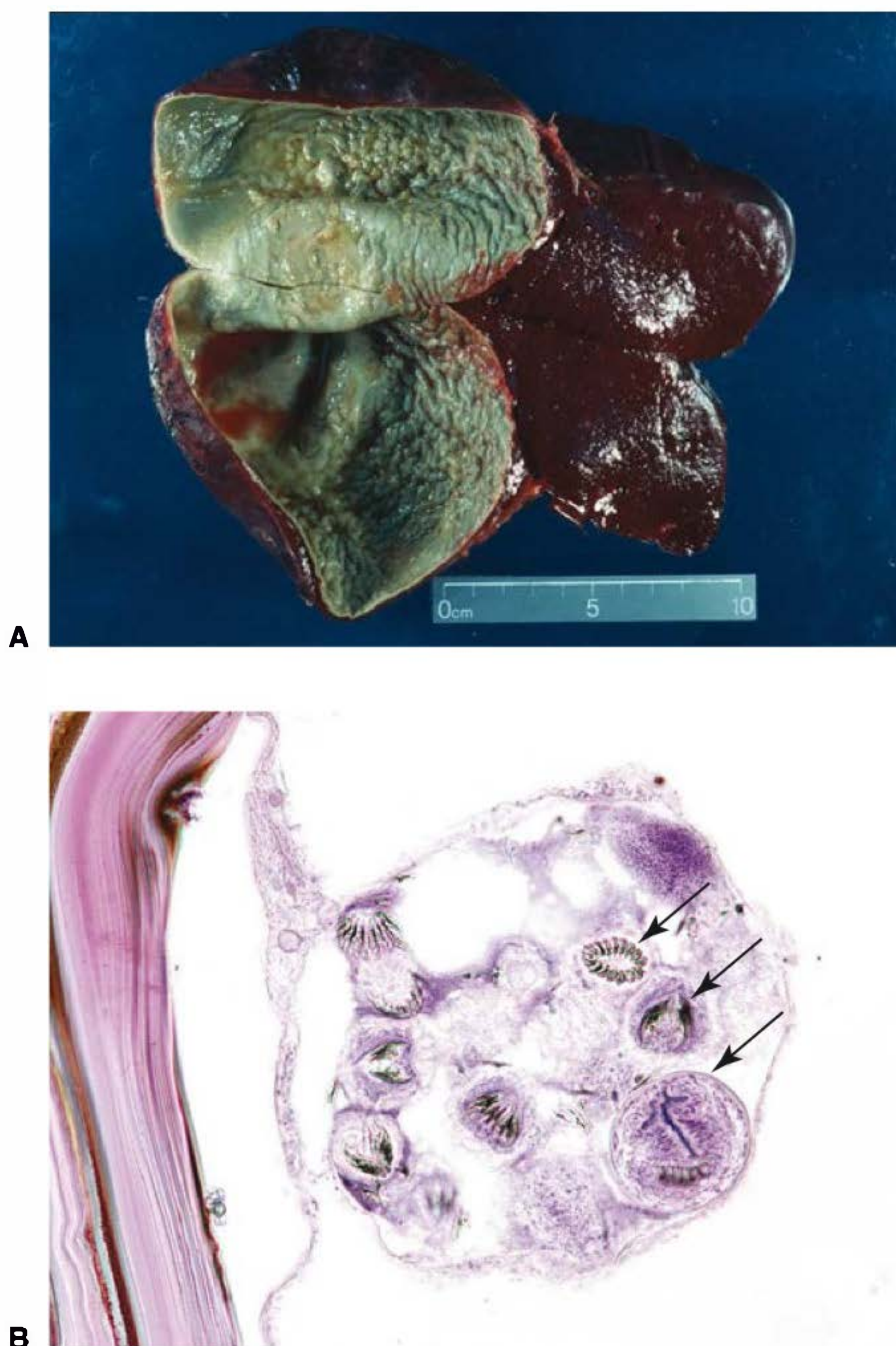


FIGURA 46.24 *Echinococcus granulosus*. (A) Cisto hidático de 14 cm de um paciente esplenectomizado. (Cortesia de Pathology, UCSF.) (B) Secção histológica de um cisto hidático mostrando vários protoescólex (setas) dentro de uma cápsula. (Usada, com autorização, de Sullivan J., *A Color Atlas of Parasitology*, 8th ed., 2009.)

as larvas nascem dos ovos, penetram no intestino e migram para vários tecidos, especialmente fígado, baço, (Fig. 46.24A), músculos e cérebro. Em vez do desenvolvimento de um cisticerco, como no caso das tênia de carne bovina e suína, a larva de *Echinococcus* desenvolve-se em um cisto cheio de líquido, chamado cisto hidático. O cisto contém um epitélio germinal em que milhares de futuras larvas (chamadas protoescólex) se desenvolvem (Fig. 46.24B). Dentro do cisto hidático, os protoescólex estão no interior de cápsulas. Se houver o rompimento do cisto hidático, as cápsulas podem sair do cisto, produzir metástases em outros locais, e evoluir para novos cistos hidáticos. Desta forma, a ingestão de um único ovo pode originar vários cistos hidáticos, cada qual contendo várias cápsulas.

Os seres humanos são infectados somente pela ingestão de ovos de *Echinococcus* presentes nas fezes de cães. O cão, por sua vez, só adquire a infecção a partir de herbívoros infectados. Os seres humanos são apenas os intermediários e nunca o hospedeiro final dessa tênia.

Patologia e patogênese

O cisto hidático pode crescer cerca de 1 a 7 cm por ano, e os sintomas dependem da localização do cisto no corpo. O local mais comum é o fígado, onde compressão, atrofia, hipertensão do sistema portal por obstrução mecânica e cirrose podem ocorrer. Deve-se tomar extremo cuidado durante a remoção do cisto. Se o cisto se romper, o líquido hidático, altamente imunogênico, pode causar choque anafilático, e as cápsulas podem produzir metástases e formar novos cistos hidáticos.

QUESTÕES DE REVISÃO

- Um surto de leve desconforto intestinal, insônia, prurido perianal e ansiedade surgiu entre crianças pré-escolares em uma casa particular. A causa mais provável dessa condição é:
 - Trichomonas vaginalis*
 - Enterobius vermicularis*
 - Ascaris lumbricoides*
 - Necator americanus*
 - Entamoeba histolytica*
- A doença de Chagas é especialmente temida na América Latina por causa da ameaça que ela representa para o coração e o sistema nervoso parassimpático e da falta de um fármaco eficaz para os estágios sintomáticos posteriores. Seu paciente está planejando residir em um povoado da Venezuela por 1 a 2 anos. Qual das seguintes sugestões seria de especial valor para evitar a doença de Chagas?
 - Ferver ou tratar toda a água potável
 - Dormir sob um mosquiteiro
 - Não manter animais domésticos em casa
 - Nunca andar descalço no complexo da vila
 - Não comer alface ou outras hortaliças cruas nem frutas sem casca
- Um homem de 32 anos de idade, voluntário do Corpo de Paz (Peace Corps), retornou recentemente do sul do Sudão, na África Central, após um período de 2 anos de trabalho em uma zona de guerra. Ele apresenta-se com esplenomegalia acentuada, hipergamaglobulinemia não específica, e teste cutâneo para leishmanina negativo (reação de Montenegro). Febres leves ocorrem de modo irregular. A doença parasitária mais provável é
 - Malária
 - Leishmaniose tegumentar americana
 - Leishmaniose visceral
 - Tripanossomíase
 - Filariose
- Uma mulher sexualmente ativa de 24 anos de idade reclama de coceira vaginal e corrimento fétido. Para verificar seu diagnóstico tentativo de tricomoníase, você deve incluir um dos seguintes itens em seu prontuário:
 - Teste sorológico específico
 - Esfregaço fecal para ovos e parasitos
 - Lâmina fresca do fluido vaginal
 - Teste de Elisa do soro
 - Cultura de fezes
- Você está trabalhando em uma clínica médica em uma zona rural da China e uma menina de 3 anos é trazida pela mãe. A criança apresenta-se emaciada e, após o teste, descobre-se que

- tem um nível de hemoglobina de 5 g/dL. Pés e tornozelos estão inchados, e há uma erupção cutânea extensa nos pés, tornozelos e joelhos. A infecção parasítica que mais provavelmente causa a condição dessa criança é:
- Esquistossomose
 - Dermatite por cercária
 - Ciclosporíase
 - Infecção por ancilostomídeo
 - Tricuríase
 - Ascariíase
6. Os efeitos patológicos da filariose em seres humanos são causados pelos vermes adultos em todas as espécies, menos uma. Neste caso, o dano principal é causado por microfilárias de:
- Brugia malayi*
 - Mansonella ozzardi*
 - Dracunculus medinensis*
 - Wuchereria bancrofti*
 - Onchocerca volvulus*
7. Um jovem de 18 anos de idade reclama de dores abdominais, flatulência, evacuações frequentes de fezes moles e perda de energia. Ele retornou há um mês de uma viagem de 3 semanas, período em que acampou e fez caminhadas na base do Monte Everest no Nepal. A viagem envolveu apenas caminhadas em altitudes elevadas, pois o ponto de partida, em torno do qual ele voou, fica a uma altitude de 12.000 pés. Qual das seguintes alternativas é uma consideração importante para o diagnóstico?
- A exposição à radiação UV de alto nível
 - A origem e a purificação da água
 - O uso de repelente de insetos durante as caminhadas
 - A presença de animais domésticos no caminho
 - O grau de contato com moradores no caminho
8. Qual dos seguintes testes diagnósticos deve ser solicitado para o paciente da Questão 7?
- Exame bacteriológico do sangue e da urina
 - Testes seriados de esfregaços de fezes para ovos e parasitos
 - Elisa ou testes sorológicos de hemaglutinação para malária
 - Teste cutâneo para microfilárias
 - Exame endoscópico para localização de vermes
9. O parasito que tem maior probabilidade de ser o agente causador da doença do paciente da Questão 7 é:
- Entamoeba coli*
 - Plasmodium vivax*
 - Trichomonas vaginalis*
 - Naegleria gruberi*
 - Giardia lamblia*
10. Foi relatado que vários aldeões de Papua-Nova Guiné, conhecidos por comerem carne de porco durante celebrações, estão sofrendo um surto de crises epiléticas. Uma das primeiras coisas que você deve investigar é:
- A prevalência de infecções por *Ascaris* na população
 - A presença de *Toxoplasma gondii* em gatos
 - A presença de *Trypanosoma brucei gambiense* nos aldeões
 - A presença de ovos de *Taenia* na água de beber
 - A presença de vermes adultos de *Taenia solium* nos porcos
11. Um turista de 32 anos viajou pelo Senegal durante 1 mês. Durante a viagem, nadou no rio Gâmbia. Dois meses após seu retorno, começou a reclamar de dor intermitente na parte baixa do abdome, com disúria. Os resultados laboratoriais do exame de fezes revelou ovos com um espinho terminal. Qual dos seguintes parasitos é a causa dos sintomas do paciente?
- Toxoplasma gondii*
 - Schistosoma mansoni*
 - Schistosoma haematobium*
 - Ascaris lumbricoides*
 - Taenia solium*
12. Que tipo de espécime foi coletado para análise laboratorial com base na resposta à questão anterior?
- Gota espessa
 - Amostra de fezes
 - Amostra de urina
 - Sangue para sorologia
 - Amostra de escarro
13. Uma jovem norte-americana de 23 anos de idade, previamente saudável, voltou recentemente de férias após visitar amigos no Arizona. Queixava-se de fortes dores de cabeça, via “luzes” e apresentava uma secreção nasal purulenta. Internada em um hospital com diagnóstico de meningite bacteriana, morreu 5 dias depois. Qual dos seguintes parasitos deve ser considerado no diagnóstico? Ela não tinha história prévia de viajar para fora dos EUA.
- Plasmodium falciparum*
 - Toxoplasma gondii*
 - Strongyloides stercoralis*
 - Entamoeba histolytica*
 - Naegleria fowleri*
14. Como a jovem da questão anterior pode ter adquirido esse parasito?
- Ingerindo cistos ao beber água contaminada por fezes
 - Comendo peixe malcozido
 - Comendo carne de gado malcozida
 - Andando descalça no parque
 - Mantendo relações sexuais sem proteção
 - Sendo picada por mosquito
 - Mergulhando em águas termais naturais
15. Um criador de ovelhas, de 37 anos de idade, da Austrália, apresenta dor no quadrante superior direito e parece um pouco icterico. O exame de fezes foi negativo para ovos e parasitos, mas a tomografia computadorizada do fígado revelou um cisto de 14 cm de largura, que parece conter líquido. Qual dos seguintes parasitos deve ser considerado?
- Toxoplasma gondii*
 - Taenia solium*
 - Taenia saginata*
 - Clonorchis sinensis*
 - Schistosoma mansoni*
 - Echinococcus granulosus*
 - Paragonimus westermani*
16. Uma mulher de 38 anos de idade, aparentemente abatida, mas alerta, trabalhou 6 meses como professora em uma escola na zona rural da Tailândia. Suas queixas principais incluem dor de cabeça frequente, náuseas e vômitos ocasionais e febre periódica. Você suspeita de malária e de fato encontrou parasitos de hemácias em um esfregaço fino de sangue coletado no dedo da paciente. Para descartar a perigosa forma de malária por *falciparum*, qual das seguintes opções cabe para um diagnóstico de malária por *Plasmodium falciparum*, com base em um exame microscópico do esfregaço de sangue?

- (A) Vários parasitos ovoides grandes em algumas hemácias
 (B) Hemácias parasitadas aumentadas, um pouco disformes
 (C) Parasitos dividindo-se (esquizontes) nas hemácias com 8 a 12 células-filhas
 (D) Dividindo parasitos nas hemácias com 16 a 24 células-filhas
 (E) Formas de duplo anel encontradas no esfregaço
17. Dado o diagnóstico de malária por *Plasmodium falciparum* para a paciente da Questão 16, qual dos seguintes regimes de tratamento é adequado?
 (A) Proguanil oral mais atovaquona
 (B) Cloroquina oral
 (C) Cloroquina por via endovenosa
 (D) Proguanil oral
 (E) Quinidina endovenosa
18. Dado o diagnóstico de *Plasmodium falciparum*, você deve informar à paciente da Questão 16 que (escolha uma opção):
 (A) Há pouca chance de recaída em 1 a 3 anos
 (B) Há uma forte probabilidade de que a resistência implicará evoluções complementares de tratamento
 (C) Voltar aos trópicos pode ser perigoso, porque pode ter se desenvolvido hipersensibilidade ao parasito
 (D) Estando naquele país, ela deve evitar picadas de mosquitos, que podem induzir uma reincidência de malária
 (E) Um tratamento com primaquina para limpar o fígado de hipnozoítos previne o retorno da malária por falciparum
19. A gravidade da infecção pelo *Plasmodium falciparum*, comparada às outras três formas de malária, é decorrente de qual destas alternativas?
 (A) Destruição dos leucócitos compromete a reação imunológica contra a malária
 (B) As células-tronco da medula são em grande parte destruídas
 (C) Podem ocorrer danos ao fígado durante a fase do ciclo pré-eritrocítico do parasito
 (D) Os parasitos presentes na corrente sanguínea reinvasam o fígado e induzem um estado mais grave da doença
 (E) As hemácias infectadas e deformadas aderem ao revestimento interior dos vasos sanguíneos e bloqueiam o fluxo de sangue por esses vasos
20. Um homem de 52 anos de idade, de volta de uma excursão na Índia e no Sudeste Asiático, teve diagnóstico de amebíase intestinal e foi tratado com sucesso com iodoquinol. Um mês depois, voltou ao ambulatório queixando-se das seguintes condições, uma das quais é o resultado mais provável de amebíase sistêmica (embora a infecção intestinal pareça ter sido curada):
 (A) Febre alta periódica
 (B) Hematúria
 (C) Fígado aumentado e sensível ao toque
 (D) Lesão de pele drenando
 (E) Baço aumentado e doloroso

Respostas

- | | | | |
|------|-------|-------|-------|
| 1. B | 6. E | 11. C | 16. E |
| 2. B | 7. B | 12. C | 17. A |
| 3. C | 8. B | 13. E | 18. A |
| 4. C | 9. E | 14. G | 19. E |
| 5. D | 10. D | 15. F | 20. C |

REFERÊNCIAS

- Abdalla SH, Pasvol G, Hoffman SL (editors): *Malaria: A Hematological Perspective*. Imperial College Press, 2004.
- Ash LR, Orihel TC: *Atlas of Human Parasitology*, 5th ed. American Society of Clinical Pathology Press, 2007.
- Baird JK, Hoffman SL: Primaquine therapy for malaria. *Clin Infect Dis* 2004;39:1336.
- Centers for Disease Control and Prevention: Parasitic diseases (www.cdc.gov/ncidod/dpd/).
- Cook GC, Zumk A (editors): *Manson's Tropical Diseases*, 21st ed. Saunders, 2003.
- Despommier DD, Gwadz RW, Hotez PJ, Knirsch CA (editors): *Parasitic Diseases*, 5th ed. Apple Trees Productions, 2005.
- Drugs for parasitic infections. Treatment Guidelines from *The Medical Letter*, vol. 8, 2010.
- Garcia LS: *Diagnostic Medical Parasitology*, 5th ed. American Society for Microbiology, 2007.
- Gavin PJ, Kazacos KR, Shulman ST: Baylisascariasis. *Clin Microbiol Rev* 2005;18:703.
- Goldsmith RS: Infectious diseases: Protozoal and helminthic. In: *Current Medical Diagnosis and Treatment 2006*. Tierney LM Jr, McPhee SJ, Papadakis MA (editors). McGraw-Hill, 2006.
- Goldsmith RS, Heyneman D (editors): *Tropical Medicine and Parasitology*. Appleton and Lange, 1989.
- Gomes ML, Galvao LMC, Macedo AM, et al. Chagas' disease diagnosis: Comparative analysis of parasitologic, molecular, and serologic methods. *Am J Trop Med Hyg* 1999;60:205.
- Guerrant RL, Walker DH, Weller PF (editors): *Tropical Infectious Diseases Principles, Pathogens, and Practice*, 2nd ed. Churchill Livingstone. Elsevier, 2 vols, 2006.
- Haque R, Huston CD, Hughes M, et al. Current concepts: Amebiasis. *N Engl J Med* 2003;348:1565.
- Harrison LM, Nerlinger A, Bungiro RD, et al. Molecular characterization of *Ancylostoma* inhibitors of coagulation factor Xa. *J Biol Chem* 2002;277:6223.
- Herwaldt BL: *Cyclospora cayetanensis*: A review, focusing on the outbreaks of cyclosporiasis in the 1990s. *Clin Infect Dis* 2000; 31:1040.
- Keiser J, Utzinger J: Emerging foodborne trematodiasis. *Emerg Infect Dis* 2005;11:1507.
- Long CA, Hoffman SL: Parasitology. Malaria—from infants to genomics to vaccines. *Science* 2002;297:345.
- Mahmoud AAF (editor): *Schistosomiasis*. Imperial College Press, 2001.
- McKerrow J, Parslow TG: Parasitic diseases. In: *Medical Immunology*, 10th ed. Parslow TG, et al (editors). McGraw-Hill, 2001.
- The MerckManuals Online Medical Library (www.merck.com/mmpe/index.html).
- Orihel TC, Ash LR: *Parasites in Human Tissues*. American Society of Clinical Pathology Press, 1995.
- Peters W, Pasvol G: *Tropical Medicine and Parasitology*, 5th ed. Mosby, 2002.
- Roberts LS, Janovy J Jr: *Foundations of Parasitology*, 8th ed. McGraw-Hill Higher Education, 2009.
- Rosenthal PJ: Chap 52 Antiprotozoal drugs. In: *Basic and Clinical Pharmacology*, 12th ed. Katzung BG, Masters SB, Trevor AJ (editors). Lange Medical Books/McGraw-Hill, 2012.
- Rowley HA, Uht RM, Kazacos KR, et al. Radiologic-pathologic findings in raccoon roundworm (*Baylisascaris procyonis*) encephalitis. *Am J Neuroradiol* 2000;21:415.
- Salvana EMT, King CH: Schistosomiasis in travelers and immigrants. *Curr Infect Dis Rep* 2008;10:42.

Stanley SL: Amoebiasis. *Lancet* 2003;361:1025.

Strickland GT: *Hunter's Tropical Medicine and Emerging Infectious Diseases*. Saunders, 2000.

Warrell DA, Gilles HM (editors): *Essential Microbiology*, 4th ed. Arnold Press, 2002.

Wilson WR, Sande MA (editors): *Current Diagnosis and Treatment in Infectious Diseases*. McGraw-Hill, 2001.

World Health Organization: World Malaria Report 2005 (<http://rbm.who.int/wmr2005/>).

World Health Organization: Leishmaniasis: Burden of disease 2009 (www.who.int/leishmaniasis/burden/en/).

Xiao L, Fayer R, Ryan U, et al. *Cryptosporidium* taxonomy: Recent advances and implications for public health. *Clin Microbiol Rev* 2004;17:72.

Princípios de microbiologia médica diagnóstica

A microbiologia clínica diagnóstica ocupa-se do diagnóstico etiológico das infecções. Os procedimentos laboratoriais utilizados no diagnóstico de causas infecciosas em seres humanos consistem nos seguintes:

1. Identificação morfológica do agente em amostras ou cortes de tecidos corados (microscopia óptica e eletrônica).
2. Isolamento e identificação do agente infeccioso em cultura.
3. Detecção do antígeno do agente por ensaio imunológico (aglutinação do látex, Elisa, etc.) ou anticorpos marcados com fluoresceína (ou com peroxidase).
4. Hibridização DNA-DNA ou DNA-RNA para a detecção de genes específicos do patógeno em amostras do paciente.
5. Detecção e amplificação dos ácidos nucleicos do microrganismo em amostras do paciente.
6. Demonstração das respostas imunológicas humorais ou celulares significativas a determinado agente infeccioso.

No campo das doenças infecciosas, os resultados dos exames laboratoriais dependem, em grande parte, da qualidade da amostra, do momento em que o material é coletado e dos cuidados com sua manipulação, bem como da capacidade técnica e da experiência da equipe laboratorial. Embora os médicos devam ser competentes na realização de alguns testes microbiológicos simples e importantes — como preparar e corar um esfregaço, examiná-lo ao microscópio e semear uma placa de cultura —, cabe em geral aos bacteriologistas ou virologistas, e aos técnicos da equipe a responsabilidade pelos detalhes técnicos dos procedimentos mais complexos. Os médicos que tratam dos processos infecciosos devem saber como e quando coletar as amostras, quais os exames laboratoriais a serem solicitados e de que modo interpretar os resultados.

Este capítulo discute a microbiologia diagnóstica para as doenças causadas por bactérias, fungos, clamídias e vírus. O diagnóstico das infecções parasitárias é discutido no Capítulo 46.

COMUNICAÇÃO ENTRE O MÉDICO E O LABORATÓRIO

O diagnóstico microbiológico abrange a caracterização de milhares de agentes que provocam doenças infecciosas ou estão associados a elas. As técnicas empregadas para caracterizar os agentes infecciosos variam acentuadamente, dependendo da síndrome clínica e do tipo de agente que está sendo investigado, seja um vírus, uma bactéria, um fungo ou outro parasito. Como nenhum teste sozinho permite o isolamento ou a caracterização de todos os patógenos potenciais, as informações clínicas são muito mais importantes para a microbiologia diagnóstica do que para a química clínica ou a hematologia. O médico deve estabelecer um diagnóstico presuntivo em vez de aguardar os resultados de laboratório. Ao solicitar os exames, deve notificar a equipe do laboratório sobre o diagnóstico presuntivo (tipo de infecção ou agente infeccioso suspeito). As amostras devem ser adequadamente rotuladas, incluindo-se dados clínicos, bem como os dados de identificação do paciente (ao menos dois métodos de identificação definitiva) e o nome do médico solicitante, além de informações pertinentes para contato.

Muitos microrganismos patogênicos crescem lentamente, podendo ser necessários dias ou mesmo semanas para seu isolamento e sua identificação. O tratamento não pode ser adiado até que esse processo tenha sido concluído. Após a obtenção das amostras adequadas e notificação do diagnóstico clínico presuntivo ao laboratório, o médico deve iniciar o tratamento farmacológico contra o microrganismo que se acredita ser responsável pela doença do paciente. Quando começa a obter os resultados, a equipe laboratorial deve passar a informação ao médico que, então, poderá reavaliar o diagnóstico e a evolução clínica do paciente, bem como, talvez, efetuar mudanças no esquema terapêutico. Essa informação de “retroalimentação” do

laboratório consiste em relatórios preliminares dos resultados obtidos em cada etapa de isolamento e identificação do agente etiológico.

DIAGNÓSTICO DAS INFECÇÕES BACTERIANAS E FÚNGICAS

Amostras

Em geral, o exame laboratorial inclui o estudo microscópico de material fresco não corado e corado, bem como a preparação de culturas em condições apropriadas ao crescimento de uma ampla variedade de microrganismos, inclusive o tipo de microrganismo mais provavelmente responsável pela infecção com base nos dados clínicos. Se for isolado um microrganismo específico, poder-se-á proceder à sua identificação completa. Os microrganismos isolados devem ser avaliados quanto à sua suscetibilidade aos antimicrobianos. Quando são isolados patógenos importantes antes de se iniciar o tratamento, pode ser conveniente efetuar exames laboratoriais de acompanhamento durante e após o tratamento.

A coleta correta da amostra constitui a etapa mais importante no diagnóstico de uma infecção, visto que os resultados dos exames diagnósticos para doenças infecciosas dependem da seleção, do momento e do método de coleta das amostras. As bactérias e os fungos crescem e morrem, mostram-se suscetíveis a inúmeras substâncias químicas e podem ser encontradas em diferentes locais anatômicos, bem como diferentes líquidos e tecidos orgânicos durante a evolução das doenças infecciosas. Como o isolamento do agente é de suma importância no estabelecimento de um diagnóstico, a amostra deve ser obtida do local que mais provavelmente abriga o agente em determinado estágio da doença, devendo ser manipulada de modo a favorecer a sobrevivência e o crescimento do agente. Para cada tipo de amostra são fornecidas sugestões de manipulação ideal nos parágrafos que se seguem, bem como na seção sobre o diagnóstico com base no local anatômico.

O isolamento de bactérias e fungos será de suma importância se o agente for isolado de um local normalmente desprovido de microrganismos (*i. e.*, de uma área normalmente estéril). Qualquer tipo de microrganismo cultivado a partir de amostras de sangue, líquido cerebrospinal (LCS), líquido articular, da cavidade peritoneal ou da cavidade pleural, constitui um achado diagnóstico significativo. No entanto, muitas partes do corpo possuem uma microbiota normal (Cap. 10) que pode ser alterada por influências endógenas ou exógenas. O isolamento de patógenos potenciais das vias respiratórias, do trato gastrintestinal ou do trato geniturinário, de feridas ou da pele deve ser considerado no contexto da microbiota normal de cada local. Os dados microbiológicos devem ser correlacionados com as informações clínicas, para se fazer uma interpretação significativa e correta dos resultados.

Algumas regras gerais aplicam-se a todas as amostras:

1. A quantidade de material deve ser adequada.
2. A amostra deve ser representativa do processo infeccioso (p. ex., escarro, mas não saliva; pus da lesão subjacente, e não do trato fistuloso; *swab* da porção profunda, e não da superfície da ferida).
3. É preciso evitar contaminação da amostra, utilizando-se apenas equipamento estéril e tornando-se precauções assépticas.
4. A amostra deve ser levada ao laboratório e examinada imediatamente. O uso de meios especiais de transporte pode ser útil.
5. Devem-se obter amostras significativas para o diagnóstico de infecções bacterianas e fúngicas antes da administração de antimicrobianos. Se os antimicrobianos forem administrados antes da obtenção de amostras para exame microbiológico, poderá ser necessário interromper a terapia farmacológica e obter novas amostras após alguns dias.

O tipo de amostra a ser examinado é determinado pelo quadro clínico. Se os sinais e sintomas indicarem comprometimento de determinado sistema orgânico, as amostras deverão ser coletadas nesse local. Na ausência de sinais ou sintomas que indiquem a localização, devem-se, a princípio, obter repetidas amostras de sangue para cultura; em seguida, devem-se obter amostras de outros locais em sequência, dependendo, em parte, da probabilidade de comprometimento de determinado sistema orgânico no paciente e, em parte, da facilidade de obtenção das amostras.

Microscopia e coloração

O exame microscópico de amostras coradas ou de não coradas constitui um método relativamente simples e de baixo custo, embora muito menos sensível que a cultura para detecção de pequenos números de bactérias. A amostra deve conter pelo menos 10^5 microrganismos por mililitro para que possam ser detectados em um esfregaço. A olho nu, o meio de cultura líquido contendo 10^5 microrganismos por mililitro tem aspecto turvo. Nas amostras que contêm 10^2 a 10^3 microrganismos por mililitro, há crescimento em meios sólidos de culturas, enquanto as que contêm 10 ou menos bactérias por mililitro podem produzir crescimento em meios líquidos.

A coloração pelo método de Gram constitui um procedimento de grande utilidade no diagnóstico microbiológico. Quando há suspeita de infecção bacteriana, deve-se efetuar um esfregaço da maioria das amostras coletadas em lâminas, que em seguida devem ser coradas pelo método de Gram e examinadas ao microscópio. No Quadro 47.1, apresentamos os materiais e o método de coloração pelo Gram. Ao exame microscópico, devem-se observar a reação de Gram (uma coloração púrpura-azulada indica microrganismos gram-positivos, ao passo que a vermelha indica microrganismos gram-negativos) e a morfologia das bactérias (forma: cocos, bastonetes, fusiformes ou outras formas; ver Cap. 2). Além disso, a presença e a ausência de polimorfonucleares, bem como sua análise quantitativa, são importantes para confirmação de um processo inflamatório. Por outro lado, a presença de células epiteliais escamosas em amostras respiratórias ou de feridas em geral é útil para determinação da qualidade da amostra. O aspecto das bactérias em esfregaços corados pelo método de Gram não permite a identificação da espécie. O achado de cocos gram-positivos em cadeias sugere espécies de estreptococos, embora não de forma definitiva; os cocos gram-positivos em grupos sugerem espécies de estafilococos. Os bastonetes gram-negativos podem ser grandes, pequenos ou mesmo cocobacilares. Algumas

QUADRO 47.1 Métodos de coloração de Gram e métodos álcool-ácidos

Coloração de Gram

- (1) Fixar o esfregaço por calor ou com o uso de metanol
- (2) Cobrir a lâmina com cristal de violeta (violeta de genciana)
- (3) Lavar com água. Não esfregar
- (4) Cobrir com solução de iodo (Lugol)
- (5) Lavar com água. Não esfregar
- (6) Descorar por 10 a 30 s por agitação suave com uma solução de álcool (70 mL): acetona (30 mL)
- (7) Lavar com água. Não esfregar
- (8) Cobrir com safranina (ou fucsina) por 10 a 30 s (solução a 2,5% em etanol a 95%)
- (9) Lavar com água e deixar secar

Coloração álcool-ácida de Ziehl-Neelsen

- (1) Fixar o esfregaço por aquecimento
- (2) Cobrir com carbolfucsina (ou fucsina fenicada), aquecer suavemente por 5 min diretamente sobre a chama (ou por 20 min em banho de água). Não deixar que as lâminas sequem e nem que o corante ferva
- (3) Lavar com água deionizada
- (4) Descorar em álcool-ácido 3% (etanol 95% e ácido clorídrico 3,0%), até que somente uma suave coloração rosa permaneça
- (5) Lavar com água
- (6) Contracorar por 1 min com azul de metileno de Loeffler
- (7) Lavar com água deionizada e deixar secar

Coloração álcool-ácida de Kinyoun carbolfucsina

- (1) Fórmula: 4 g de fucsina básica, 8 g de fenol, 20 mL de etanol a 95%, 100 mL de água destilada
- (2) Corar o esfregaço fixado por 3 min (não é necessário aquecimento) e seguir como na coloração de Ziehl-Neelsen

bactérias gram-positivas não viáveis podem exibir coloração gram-negativa. Tipicamente, a morfologia bacteriana tem sido definida com a utilização de microrganismos que crescem em ágar. Entretanto, as bactérias nos líquidos ou tecidos corporais podem exibir morfologia altamente variável.

As amostras destinadas a exame à procura de micobactérias devem ser coradas para microrganismos álcool-acidorresistentes. A coloração fluorescente de auramina-rodamina é o método de coloração mais sensível para detecção de micobactérias em espécime clínico. Contudo, dois métodos não fluorescentes são mais utilizados na detecção desses microrganismos, a **coloração de Ziehl-Neelsen** ou a **coloração de Kinyoun, principalmente em laboratórios clínicos** que não possuem microscópios de imunofluorescência (Quadro 47.1) (ver Cap. 23).

A **coloração com anticorpo imunofluorescente (IF)** mostra-se útil na identificação de muitos microrganismos. Procedimentos como esse são mais específicos que as outras técnicas de coloração, mas sua execução é mais trabalhosa. Os anticorpos marcados com fluoresceína em uso comum são preparados a partir de antissoros produzidos mediante a inoculação, em animais, de microrganismos integrais ou misturas complexas de antígenos. Os **anticorpos policlonais** assim produzidos

podem reagir com múltiplos antígenos no microrganismo inoculado e exibir reação cruzada com antígenos de outros microrganismos ou, possivelmente, com células humanas na amostra. O controle da qualidade é importante para minimizar a coloração IF inespecífica. O uso de **anticorpos monoclonais** pode evitar o problema da coloração inespecífica. A coloração IF é muito valiosa para confirmar a presença de microrganismos específicos, como a *Bordetella pertussis* ou a *Legionella pneumophila*, em colônias isoladas em meios de cultura. O uso da coloração IF direta em amostras de pacientes é mais difícil e menos específico, sendo atualmente substituído por técnicas de amplificação do ácido nucleico (*nucleic acid amplification techniques* [NAATs]).

Colorações como o calcofluorado branco, a metenamina de prata e, em certas ocasiões, o ácido periódico de Schiff (PAS) e outras, são utilizadas para os tecidos e outras amostras nos quais existam fungos ou outros parasitos. Tais colorações não são específicas para determinados microrganismos, mas capazes de definir a estrutura, permitindo o uso de critérios morfológicos para identificação. O calcofluorado branco liga-se à celulose e à quitina nas paredes celulares dos fungos, fluorescendo sob a luz ultravioleta (UV) de comprimento de onda longo. Pode-se demonstrar a morfologia diagnóstica da espécie (p. ex., esférulas com endósporos na infecção por *Coccidioides immitis*). Os cistos de *Pneumocystis jirovecii* são identificados morfológicamente em amostras coradas por prata. Utiliza-se o PAS para corar cortes histológicos quando há suspeita de infecção fúngica. Após o isolamento primário dos fungos, são utilizadas colorações, como o azul de lactofenol, para distinguir o crescimento fúngico e identificar os microrganismos com base na sua morfologia.

As amostras a serem examinadas à procura de fungos podem ser inspecionadas sem coloração, após tratamento com solução de hidróxido de potássio a 10%, que rompe o tecido em torno dos micélios fúngicos, permitindo uma melhor visualização das hifas. Algumas vezes, a microscopia de contraste de fase mostra-se útil para o exame de amostras não coradas. Utiliza-se a microscopia de campo escuro para detectar o *Treponema pallidum* em material de lesões sifilíticas primárias ou secundárias ou outras espiroquetas, tais como *Leptospira*.

Sistemas de cultura

Para o diagnóstico bacteriológico, é necessário utilizar vários meios de cultura de rotina, particularmente quando os possíveis microrganismos incluem bactérias aeróbias, anaeróbias facultativas e anaeróbias obrigatórias. No Quadro 47.2, fornecemos uma lista das amostras e meios de cultura empregados para o diagnóstico das infecções bacterianas mais comuns. O meio de cultura-padrão para amostras é o ágar-sangue, geralmente preparado com 5% de sangue de carneiro. A maioria dos microrganismos aeróbios e anaeróbios facultativos cresce em ágar-sangue. O ágar-chocolate, um meio que contém sangue aquecido com ou sem suplementos, é um segundo meio de cultura necessário. Alguns microrganismos que não crescem em ágar-sangue, como *Neisseria* e *Haemophilus* patogênicos, irão crescer em ágar-chocolate. Um meio de cultura seletivo para os bastonetes gram-negativos entéricos (ágar de MacConkey ou ágar eosina de metileno [EMB]) constitui um terceiro tipo de meio de cultura empregado rotineiramente. As amostras a

QUADRO 47.2 Localização comum de infecções bacterianas e nocardiose

Doença	Amostra	Agentes etiológicos comuns	Achados microscópicos habituais	Meios de cultura	Comentários
Celulite da pele	Biópsia por punção	Estreptococos do grupo A β -hemolíticos, <i>S. aureus</i>	Ocasionalmente, cocos gram-positivos	Ágar-sangue	O microrganismo pode ser recuperado a partir de biópsia da borda do eritema
Impetigo	Swab	Iguais aos da celulite (acima)	Iguais aos da celulite (acima) e da faringite (abaixo)		A cultura raramente é indicada
Úlceras de pele	Biópsia por punção; aspirado ou biópsia de tecido profundo	Microbiota mista	Microbiota mista	Ágar-sangue, ágar de MacConkey ou ágar-EMB; meios anaeróbios	As úlceras de pele abaixo da cintura frequentemente contêm aeróbios e anaeróbios como a microbiota gastrointestinal
Meningite	LCS	<i>Neisseria meningitidis</i>	Diplococos gram-negativos intracelulares	Ágar-chocolate ^a e ágar-sangue para culturas do LCS	Aglutinação em látex (para detecção de antígenos bacterianos) é um teste precário para diagnosticar a causa de meningite
		<i>Haemophilus influenzae</i>	Pequenos cocobacilos gram-negativos	Ágar-chocolate	Aglutinação em látex (para detecção de antígenos bacterianos) é um teste precário para diagnosticar a causa de meningite
		<i>Streptococcus pneumoniae</i>	Cocos gram-positivos em pares	Ágar-sangue	Aglutinação em látex (para detecção de antígenos bacterianos) é um teste precário para diagnosticar a causa de meningite; os ensaios imunocromatográficos são mais sensíveis
		Estreptococos do grupo B	Cocos gram-positivos em pares e em cadeias	Ágar-sangue	Aglutinação em látex (para detecção de antígenos bacterianos) é um teste precário para diagnosticar a causa de meningite
		<i>Escherichia coli</i> e outras Enterobacteriaceae	Bacilos gram-negativos	Ágar-sangue	Principalmente em recém-nascidos; não há necessidade de meios seletivos para a cultura do LCS
		<i>Listeria monocytogenes</i>	Cocos gram-positivos	Ágar-sangue	β -hemolítico; pode ser confundido com estreptococos do grupo B
Abscesso cerebral	Pus	Infecção mista; bastonetes e cocos gram-positivos e gram-negativos anaeróbios, cocos gram-positivos aeróbios	Cocos gram-positivos ou microbiota mista	Ágar-sangue, ágar-chocolate ^a , meios anaeróbios	A amostra deve ser obtida cirurgicamente e transportada em condições anaeróbias estritas
Abscesso perioral	Pus	Microbiota mista da boca e orofaringe	Microbiota mista	Ágar-sangue, ágar-chocolate ^a , ágar MacConkey ou EMB; meios anaeróbios	Em geral, infecção bacteriana mista; raramente actinomicose
Faringite	Swab	Estreptococos do grupo A	Não recomendados	Ágar-sangue ou meio seletivo	β -hemolítico
		<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	Não recomendados	Meio de Loeffler ou de Pai; em seguida, meio de cisteína-telurito ou de Tinsdale	Bastonetes granulados em padrões de "caracteres chineses" em esfregaços do material de cultura; necessário testar a toxicidade

Doença	Amostra	Agentes etiológicos comuns	Achados microscópicos habituais	Meios de cultura	Comentários
Coqueluche (pertussis)	Swab	<i>Bordetella pertussis</i>	Não recomendados	Ágar de Regan-Lowe	O teste de anticorpo fluorescente identifica os microrganismos obtidos de cultura e ocasionalmente em esfregaços diretos; PCR é mais sensível do que a cultura
Epiglotite	Swab	<i>Haemophilus influenzae</i>	Em geral, não são úteis	Ágar-chocolate ^a (utilizar também ágar-sangue)	<i>Haemophilus influenzae</i> faz parte da microbiota normal da nasofaringe
Pneumonia	Escarro ou outra amostra respiratória obtida por métodos invasivos	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	Muitos PMN, cocos gram-positivos em pares ou cadeias. Intumescimento capsular com soro misto (teste de Quellung)	Ágar-sangue; também de MacConkey, ágar-EMB e ágar-chocolate	<i>Streptococcus pneumoniae</i> faz parte da microbiota normal da nasofaringe. Hemoculturas específicas (positivas) em 10 a 20%
		<i>Staphylococcus aureus</i>	Cocos gram-positivos em pares, tétrades e aglomerados	Ágar-sangue; também de MacConkey, ágar-EMB e ágar-chocolate	Causa incomum de pneumonia. Em geral, β-hemolítico e coagulase-positivo
		Enterobacteriaceae e outros bastonetes gram-negativos	Bastonetes gram-negativos	Ágar-sangue; de MacConkey ou ágar-EMB	Causam pneumonias associadas a hospital
		Anaeróbios e aeróbios mistos	Microbiota mista do trato respiratório; às vezes inúmeros PMN	Ágar-sangue, de MacConkey ou ágar-EMB; ágar anaeróbio	As amostras devem ser obtidas por broncoscopia ou aspiração transtraqueal; o escarro expectorado não é satisfatório para pesquisa de anaeróbios
Empiema torácico	Pus	Iguais aos da pneumonia ou infecção por microbiota mista	Microbiota mista	Ágar-sangue, de MacConkey ou ágar-EMB; meios anaeróbios	Em geral, pneumonia; microbiotas aeróbia e anaeróbia mistas provenientes da orofaringe
Abscesso hepático	Pus	<i>Escherichia coli</i> ; <i>Bacteroides fragilis</i> ; microbiota aeróbia ou anaeróbia mistas	Bacilos gram-negativos e microbiota mista	Ágar-sangue, de MacConkey ou ágar-EMB; meios anaeróbios	Comumente aeróbios e anaeróbios gram-negativos entéricos; considerar infecção por <i>Entamoeba histolytica</i>
Colecistite	Bile	Bastonetes aeróbios entéricos gram-negativos; considerar <i>Bacteroides fragilis</i>	Bastonetes gram-negativos	Ágar-sangue, de MacConkey ou ágar-EMB; condições anaeróbias	Em geral, bastonetes gram-negativos provenientes do trato gastrointestinal
Abscesso abdominal ou perirretal	Pus	Microbiota gastrointestinal	Microbiota mista	Ágar-sangue, de MacConkey ou ágar-EMB; meios anaeróbios	Microbiota intestinal aeróbia e anaeróbia; com maior frequência, crescimento de mais de 5 espécies
Febre entérica, febre tifoide	Sangue, fezes e urina	<i>Salmonella typhi</i>	Não recomendados	Ágar de MacConkey, ágar de Hektoen, ágar-sulfito de bismuto; outros	Devem-se cultivar várias amostras; lactose-negativo. Produção de H ₂ S

(continua)

QUADRO 47.2 Localização comum de infecções bacterianas e nocardiose (continuação)

Doença	Amostra	Agentes etiológicos comuns	Achados microscópicos habituais	Meios de cultura	Comentários
Enterite, enterocolite, diarreias bacterianas, "gastroenterite"	Fezes	Espécies de <i>Salmonella</i> diferentes de <i>Shigella typhi</i>	Coloração pelo método de Gram ou coloração por azul de metileno podem revelar a presença de PMN	Ágar de MacConkey, ágar de Hektoen, ágar-sulfito de bismuto; outros	Colônias que não fermentam a lactose em ágar TSI ^a inclinado: as salmonelas não tifoídes produzem ácido e gás na base, inclinação alcalina e H ₂ S
		Espécies de <i>Shigella</i>	A coloração pelo método de Gram ou a coloração por azul de metileno pode revelar a presença de PMN	Ágar de MacConkey, ágar de Hektoen, ágar-sulfito de bismuto; outros	Colônias que não fermentam a lactose em ágar TSI ^a inclinado: as Shigellae produzem reação alcalina na parte inclinada do tubo, base ácida sem gás
		<i>Campylobacter jejuni</i>	Bastonetes gram-negativos em forma de "asa de gaivota" e com frequência, presença de PMN	Meio Campy BAP ou similar	Incubar a 42°C; colônias oxidase-positivas; o esfregaço revela bastonetes "em forma de asa de gaivota"
		<i>Vibrio cholerae</i>	Não recomendados	Ágar com sacarose, tiosulfato, sais biliares (TCBS); outros. Caldo de taurocolato-peptona para enriquecimento	Colônias amarelas em TCBS. <i>Vibrio cholerae</i> é oxidase-positivo
		Outros vibriões	Não recomendados	Iguais aos de <i>V. cholerae</i>	Diferenciar do <i>V. cholerae</i> por testes bioquímicos e cultura
		<i>Yersinia enterocolitica</i>	Não recomendados	Ágar de MacConkey, CIN	O enriquecimento a 4°C é útil; incubar as culturas a 25°C
Colite hemorrágica e síndrome urêmica-hemolítica	Fezes	<i>Escherichia coli</i> O157:H7 e outros sorotipos	Não recomendados	Meio MacConkey com sorbitol	Procurar por colônias sorbitol-negativas, tipar com antissoro para o antígeno O 157 e antígeno flagelar 7; Elisa para toxinas <i>shiga-like</i> é o teste preferido.
Infecção do trato urinário	Urina (amostra de jato médio com técnica asséptica ou amostra obtida por cateterização vesical ou aspiração suprapúbica)	<i>Escherichia coli</i> , Enterobacteriaceae; outros bastonetes gram-negativos	Bastonetes gram-negativos visualizados no esfregaço corado de urina não centrifugada indica mais de 10 ⁵ microrganismos/mL	Ágar-sangue; de MacConkey ou ágar-EMB	As colônias acinzentadas que são β-hemolíticas e produzem teste positivo com indol são geralmente <i>E. coli</i> ; outras exigem testes bioquímicos adicionais
Uretrite/cervicite	Swab	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	Diplococos gram-negativos no interior dos PMN. Específicos para corrimento uretral em homens; menos confiáveis em mulheres	Meio de cultura de Thayer-Martin modificado ou meio seletivo semelhante contendo antibióticos	O esfregaço corado positivo é diagnóstico no homem. São necessários cultura ou testes de amplificação de ácidos nucleicos na mulher. Os gonococos são oxidase-positivos
		<i>Chlamydia trachomatis</i>	PMN sem diplococos gram-negativos associados	Cultura em células McCoy tratadas com cicloeximidina	Inclusões em forma de crescente em células epiteliais evidenciadas por corantes ou imunofluorescência. Testes diretos de Elisa ou anticorpos fluorescentes podem ser úteis; os testes de amplificação de ácidos nucleicos são mais sensíveis

Doença	Amostra	Agentes etiológicos comuns	Achados microscópicos habituais	Meios de cultura	Comentários
Úlceras genitais	Swab	<i>Haemophilus ducreyi</i> (cancroide)	Microbiota mista	Ágar-chocolate com IsoVitaleX e vancomicina	O diagnóstico diferencial de úlceras genitais inclui infecção por herpes simples
		<i>Treponema pallidum</i> (sífilis)	O exame de campo escuro ou com anticorpo fluorescente revela os espiroquetas	Nenhum	
	Pus aspirado dos linfonodos supurados	<i>Chlamydia trachomatis</i> (linfogranuloma venéreo)	PMN sem diplococos gram-negativos associados	Cultura do pus em cultura de células (como na uretrite)	
Doença inflamatória pélvica	Swab cervical	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	PMN com diplococos gram-negativos associados; pode haver microbiota mista	Meio de Thayer-Martin modificado ou meio seletivo similar contendo antibióticos; testes de amplificação de ácidos nucleicos preferidos	Os microrganismos causadores podem ser gonococos, anaeróbios e outros. Os anaeróbios estão sempre presentes na endocérvice; logo, a amostra endocervical não é apropriada para cultura anaeróbia
		<i>Chlamydia trachomatis</i>	Ver acima; testes de amplificação de ácidos nucleicos são preferidos	Cultura celular (como para uretrite)	
	Aspirado do fundo de saco ou por laparoscopia	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	Diplococos gram-negativos no interior ou sobre os PMN	Meio de Thayer-Martin modificado	
		<i>Chlamydia trachomatis</i>	Ver acima	Cultura celular (como para uretrite)	
		Microbiota mista	Microbiota mista	Ágar-sangue, ágar de MacConkey ou ágar-EMB; meio anaeróbio	Em geral, bactérias anaeróbias e aeróbias mistas
Artrite	Aspirado articular, sangue	<i>Staphylococcus aureus</i>	Cocos gram-positivos em pares, tétrades e aglomerados	Ágar-sangue; ágar-chocolate ^a	Ocorre tanto em crianças quanto em adultos; coagulase-positivo; em geral β-hemolítico
		<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	Diplococos gram-negativos no interior ou sobre os PMN	Meio de Thayer-Martin modificado	
		Outros	A morfologia depende do microrganismo	Ágar-sangue, ágar-chocolate ^a ; meios anaeróbios	
Osteomielite	Pus ou amostra de osso obtida por aspiração ou cirurgia	Múltiplos; frequentemente <i>S. aureus</i>	A morfologia depende do microrganismo	Ágar-sangue, ágar de MacConkey, ágar-EMB; meios anaeróbios	Em geral, microrganismos aeróbios; <i>S. aureus</i> é o mais comum; bastonetes gram-negativos frequentes; anaeróbios menos comuns

TSI, triple sugar iron ágar; CIN, cefsulodin-irgasan-novobiocin medium; Elisa, enzima imunoensaio.

^aUm suplemento químico como o IsoVitaleX reforça o crescimento de *Haemophilus* e espécies de *Neisseria*.

serem cultivadas à procura de anaeróbios obrigatórios devem ser semeadas em pelo menos dois outros tipos de meio, inclusive ágar ricamente suplementado, como o ágar de *Brucella* com hemina e vitamina K, e um meio seletivo contendo substâncias que inibem o crescimento dos bastonetes gram-negativos entéricos e cocos gram-positivos anaeróbios facultativos ou anaeróbios.

Muitos outros meios de cultura especializados são utilizados em bacteriologia diagnóstica, e sua escolha depende do diagnóstico clínico e do microrganismo sob suspeita. A equipe do laboratório seleciona os meios de cultura específicos com base nas informações fornecidas no pedido de cultura. Por conseguinte, utiliza-se um meio de cultura contendo carvão ativado ou meio de Bordet-Gengou recém-preparado para a cultura de *B. pertussis* no diagnóstico da coqueluche, enquanto para a cultura de *Vibrio cholerae*, *Corynebacterium diphtheriae*, *Neisseria gonorrhoeae* e espécies de *Campylobacter* são utilizados outros meios especiais. Para a cultura de micobactérias, são utilizados comumente meios sólidos e líquidos especializados. Esses meios de cultura podem conter inibidores de outras bactérias. Como muitas micobactérias crescem lentamente, as culturas devem ser incubadas e examinadas periodicamente durante várias semanas (ver Cap. 23).

As culturas em caldo em meios altamente enriquecidos são importantes para culturas de tecidos obtidos de biópsia e líquidos orgânicos, como o LCS. As culturas em caldo podem fornecer resultados positivos quando não há crescimento em meios sólidos, devido ao pequeno número de bactérias presente no inóculo (ver anteriormente).

Muitas leveduras crescem em ágar-sangue. Os fungos bifásicos e na fase de micélio crescem mais satisfatoriamente em meios específicos para fungos. O ágar em infusão de cérebro-coração, com e sem antibióticos, e o ágar inibidor de fungos filamentosos substituíram, em grande parte, o uso tradicional do ágar-glicose de Sabouraud para o crescimento de fungos. Os meios de cultura preparados com materiais vegetais e de plantas, que constituem o *habitat* natural de muitos fungos, também permitem o crescimento de muitos fungos causadores de infecções. As culturas para fungos costumam ser efetuadas em conjuntos de pares, sendo um conjunto incubado entre 25 e 30°C e o outro entre 35 e 37°C. No Quadro 47.3, apresentamos um resumo das amostras e dos outros testes utilizados no diagnóstico de infecções fúngicas.

Em adição aos meios padrões e seletivos, meios que incorporam antibióticos e enzimas cromogênicas*, que permi-

* N. de R.T. Em geral, esses meios apresentam substratos cromogênicos adicionados a uma base nutricionalmente rica, permitindo o crescimento dos microrganismos de interesse e a sua identificação presuntiva pela coloração apresentada de suas colônias no meio. Há várias formulações, mas o princípio básico é quase sempre o mesmo: liberação de radicias cromogênicas (colorido) após clivagem do seu sal incolor por uma via enzimática do microrganismo. As vias mais comumente exploradas são da β galactosidase e β glicuronidase. Como exemplos de meios cromogênicos, pode-se citar o CHROMagar *Staphylococcus* e o agar *S. aureus* ID. No CHROMagar, o *S. aureus* apresenta colônias violetas e outras bactérias como *S. epidermidis*, transparentes, azuis ou beges. Já no meio *S. aureus* ID, *S. aureus* apresenta colônias esverdeadas. É possível também detectar MRSA por esses meios pela adição de metilicina e oxacilina, como no caso do *Blue chromogenic*, em que as colônias de MRSA são azuis. Há também diferentes cromogênicos para detecção de *E. coli*, *Clostridium perfringens*, O157H7 (sorbitol negativo), *Listeria monocytogenes* e amostras produtoras de β lactamase extendidas (ESBL).

tem a identificação presuntiva do microrganismo isolado pela coloração de suas colônias. Esses meios, embora ainda caros, aumentam a sensibilidade inibindo a microbiota e permitindo que os patógenos de interesse sejam mais facilmente reconhecidos. Em geral, esses meios são principalmente utilizados para vigilância epidemiológica e para urinocultura.

Detecção de antígenos

Os sistemas imunológicos planejados para a detecção de antígenos de microrganismos podem ser utilizados no diagnóstico de infecções específicas. Os testes de IF (testes com anticorpos fluorescentes diretos e indiretos) constituem uma forma de detecção de antígenos, sendo discutidos em seções deste capítulo pertinentes ao diagnóstico de infecções causadas por bactérias, clamídias e vírus, bem como nos capítulos que tratam dos microrganismos específicos.

Os **ensaios imunoenzimáticos**, ou o **ensaio imunoadsorvente ligado a enzima (Elisa)**, e os testes de aglutinação são utilizados para detecção de antígenos de agentes infecciosos presentes em amostras clínicas. Os princípios desses testes são considerados aqui de modo sucinto.

Existem muitas variações dos Elisa para detecção de antígenos. Uma forma comumente utilizada consiste na ligação de um anticorpo específico para o antígeno em questão aos orifícios de placas de microdiluição de plástico. A amostra que contém o antígeno é incubada nos orifícios, seguida de sua lavagem. Um segundo anticorpo para o antígeno, marcado com enzima, é utilizado para detectar o antígeno. O acréscimo do substrato para a enzima permite a detecção do antígeno ligado por meio de reação colorimétrica. Uma modificação significativa no Elisa consiste no desenvolvimento de membranas imunocromatográficas para a detecção de antígenos. Neste formato, uma membrana de nitrocelulose é utilizada para absorver o antígeno presente na amostra. Uma reação colorimétrica ocorre diretamente na membrana com a adição sequencial do conjugado, seguida do substrato. Em alguns formatos, o antígeno é capturado pela ligação do anticorpo dirigido contra o antígeno. Tais ensaios têm a vantagem de serem rápidos e incluem, com frequência, um controle positivo. Um exemplo desse tipo de ensaio é o teste para antígeno urinário Binax NOW *Streptococcus pneumoniae*. Em alguns Elisa, não é necessário utilizar o anticorpo inicial, visto que o antígeno se liga diretamente ao plástico dos orifícios. Os Elisa são utilizados para detectar antígenos virais, bacterianos, clamidiais, de protozoários e de fungos em uma variedade de tipos de amostras, como fezes, líquido cefalorraquiano, urina e amostras respiratórias. Os diversos exemplos são discutidos nos capítulos que tratam dos agentes etiológicos específicos.

Nos testes de aglutinação do látex, um anticorpo específico do antígeno (policlonal ou monoclonal) é fixado a partículas de látex. Quando se adiciona a amostra clínica a uma suspensão de partículas de látex, os anticorpos ligam-se aos antígenos presentes no microrganismo, formando uma estrutura semelhante a uma treliça, e ocorre aglutinação das partículas. A coaglutinação assemelha-se à aglutinação do látex, exceto quanto ao fato de que se utilizam estafilococos ricos em proteína A (cepa Cowan I) em vez de partículas de látex. A coaglutinação é menos útil para a detecção de antígenos em comparação com a aglutinação do látex; todavia, é útil quando aplicada para a

QUADRO 47.3 Infecções fúngicas comuns e nocardiose: agentes, amostras e testes diagnósticos

	Amostra	Provas sorológicas e outros testes	Comentários
Micoses invasivas (de localização profunda)			
Aspergilose: <i>Aspergillus fumigatus</i> , outras espécies de <i>Aspergillus</i>			
Pulmonar	Secreções respiratórias	Galactomanano sérico está disponível; a sensibilidade e especificidade são variáveis	A sorologia raramente é útil
Disseminada	Amostra de biópsia, sangue	Como anteriormente	O <i>Aspergillus</i> dificilmente cresce bem a partir do sangue de pacientes com infecção disseminada
Blastomicose: <i>Blastomyces dermatitidis</i>			
Pulmonar	Secreções respiratórias	Fixação do complemento; testes imunoenzimáticos (Elisa)	O teste de fixação do complemento é geralmente negativo; por isso não tem muita utilidade. Os Elisa são mais sensíveis, mas menos específicos. A cultura constitui o melhor método diagnóstico; a sorologia raramente é feita. Os antígenos urinários dão reações cruzadas com outros fungos
Úlceras orais e cutâneas	Amostra de biópsia ou de <i>swab</i>	Fixação do complemento, Elisa, antígeno urinário	
Osso	Biópsia óssea	Fixação do complemento, Elisa, antígeno urinário	
Coccidioomicose: <i>Coccidioides immitis</i>			
Pulmonar	Secreções respiratórias	Fixação do complemento, imunodifusão, testes de anticorpos, aglutinação em látex, Elisa, sondas de DNA (confirmação pela cultura)	O <i>C. immitis</i> cresce em culturas de rotina em ágar-sangue; as culturas representam um sério risco para os laboratoristas. A cultura deve ser confirmada por sondas de DNA. Com frequência, a sorologia é mais útil do que a cultura
Disseminada	Amostra de biópsia do local de infecção, por exemplo pele, osso	Conforme indicado acima, exceto que o teste cutâneo com coccidioidina pode ser negativo	
Histoplasmose: <i>Histoplasma capsulatum</i>			
Pulmonar	Secreções respiratórias	Fixação do complemento, imunodifusão, testes de anticorpos, teste de antígeno de histoplasma na urina (mais sensível), soro e lavado broncoalveolar	A sorologia é de grande utilidade, mas pouco sensível em pacientes imunodeprimidos. Confirmação por cultura ou sondas de DNA
Disseminada	Medula óssea, sangue, amostra de biópsia do local da infecção	Conforme indicado anteriormente	
Nocardiose: <i>Complexo Nocardia asteroides</i>			
Pulmonar	Secreções respiratórias	Coloração álcool-acidorresistente modificada	As nocardias são bactérias que se comportam clinicamente como fungos. Os bastonetes gram-negativos filamentosos, ramificados e fracamente álcool-acidorresistentes são <i>Nocardia</i> . A sorologia raramente é utilizada
Subcutânea	Aspirado ou biópsia do abscesso	Ir crescer em meios padrões de laboratório	
Cerebral	Material de abscesso cerebral		

(continua)

QUADRO 47.3 Infecções fúngicas comuns e nocardiose: agentes, amostras e testes diagnósticos (continuação)

	Amostra	Provas sorológicas e outros testes	Comentários
Paracoccidioidomicose (Blastomicose da América do Sul): <i>Paracoccidioides brasiliensis</i>			
	Amostra de biópsia de lesão	Imunodifusão, Fixação do complemento, teste cutâneo (paracoccidioidina) não é confiável para o diagnóstico	O teste de imunodifusão apresenta 95% de sensibilidade e especificidade; o teste de fixação do complemento e o teste cutâneo exibem reação cruzada com a histoplasmina. O teste cutâneo positivo apresenta valor prognóstico
Esporotricose: <i>Sporothrix schenckii</i>			
Nódulos cutâneos e subcutâneos	Amostra de biópsia	Aglutinação	A cultura é mais útil que a sorologia
Disseminada	Amostra de biópsia do local infectado	Conforme indicado anteriormente	
Zigomicose: espécies de <i>Rhizopus</i> , espécies de <i>Mucor</i> , outros			
Rinocerebral	Tecido naso-orbital	Nenhum	Hifas não septadas observadas em cortes microscópicos
Cutânea, pulmonar e disseminada	Secreções respiratórias, amostras de biópsia	Nenhum	A cultura é útil
Infecções por levedura			
Candidíase: <i>Candida albicans</i> e leveduras similares ^a			
Membrana mucosa	Secreções	Preparações a fresco com KOH são úteis para exame microscópico na infecção localizada	Geralmente de fácil cultivo a partir do material clínico
Pele	Amostra de <i>swab</i>		
Sistêmica	Sangue, amostra de biópsia, urina	Imunodifusão	Como a anterior. A sorologia raramente é útil
Criptococose: <i>Cryptococcus neoformans</i>			
Pulmonar	Secreções respiratórias	O antígeno criptocócico raramente é detectado	Anticorpos para <i>Cryptococcus neoformans</i> raramente são encontrados
Meningite	LCS	A detecção do antígeno criptocócico é mais útil	Pode ser necessário o exame repetido do LCS para o diagnóstico de meningite
Disseminada	Medula óssea, osso, sangue, outros	Antígeno criptocócico no soro	
Infecções cutâneas primárias			
Dermatofitose: espécie <i>Microsporum</i> , espécie <i>Epidermophyton</i> , espécie <i>Trichophyton</i> .			
	Cabelo, pele, unhas de locais infectados	Nenhum	Podem ser cultivados em ágar para dermatófitos

^a *Candida tropicalis*, *Candida parapsilosis*, *Candida glabrata* e outras espécies de *Candida*.

Elisa, ensaio imunoenzimático.

identificação de bactérias em culturas tais como *S. pneumoniae*, *Neisseria meningitidis*, *N. gonorrhoeae* e estreptococos β -hemolíticos.

Os testes de aglutinação do látex têm por objetivo principal a detecção de antígenos dos carboidratos de microrganismos encapsulados. A detecção de antígenos é utilizada mais frequentemente no diagnóstico de faringite por estreptococos do grupo A. Em pacientes com Aids ou outras doenças imunossupressoras, a detecção de antígeno criptocócico mostra-se útil no diagnóstico de meningite criptocócica.

A sensibilidade dos testes de aglutinação do látex no diagnóstico de meningite bacteriana pode não ser superior à da coloração pelo método de Gram, de aproximadamente 100.000 bactérias por mililitro. Por esse motivo, não se recomenda o teste de aglutinação do látex para testes diretamente a partir da amostra clínica.

Imunoensaio de Western blot

Estes ensaios são realizados para detectar anticorpos contra antígenos específicos de um determinado microrganismo. Este método é baseado em separação eletroforética das principais proteínas do organismo em questão por eletroforese bidimensional em gel de agarose*. Os microrganismos são rompidos mecânica ou quimicamente e o solubilizado resultante do microrganismo contendo o antígeno é colocado em um gel de poliácridamida. Uma corrente elétrica é aplicada e as proteínas principais são separadas com base em seu tamanho (proteínas pequenas migram mais rápido). As bandas de proteínas são transferidas para fitas de nitrocelulose. Estas são incubadas com a amostra do paciente contendo anticorpo (geralmente soro), os anticorpos ligam-se às proteínas na fita e são detectados enzimaticamente de modo semelhante ao dos métodos de Elisa descritos anteriormente. Os testes de *Western blot* são usados como testes específicos para a infecção por HIV e doença de Lyme.

Diagnóstico molecular

O princípio básico dos primeiros testes de diagnóstico molecular é a hibridização de uma **sonda de ácido nucleico** caracterizada para uma sequência específica de ácido nucleico em uma amostra do teste, seguida de detecção do híbrido pareado. Assim, por exemplo, utiliza-se uma sonda de DNA de fita simples (ou de RNA) para detectar o RNA complementar ou o DNA desnaturado em uma amostra de teste. A sonda de ácido nucleico é tipicamente marcada com enzimas, substratos antigênicos, moléculas quimioluminescentes ou radioisótopos para facilitar a detecção do produto de hibridização. Ao selecionar cuidadosamente a sonda ou produzir um **oligonucleotídeo** específico e efetuar a hibridização em condições de extremo rigor, a detecção do ácido nucleico na amostra do teste pode ser extremamente específica. Esses testes atualmente são utilizados principalmente para a rápida confirmação de um patógeno após a detecção de seu crescimento, como, por exemplo,

* N. de R.T. Nem sempre é necessária a realização de eletroforese bidimensional para a separação das proteínas antigênicas em *Western blot* para a detecção de anticorpos. Em muitos casos, somente a separação por tamanho em gel de poliácridamida é suficiente para as finalidades de detecção dos anticorpos específicos do patógeno em questão.

a identificação de *Mycobacterium tuberculosis* em cultura utilizando o sistema Gen-Probe Inc. (San Diego, CA, EUA). O teste Gen-Probe é um exemplo de um teste de hibridização no qual a sonda e o alvo estão em solução. A maioria das aplicações em uso nos laboratórios de microbiologia clínica utiliza o formato de hibridização em solução. A hibridização *in situ* envolve o uso de sondas de DNA ou RNA marcados para detectar o ácido nucleico complementar em tecidos fixados em formalina ou embebidos em parafina, tecidos congelados ou preparações citológicas em lâminas. Tecnicamente, eles podem ser difíceis e geralmente são realizados em laboratórios de histologia e não em laboratórios de microbiologia clínica. Entretanto, esta técnica tem aumentado o conhecimento da biologia de muitas doenças infecciosas, especialmente as hepatites e vírus oncogênicos, sendo ainda útil no diagnóstico de doenças infecciosas. Uma nova técnica, que é uma modificação da hibridização *in situ*, faz uso de sondas de ácido nucleico ligadas a peptídeos. As sondas de peptídeos e ácidos nucleicos são sintetizadas em peças de DNA nas quais o esqueleto de açúcar e fosfato do DNA (normalmente com carga negativa) é substituído por uma unidade repetitiva de poliamida (carga neutra). Dessa forma, as bases nucleotídicas individuais podem ser ligadas a esse novo esqueleto neutro, que permite a realização de hibridizações mais rápidas e específicas com os ácidos nucleicos complementares. Uma vez que são sintéticas, essas sondas não estão sujeitas a degradação por nucleases ou outras enzimas. Uma empresa dos EUA (AdvanDx, Woburn MA) comercializa inúmeros ensaios de confirmação de *Staphylococcus aureus*, enterococos, algumas espécies de *Candida* e alguns bacilos gram-negativos em meios de hemocultura positivos depositados no FDA. A hibridização com sonda detectada por fluorescência é chamada técnica de fluorescência de hibridização *in situ* de peptídeo de ácidos nucleicos (*Peptide Nucleic Acid-Fluorescence In Situ Hybridization* [PNA-FISH]).

A. Identificação de bactérias por meio do RNAr 16S

O RNAr 16S de cada espécie de bactéria apresenta porções estáveis (conservadas) da sequência. Existem muitas cópias em cada microrganismo. São adicionadas sondas marcadas específicas para o RNAr 16S de uma espécie, e determina-se a quantidade do marcador sobre o híbrido de fita dupla. Essa técnica é amplamente utilizada para rápida identificação de inúmeros microrganismos. São exemplos as espécies mais comuns e importantes de *Mycobacterium*, *C. immitis*, *Histoplasma capsulatum* e outros microrganismos.

O RNAr 16S apresenta regiões conservadas em muitas espécies de microrganismos. A amplificação do RNAr 16S por meio de *primers* (sequências iniciadoras) dessas regiões conservadas permite o isolamento e a determinação da sequência das regiões variáveis das moléculas. Essas sequências variáveis constituem marcadores específicos de gênero ou de espécie que permitem a identificação dos microrganismos. Os patógenos cuja cultura no laboratório é difícil ou impossível têm sido identificados por meio dessa técnica. Um exemplo é fornecido pelo *Tropheryma whipplei*, a causa da doença de Whipple.

Os ensaios diagnósticos moleculares que utilizam a amplificação de ácidos nucleicos passaram a ser largamente utilizados e estão evoluindo rapidamente. Estes sistemas de amplificação podem ser divididos em várias categorias básicas, descritas a seguir.

B. Sistemas de amplificação de alvos

Nesses ensaios, o DNA ou RNA-alvo são amplificados inúmeras vezes. A **reação em cadeia da polimerase (PCR)** é utilizada para amplificar quantidades extremamente pequenas de DNA específico em uma amostra clínica, permitindo a detecção do DNA que, de outro modo, estaria presente em quantidades diminutas. A PCR utiliza uma DNA-polimerase termoestável para produzir uma amplificação de 2 vezes do DNA-alvo a cada ciclo de temperatura. PCR convencional utiliza três reações sequenciais — desnaturação, anelamento e extensão — da maneira relatada a seguir. O DNA extraído da amostra clínica, juntamente com *primers* de oligonucleotídeos específicos da sequência, nucleotídeos, DNA-polimerase termoestável e tampão, é aquecido a 90 a 95°C para desnaturar (separar) as duas fitas do DNA-alvo. A temperatura na reação é reduzida, em geral para 45 a 60°C conforme os *primers*, para permitir a fusão dos *primers* ao DNA-alvo. Em seguida, cada *primer* é amplificado pela DNA-polimerase termoestável mediante o acréscimo de nucleotídeos complementares ao DNA-alvo, produzindo 2 vezes a amostra inicial. Depois, o ciclo é repetido 30 a 40 vezes para se obter uma amplificação do segmento do DNA-alvo de até 10^5 a 10^6 vezes. O segmento amplificado às vezes pode ser observado em gel de eletroforese ou detectado pela análise *Southern blot*, por meio de sondas de DNA marcadas específicas para o segmento ou por uma variedade de técnicas comerciais. Mais recentemente, essas técnicas têm sido substituídas por protocolos de PCR em tempo real (*real-time PCR* [RTq-PCR]).

A PCR também pode ser efetuada em alvos de RNA, sendo denominada, nesse caso, **PCR para transcriptase reversa (reverse transcriptase PCR [RT-PCR])**. A enzima transcriptase reversa é utilizada para transcrever o RNA em DNA complementar para amplificação.

Estão disponíveis comercialmente ensaios de PCR para identificação de um grande número de patógenos bacterianos e virais, tais como *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Mycobacterium tuberculosis*, citomegalovírus e enterovírus. Existe também um ensaio para testar a carga viral do HIV-1. Há muitos outros tipos de PCR desenvolvidos por laboratórios particulares para o diagnóstico de infecções. Esses ensaios constituem os testes de escolha para o diagnóstico de várias infecções — particularmente quando as técnicas tradicionais de cultura e detecção de antígenos não funcionam bem. São exemplos o exame do LCS para detecção do herpes-vírus simples no diagnóstico de encefalite herpética e o exame do líquido do lavado de nasofaringe para o diagnóstico de infecção por *Bordetella pertussis* (coqueluche).

Quanto aos laboratórios que efetuam ensaios de PCR, é muito importante prevenir a contaminação dos reagentes ou das amostras com DNA-alvo do ambiente, o que pode obscurecer a distinção entre resultados verdadeiramente positivos e resultados falsos positivos em decorrência de contaminação.

C. Sistemas de amplificação com sondas

A **reação em cadeia da ligase (LCR)** é um sistema de amplificação diferente da PCR. A LCR utiliza DNA-polimerase e DNA-ligase termoestáveis; emprega quatro sondas de oligonucleotídeos, tendo cada uma delas 20 a 24 bases. Cada par de oligonucleotídeos é elaborado para ligar-se ao DNA-alvo desnaturado com apenas algumas bases de distância. Os

oligonucleotídeos são misturados com DNA-alvo extraído da amostra e outros reagentes e, em seguida, aquecidos para desnaturar o DNA-alvo. A reação é então resfriada para permitir a ligação das sondas de oligonucleotídeos ao DNA-alvo. A curta lacuna existente entre as duas sondas é preenchida pela DNA-polimerase e ligada pela DNA-ligase, produzindo moléculas de DNA de fita dupla de 40 a 50 pb de comprimento. O ciclo é repetido 30 a 40 vezes, produzindo um grande número de moléculas de DNA. Este sistema comercialmente disponível inclui a detecção automática do DNA amplificado, podendo ser utilizado para a detecção de *C. trachomatis* e *N. gonorrhoeae*; não está disponível nos EUA.

D. Técnicas de amplificação de sinais

Esses ensaios intensificam o sinal ao amplificar o marcador (p. ex., fluorocromos, enzimas) fixado ao ácido nucleico visado. O sistema de **DNA ramificado (branched) (bDNA)** apresenta uma série de sondas primárias e uma sonda secundária ramificada, marcada com enzima. Várias sondas de oligonucleotídeos específicas para o RNA (ou DNA) visado são fixadas a uma superfície sólida como placa de microdiluição. Constituem as sondas de captação. Adiciona-se a amostra preparada, e as moléculas de RNA fixam-se às sondas de captação sobre a placa de microdiluição. Sondas-alvo adicionais ligam-se ao alvo, mas não à placa. As sondas amplificadoras de bDNA ligadas a enzimas são adicionadas e fixam-se às sondas-alvo. Adiciona-se um substrato quimioluminescente, e a luz emitida é medida para se quantificar a quantidade de RNA-alvo. São exemplos do uso desse tipo de ensaio a determinação quantitativa do HIV-1, a do vírus da hepatite C e a do vírus da hepatite B.

E. Métodos de amplificação: não baseados em PCR

Os sistemas de **amplificação mediada por transcrição (transcription-mediated amplification [TMA])** e de **amplificação baseada na sequência de ácidos nucleicos (nucleic acid sequence-based amplification [NASBA])** amplificam grandes quantidades de RNA em ensaios isotérmicos que utilizam coordenadamente as enzimas transcriptase reversa, RNase H e RNA-polimerase. Um *primer* de oligonucleotídeo, contendo o promotor da RNA-polimerase, liga-se ao alvo de RNA. A transcriptase reversa efetua uma cópia do cDNA de fita simples a partir do RNA. A RNase H destrói o RNA do híbrido RNA-cDNA, e um segundo *primer* une-se ao segmento de cDNA. A atividade de DNA-polimerase da transcriptase reversa dependente de DNA amplifica o DNA a partir do segundo *primer*, produzindo uma cópia do DNA de fita dupla, com RNA-polimerase íntegra. Em seguida, a RNA-polimerase produz inúmeras cópias do RNA de fita simples. A detecção de *C. trachomatis*, *N. gonorrhoeae* e *Mycobacterium tuberculosis*, bem como a quantificação da carga viral de HIV-1 são exemplos do uso desses tipos de ensaio.

Os **ensaios de deslocamento de fitas (SDA)** são ensaios de amplificação isotérmicos que utilizam a endonuclease de restrição e a DNA-polimerase. As endonucleases clivam o DNA em sequências específicas, permitindo que a DNA polimerase inicie a replicação a partir das regiões da clivagem e simultaneamente abra as fitas clivadas. A amplificação isotérmica de DNA mediada por *loop* (Loop-mediated isothermal amplification [LAMP])

recebe esse nome devido ao fato do amplicon final conter múltiplos *loops* (repetições) da sequência-alvo. A reação é isotérmica e consiste na síntese da fita aberta de DNA, usando a DNA polimerase *Bst* e quatro ou seis pares de *primers*. Os produtos da amplificação podem ser detectados em tempo real pela precipitação do DNA com a adição de pirofosfato de magnésio. A reação cria uma turvação que pode ser observada visualmente, ou por meio de um espectrofotômetro. O método é muito sensível, detectando um número menor do que 10 cópias das sequências alvo por reação. Um ensaio comercial usando a tecnologia LAMP está disponível para detecção de *C. difficile* nas fezes.

F. PCR em tempo real

Os avanços tecnológicos que levaram à “amplificação em tempo real” remodelaram as plataformas de amplificação dos ácidos nucleicos, aumentando a sensibilidade dos testes de amplificação e reduzindo drasticamente o potencial de contaminação. Os instrumentos de tempo real substituíram os blocos sólidos usados nos termocicladores convencionais, com a vantagem de permitirem ciclos de PCR mais rápidos. Os melhoramentos na química das reações de amplificação dos ácidos nucleicos resultaram em misturas de reação homogêneas nas quais compostos fluorogênicos estão presentes no mesmo tubo de reação em que ocorre a amplificação. Uma variedade de moléculas fluorogênicas é utilizada, tais como corantes não específicos, como o verde de SYBR, que se liga à fenda menor da dupla fita do DNA, e métodos específicos de detecção dos amplicons, por meio de sondas de oligonucleotídeos marcados com fluorescência, que podem ser classificados em três categorias: TaqMan ou sondas de hidrólise; sondas de transferência de energia fluorescente (FRET); e balizas (*beacons*) moleculares. Uma discussão completa sobre esses métodos foge ao escopo deste capítulo. O leitor pode consultar o livro editado por Persing e colaboradores, indicado na bibliografia, no final do capítulo. Todos esses métodos permitem a medida da fluorescência emitida em cada ciclo de amplificação, isto é, o acesso em “tempo real” dos resultados. Como os tubos de reação não precisam ser abertos para analisar os produtos de PCR em um gel, existe menor risco de contaminação com os amplicons para uma próxima amplificação.

Espectrometria de Massa

A espectrometria de massa (mass spectrometry [MS]), uma tecnologia usada para análise de proteínas ou de DNA, revolucionou a abordagem da identificação microbiológica nos laboratórios clínicos. A MS emprega métodos como radiação ionizante para quebra do material a ser analisado, formando partículas carregadas que são identificadas por diferentes métodos baseados na massa ou na razão massa-carga. A aplicação dessa ferramenta na microbiologia somente foi possível pelos avanços tecnológicos, tais como a espectrometria de massa por tempo de voo com dessorção/ionização de matriz assistida por *laser* (matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry [MALDI-TOF-MS]). Alguns desses métodos estão resumidamente descritos adiante.

A tecnologia de MassTag PCR permite incorporar no amplicon final, de uma reação de PCR, uma marcação (*tag*) de massa conhecida (há disponível comercialmente uma biblioteca de

64 tags de massa concedida). Após reações de PCR multiplex, os tags são liberados por bombardeio de irradiação ultravioleta (UV) e analisados por MS. A identificação dos alvos desejáveis é determinada pelo tamanho da tags*.

A espectrometria de massa, com ionização por *electrospray* acoplado a PRC (PRC *electrospray* ionization mass spectrometry [PRC-ESI-MS]) (Ibis Biosciences, Inc., Carlsbad, CA), usa um princípio único. Em linhas gerais, um conjunto de *primers* para PRC são utilizados para amplificação de regiões-chave no genoma microbiano. A reação de PRC multiplex é realizada em placa de microtitulação para análise de cada amostra, sendo que alguns poços contêm mais de um par de *primers*. Após PCR, as placas de microtitulação são colocadas em um aparelho automatizado e a análise por ESI-MS se inicia. O espectrômetro de massa é uma ferramenta analítica, que com alta acurácia quantifica os amplicons, baseado na sua composição de A, G, C e T. A composição obtida é confrontada com um banco de dados contido no software da plataforma Ibis.

As duas técnicas descritas permitem uma detecção direta do ácido nucleico do microrganismo, direto de uma amostra clínica sem necessidade de cultura, uma vez que usam reações de PCR. Outra aplicação é usar o MALDI-TOF para identificação de bactérias e fungos a partir de cultura microbiológica. Duas plataformas comerciais, o MALDI *Biotyper* (Bruker Daltonics, Billerica, MA) e o Shimadzu (bioMerieux, Inc., Durham, NC) são direcionadas para proteínas ribossômicas das bactérias e dos fungos. O princípio básico de ambos os sistemas envolve a realização de um esfregaço fino do microrganismo isolado ou da amostra clínica em uma lâmina metálica, que é submetida a uma matriz ácida. Em seguida, a lâmina é colocada no aparelho em que a amostra clínica ou o isolado clínico são bombardeados por pulsos de *laser*. As pequenas moléculas adsorvidas e deionizadas são aceleradas dentro de um campo eletrostático, em um tubo de vácuo, até entrarem em contato com o detector do aparelho. As moléculas de diferentes massas e cargas “voam” com velocidades variadas (tempo de voo). Uma assinatura espectral em geral na faixa de 1.000 a 20.000 de razão massa-carga (*m/z*) é gerada. Por fim, esta assinatura é comparada com a base de dados de cada aparelho para a determinação do gênero e espécie do microrganismo.

A IMPORTÂNCIA DAS MICROBIOTAS BACTERIANA E FÚNGICA NORMAIS

Certos microrganismos, como o *M. tuberculosis*, *Salmonella typhi* e espécies de *Brucella*, são considerados patógenos sempre que encontrados em pacientes. Todavia, muitas infecções são causadas por microrganismos que constituem membros permanentes ou transitórios da microbiota normal. Assim, por exemplo, a *Escherichia coli* faz parte da microbiota gastrintestinal normal e constitui a causa mais comum de infecções do trato urinário. De forma semelhante, a grande maioria das infecções

* N. de R.T. Por ser uma técnica rápida, sensível e econômica, tem sido usada para o diagnóstico diferencial das infecções respiratórias, bem como para o diagnóstico dos agentes causadores de meningoencefalites e doenças entéricas. Vários estudos confirmam a utilidade e a potencialidade da técnica para detectar rapidamente surtos, assim como na vigilância epidemiológica de patógenos virais e bacterianos.

bacterianas mistas por anaeróbios é causada por microrganismos que são membros da microbiota normal.

O número relativo de microrganismos encontrados em uma cultura é importante quando membros da microbiota normal são responsáveis pela infecção. Sempre que inúmeros bastonetes gram-negativos de espécies como a *Klebsiella pneumoniae* são encontrados em associação com algumas bactérias nasofaríngeas normais em cultura de escarro, há forte suspeita de que os bastonetes gram-negativos são a causa da pneumonia, visto que normalmente não se encontram grandes números de bastonetes gram-negativos no escarro ou na microbiota nasofaríngea. É necessário identificar os microrganismos. Já os abscessos abdominais costumam conter uma distribuição normal de microrganismos aeróbios, anaeróbios facultativos e anaeróbios obrigatórios representativos da microbiota gastrintestinal. Nesses casos, não se justifica a identificação de todas as espécies presentes, sendo mais apropriado relatar o achado de “microbiota gastrintestinal normal”.

Leveduras em pequeno número comumente fazem parte da microbiota normal. Todavia, outros fungos normalmente não estão presentes, de modo que devem ser identificados e registrados. Em geral, os vírus não fazem parte da microbiota normal detectada em laboratórios de diagnóstico microbiológico. Todavia, alguns vírus latentes — p. ex., o herpes-vírus ou vírus vivos de vacinas, como o poliovírus — aparecem ocasionalmente em culturas virais. Em algumas partes do mundo, as amostras de fezes comumente exibem evidências de infecção parasitária. Nesses casos, o número relativo de parasitos relacionados com o quadro clínico é importante.

Os membros da microbiota normal mais comumente encontrados em amostras de pacientes e que podem ser registrados como “microbiota normal” são discutidos no Capítulo 10.

O LABORATÓRIO COMO AUXILIAR NA SELEÇÃO DA TERAPIA ANTIMICROBIANA

O antimicrobiano utilizado inicialmente no tratamento de uma infecção é escolhido com base na impressão clínica após o médico estar convencido de que existe alguma infecção e ter estabelecido um diagnóstico etiológico presuntivo em bases clínicas. Com base nessa “melhor suposição”, pode-se selecionar um provável fármaco de escolha (ver Cap. 28). Antes da administração de tal fármaco, devem-se obter amostras para o isolamento do agente etiológico em laboratório. Os resultados desses exames podem exigir a opção por um fármaco diferente. A identificação de determinados microrganismos uniformemente suscetíveis a fármacos elimina a necessidade de testes adicionais e permite a seleção de fármacos de eficácia ótima com base apenas na experiência. Em outras circunstâncias, pode ser útil a realização de antibiogramas para microrganismos isolados (ver Cap. 28).

O teste de suscetibilidade de difusão em disco comumente empregado deve ser utilizado de modo criterioso e interpretado com restrição. Em geral, apenas um membro de cada classe principal de antimicrobiano é representado. Para os estafilococos, utilizam-se a penicilina G, oxacilina, cefazolina, eritromicina, gentamicina e vancomicina. Para os bastonetes gram-negativos, são incluídos os seguintes agentes: ampicilina, cefazolina e cefalosporinas de segunda e terceira gerações, piperacilina e

outras “penicilinas antipseudomonas”, carbapenêmicos, sulfametoxazol-trimetoprima, fluoroquinolonas e amiglicosídeos (amicacina, tobramicina, gentamicina). Para infecções das vias urinárias por bastonetes gram-negativos, podem-se acrescentar a nitrofurantoína, as quinolonas e a trimetoprima. A escolha dos antimicrobianos a serem incluídos em uma bateria rotineira de antibiograma deve basear-se nos padrões de suscetibilidade dos microrganismos isolados no laboratório, no tipo de infecção (adquirida na comunidade ou hospitalar), a fonte da infecção, bem como na análise do custo e da eficácia para a população de pacientes. O Instituto de Padronização Clínica e Laboratorial (The Clinical and Laboratory Standards Institute [CLSI]) fornece recomendações não somente na execução dos testes de difusão de disco e de concentração mínima inibitória (minimum inhibitory concentration [MIC]), mas, também, que grupos antibióticos devem ser testados para cada microrganismo específico.

Os tamanhos das zonas de inibição do crescimento variam de acordo com as características farmacológicas dos diferentes antimicrobianos. Assim, o tamanho da zona de um antimicrobiano não pode ser comparado ao da zona de outro antimicrobiano que atua sobre o mesmo microrganismo. Entretanto, para qualquer antimicrobiano, o tamanho da zona pode ser comparado com um padrão, contanto que o meio de cultura, o tamanho do inóculo e outras condições sejam cuidadosamente controlados, o que permite que se defina, para cada antimicrobiano, o diâmetro mínimo da zona de inibição que indica a “suscetibilidade” de determinado microrganismo isolado pela técnica de difusão em disco.

O teste do disco mede a capacidade dos antimicrobianos de inibirem o crescimento das bactérias. Os resultados correlacionam-se razoavelmente bem com a resposta terapêutica nos processos patológicos em que as defesas do hospedeiro frequentemente são capazes de eliminar os microrganismos infecciosos.

Em alguns tipos de infecção humana, os resultados dos testes com disco são de pouca valia (e podem ser enganosos) devido à necessidade de um efeito farmacológico bactericida para a cura. São exemplos notáveis a endocardite infecciosa, a osteomielite aguda e as infecções graves em um hospedeiro cujas defesas antibacterianas são inadequadas (p. ex., indivíduos com doenças neoplásicas que foram tratados com radioterapia e quimioterapia antineoplásica, ou indivíduos em uso de corticosteroides em altas doses e que estão imunossuprimidos).

Em vez do teste com disco, pode-se utilizar um teste semiquantitativo de MIC/CIM (concentração inibitória mínima), método que mede mais exatamente a concentração de um antimicrobiano necessária para inibir o crescimento de um inóculo padronizado em condições definidas. Utiliza-se um método de microdiluição semiautomático em que doses definidas do fármaco são dissolvidas em pequeno volume determinado de caldo e inoculadas com um número padronizado de microrganismos. O parâmetro de avaliação final, a concentração inibitória mínima, é considerado o último caldo (menor concentração do antimicrobiano) que permanece claro, ou seja, sem crescimento microbiano. A MIC fornece uma estimativa melhor da dose provável de antimicrobiano necessária para inibir o crescimento *in vivo*; por conseguinte, ajuda a avaliar o esquema posológico necessário para o paciente.

Os laboratórios de microbiologia clínica realizam testes de difusão em disco baseados na determinação da MIC e interpretam seus resultados usando protocolos estabelecidos pelo CLSI.

Além disso, ajudam a guiar as escolhas para terapia empírica antes que os testes de suscetibilidade estejam disponíveis; é recomendado pelo CLSI que os laboratórios publiquem anualmente os antibiogramas contendo os resultados dos testes de suscetibilidade em conjunto para determinadas combinações de microrganismo e antimicrobiano. Por exemplo, pode ser importante saber os betalactâmicos mais ativos contra *Pseudomonas aeruginosa* entre os pacientes em UTI em um determinado hospital, bem como o agente que pode ser empregado quando um paciente desenvolve uma infecção enquanto está nessa unidade.

Existem outros métodos para acessar a eficácia do tratamento antimicrobiano. Os efeitos bactericidas podem ser estimados ao se repicar o caldo claro em meios de cultura sólidos sem antimicrobianos. O resultado (p. ex., a redução das unidades formadoras de colônias em 99,9% abaixo do controle) é denominado **concentração bactericida mínima (minimal bactericidal concentration [MBC])**.

A escolha de um antimicrobiano bactericida ou de uma combinação de antimicrobianos para cada paciente pode ser orientada por testes laboratoriais especializados que medem a taxa de destruição ou a proporção da população microbiana destruída em determinado período.

Nas infecções do trato urinário, a atividade antibacteriana da urina é muito mais importante que a do soro. Do mesmo modo, para as infecções do sistema nervoso central somente agentes antimicrobianos que atravessam a barreira hematoencefálica devem ser testados e reportados (ver Cap. 28)

DIAGNÓSTICO DA INFECÇÃO COM BASE NO LOCAL ANATÔMICO

Feridas, tecidos, ossos, abscessos e líquidos

O estudo microscópico dos esfregaços e a cultura das amostras de feridas ou abscessos frequentemente fornecem indicações iniciais e importantes quanto à natureza do microrganismo infectante, ajudando, assim, na escolha dos antimicrobianos. As amostras das biópsias de tecido devem ser submetidas a exames bacteriológico e histológico. Essas amostras para exame bacteriológico são mantidas sem fixadores e desinfetantes, repicadas e cultivadas por uma variedade de métodos.

O pus em abscessos fechados e não drenados de tecidos moles frequentemente contém apenas um microrganismo como agente infectante; mais comumente, estafilococos, estreptococos ou bastonetes gram-negativos entéricos. O mesmo se aplica à osteomielite aguda, em que os microrganismos podem ser frequentemente cultivados a partir de amostras de sangue, antes de a infecção se tornar crônica. Múltiplos microrganismos são encontrados com frequência em abscessos abdominais e contíguos a mucosas, bem como em feridas abertas. Quando lesões profundas e supurativas, como as da osteomielite crônica, drenam em superfícies externas através de fístula, a microbiota da superfície através da qual a lesão drena não deve ser confundida com as da lesão profunda. Em vez disso, as amostras devem ser aspiradas do local primário da infecção através do tecido não infectado.

O exame bacteriológico do pus das lesões fechadas ou profundas deve incluir culturas por métodos anaeróbios. As bactérias anaeróbias (*Bacteroides*, peptostreptococos), às vezes,

desempenham um papel etiológico essencial, e com frequência observam-se misturas de anaeróbios.

Os métodos empregados para culturas devem ser apropriados ao isolamento semiquantitativo de bactérias comuns, bem como de microrganismos especializados, inclusive micobactérias e fungos. A pele e a mucosa que sofreram erosão frequentemente constituem o local de infecções causadas por leveduras ou fungos. *Candida*, *Aspergillus* e outras leveduras ou fungos podem ser observados ao microscópio no exame de esfregaços ou raspados de áreas sob suspeita, podendo ser cultivados. O tratamento da amostra com KOH e calcofluorado branco aumenta as chances de observação de leveduras e fungos na amostra.

Os exsudatos coletados nos espaços pleural, peritonal, pericardial ou sinovial devem ser aspirados com cuidadosa técnica asséptica. Se o material for francamente purulento, deverão ser efetuados diretamente esfregaços e culturas. Se o líquido for claro, poderá ser centrifugado em alta velocidade durante 10 min, sendo o sedimento utilizado para esfregaços corados e culturas. O método de cultura empregado deve ser apropriado ao crescimento dos microrganismos sob suspeita em base clínica — p. ex., micobactérias, microrganismos anaeróbios — bem como das bactérias piogênicas comumente encontradas. Algumas amostras coagulam, podendo ser necessário utilizar um meio com anticoagulante. Os seguintes resultados bioquímicos e hematológicos são sugestivos de infecção: densidade superior a 1.018; conteúdo de proteína > 3 g/dL (resultando frequentemente em coagulação); e contagem de células > 500 a 1.000/μL. Os leucócitos polimorfonucleares predominam nas infecções piogênicas agudas sem tratamento, enquanto ocorre o predomínio de linfócitos ou monócitos nas infecções crônicas. Os transudatos decorrentes de crescimento neoplásico podem assemelhar-se macroscopicamente a exsudatos infecciosos devido ao aspecto sanguinolento ou ao purulento, e à ocorrência de coagulação em repouso. O estudo citológico dos esfregaços ou de cortes de células centrifugadas pode revelar a natureza neoplásica do processo.

Sangue

Como a bacteriemia com frequência indica a existência de doença potencialmente fatal, sua detecção precoce é essencial. A hemocultura constitui o procedimento mais importante para a detecção de infecção sistêmica causada por bactérias. A hemocultura fornece informações valiosas à abordagem de pacientes febris e agudamente enfermos, com ou sem sinais e sintomas localizados, sendo essencial em qualquer paciente sob suspeita de endocardite infecciosa, mesmo que não esteja aguda ou gravemente enfermo. Além de sua importância diagnóstica, o isolamento de um agente infeccioso do sangue proporciona ajuda inestimável na determinação da terapia antimicrobiana. Por conseguinte, todos os esforços devem ser feitos para isolar os microrganismos causais na bacteriemia.

Em indivíduos saudáveis, as amostras de sangue corretamente coletadas mostram-se estéreis. Embora microrganismos provenientes das microbiotas respiratória e gastrintestinal normais possam, em certas ocasiões, penetrar no sangue, são rapidamente removidos pelo sistema reticuloendotelial. Esses microrganismos transitórios raramente afetam a interpretação dos resultados das hemoculturas. Se uma hemocultura revelar

a existência de microrganismos, tal fato será de suma importância clínica, contanto que possa ser excluída a possibilidade de contaminação. A contaminação das hemoculturas com microbiota normal da pele é mais comumente devida a erros na coleta do sangue. Por conseguinte, é indispensável seguir uma técnica apropriada na execução da hemocultura.

As regras listadas a seguir, quando aplicadas com rigor, permitem a obtenção de resultados confiáveis:

1. Utilizar técnica asséptica estrita. Usar luvas, que não precisam ser esterilizadas.
2. Aplicar um torniquete e localizar uma veia pelo tato. Liberar o torniquete enquanto a pele está sendo preparada.
3. Preparar a pele para punção venosa, limpando-a vigorosamente com álcool isopropílico a 70 a 95%. Ao utilizar tinctura de iodo a 2% ou clorexidina a 2%, começar no local da punção venosa e limpar a pele em círculos concêntricos de diâmetro cada vez maior. Deixar a preparação antisséptica secar por pelo menos 30 s. Não tocar a pele após ter sido preparada.
4. Reaplicar o torniquete, efetuar a punção venosa e (para adultos) coletar cerca de 20 mL de sangue.
5. Colocar o sangue em recipientes de hemocultura rotulados para microrganismos aeróbios e anaeróbios.
6. Levar as amostras imediatamente ao laboratório ou colocá-las em incubadora a 37°C.

Diversos fatores determinam se as hemoculturas irão produzir resultados positivos ou não: o volume de sangue cultivado, a diluição do sangue no meio de cultura, o uso de meios de cultura aeróbios e anaeróbios, bem como a duração da incubação. Para adultos, obtém-se habitualmente uma amostra de sangue de 20 a 30 mL, e coloca-se metade da amostra em um frasco de hemocultura aeróbia e a outra metade em um frasco para cultura anaeróbia, constituindo o par de frascos uma única hemocultura. Entretanto, podem ser necessários diferentes volumes de sangue para os inúmeros sistemas diferentes de hemocultura existentes. Um sistema de hemocultura amplamente utilizado emprega frascos que recebem 5 mL de sangue em vez de 10 mL. Uma diluição ideal do sangue em meio de cultura líquido é de 1:300 a 1:150, o que minimiza os efeitos dos anticorpos, do complemento e dos sistemas antibacterianos dos leucócitos. Como essas grandes diluições são impraticáveis em hemoculturas, a maioria de tais meios contém polianetossulfonato sódico (SPS) a 0,05%, que inibe os sistemas antibacterianos. Entretanto, o SPS também inibe o crescimento de algumas neissérias e cocos gram-positivos anaeróbios, bem como de *Gardnerella vaginalis*. Se houver suspeita quanto a qualquer um desses microrganismos, deverão ser utilizados sistemas de hemocultura alternativos sem SPS.

As hemoculturas são incubadas durante 5 a 7 dias. Os sistemas automáticos de hemocultura utilizam uma variedade de métodos para detectar culturas positivas. Esses métodos automáticos permitem a monitoração frequente das culturas e detecção mais precoce de culturas positivas — com frequência em poucos minutos. Os meios de cultura empregados em sistemas automatizados são mais ricos e os sistemas de detecção mais sensíveis que os sistemas convencionais, de modo que os sistemas automatizados de hemoculturas não precisam ser processados por mais de 5 dias. Em geral, os subcultivos são indicados somente quando o sistema indica que a cultura está positiva. Os

sistemas manuais de hemoculturas tornaram-se obsoletos e provavelmente só são empregados em países em desenvolvimento que não possuem recursos para adquirir sistemas automatizados. Nos sistemas manuais, os frascos de hemoculturas são examinados 2 ou 3 vezes/dia nos primeiros 2 dias e diariamente por 1 semana. No método manual, faz-se o subcultivo cego de todos os frascos de hemocultura do 2º ao 7º dias.

O número de amostras de sangue a serem coletadas para cultura e o período necessário para isso dependem, em parte, da gravidade da doença clínica. Nas infecções hiperagudas (p. ex., sepse por microrganismos gram-negativos com choque ou sepse estafilocócica), é conveniente cultivar no mínimo duas amostras de sangue obtidas de diferentes locais anatômicos (pesquisas recentes sugerem de 3 a 4 hemoculturas). Em outras infecções bacterêmicas (p. ex., endocardite subaguda), deve-se obter três amostras de sangue durante um período de 24 h. Um total de três hemoculturas permite o crescimento de bactérias infectantes em mais de 95% dos pacientes com bacteriemia. Se as três culturas iniciais forem negativas e houver suspeita de abscesso oculto, febre de origem indeterminada ou alguma outra infecção obscura deverão ser coletadas outras amostras de sangue para cultura, quando possível antes de se iniciar a terapia antimicrobiana.

Dispõe-se de vários tipos de frasco de hemocultura contendo resinas ou outras substâncias que absorvem a maioria dos antimicrobianos, bem como alguns fatores antimicrobianos do hospedeiro. As indicações para uso dos frascos com resina são: paciente com sepse clínica recebendo terapia antimicrobiana e que apresentou resultados negativos nas hemoculturas; paciente com evidências clínicas de endocardite e hemoculturas negativas, recebendo terapia antimicrobiana; paciente internado com sepse que recebeu terapia antimicrobiana antes da internação. Os frascos contendo resina não devem ser utilizados para acompanhar a eficácia do tratamento, visto que a resina pode absorver os antimicrobianos na amostra e permitir que a cultura se torne positiva apesar do tratamento clinicamente eficaz.

É necessário determinar a importância de uma hemocultura positiva. Alguns critérios podem ser úteis para diferenciar amostras “verdadeiramente positivas” de amostras contaminadas. São eles:

1. O crescimento do mesmo microrganismo em culturas repetidas de amostras obtidas de diferentes locais anatômicos em momentos diferentes sugere fortemente a presença de bacteriemia verdadeira.
2. O crescimento de diferentes microrganismos em frascos de cultura diferentes sugere contaminação, mas em certas ocasiões pode ocorrer após problemas clínicos, como feridas cirúrgicas e ruptura intestinal.
3. O crescimento da microbiota normal da pele (p. ex., estafilococos coagulase-negativos, difteroides [corinebactérias e propionibactérias] ou cocos gram-positivos anaeróbios) em apenas uma de várias culturas sugere contaminação. O crescimento desses microrganismos em mais de uma cultura ou em amostras de um paciente com prótese vascular ou cateter venoso central aumenta a probabilidade de bacteriemia clinicamente significativa.
4. É provável que ocorra o crescimento de microrganismos, como estreptococos *viridans* ou enterococos, em hemoculturas de pacientes sob suspeita de endocardite, enquanto pode

haver o crescimento de bastonetes gram-negativos, como a *E. coli*, em hemoculturas de pacientes com sepse clínica por microrganismos gram-negativos. Dessa forma, quando tais microrganismos “esperados” são encontrados, têm maior probabilidade de assumir importância etiológica.

As bactérias mais comumente identificadas em hemoculturas positivas são: estafilococos, inclusive *S. aureus*; estreptococos *viridans*; enterococos, inclusive o *Enterococcus faecalis*; bactérias gram-negativas entéricas, inclusive a *E. coli* e *K. pneumoniae*; *P. aeruginosa*; pneumococos; e *H. influenzae*. As espécies de *Candida*, outras leveduras e alguns fungos bifásicos, como o *Histoplasma capsulatum*, crescem em hemoculturas; todavia, muitos fungos raramente ou nunca são isolados do sangue. Em certas ocasiões, o citomegalovírus e o herpes-vírus simples podem ser cultivados a partir de amostras de sangue, mas a maioria dos vírus, as riquetsias e as clamídias não são cultivadas a partir do sangue. Os protozoários e helmintos parasitos não crescem em hemoculturas.

Na maioria dos tipos de bacteriemia, o exame direto dos esfregaços sanguíneos não é útil. O exame metucioso de esfregaços do creme leucocitário obtido de sangue anticoagulado, corados pelo método de Gram, revela, em certas ocasiões, a presença de bactérias em pacientes com infecção por *S. aureus*, sepse por clostrídeos ou febre recorrente. Em algumas infecções microbianas (p. ex., antraz, peste, febre recorrente, riquetsiose, leptospirose, espirilose, psitacose), a inoculação de sangue em animais de laboratório pode fornecer resultados positivos mais rapidamente que a cultura. Na prática, este procedimento quase nunca é realizado em laboratórios clínicos.

Urina

O exame bacteriológico da urina é efetuado principalmente quando existem sinais ou sintomas sugestivos de infecção do trato urinário, insuficiência renal ou hipertensão, devendo ser feito sempre em indivíduos sob suspeita de infecção sistêmica ou febre de origem obscura. É recomendado para mulheres no primeiro trimestre de gravidez, para detecção de bacteriúria assintomática (BA).

A urina secretada pelo rim é estéril, a não ser que o rim esteja infectado. A urina não contaminada da bexiga também se mostra normalmente estéril. Todavia, a uretra contém uma microbiota normal, de modo que a urina normal eliminada contém um pequeno número de bactérias. Como é necessário distinguir os microrganismos contaminantes dos etiológicamente importantes, apenas o exame *quantitativo* da urina pode fornecer resultados significativos.

As etapas mostradas a seguir são essenciais para o exame adequado da urina.

A. Coleta adequada da amostra

A correta coleta da amostra constitui a etapa mais importante para a cultura de urina, e a mais difícil. As amostras satisfatórias de mulheres são problemáticas, podendo ser obtidas da seguinte maneira:

1. Ter à mão um recipiente estéril com tampa de rosca e duas a três compressas de gaze estéril embebidas em solução salina não bacteriostática (não são recomendados sabões de limpeza antibacterianos).

2. Afastar os lábios vulvares com dois dedos e mantê-los afastados durante o processo de limpeza e coleta. Lavar a área da uretra de frente para trás, em um só movimento, com as compressas embebidas em solução salina.
3. Iniciar a micção e, utilizando o recipiente, coletar uma amostra do jato médio. Rotular corretamente o recipiente.

Utiliza-se o mesmo método para a coleta de amostras em homens; em homens não circuncidados, o prepúcio deve ser mantido retraído.

O cateterismo está associado ao risco de introduzir microrganismos na bexiga, embora algumas vezes isso seja inevitável. Podem-se obter amostras separadas dos rins direito e esquerdo, assim como dos ureteres mediante o uso de um cateter na cistoscopia realizada pelo urologista. Uma vez colocado o cateter de longa permanência, com o sistema de coleta fechado, a urina deve ser obtida por aspiração estéril do cateter com agulha e seringa, e não do recipiente de coleta. Para resolver problemas de coleta, a urina pode ser aspirada de modo asséptico diretamente da bexiga cheia por punção suprapúbica da parede abdominal. Esse procedimento em geral é realizado em lactentes.

Para a maioria dos exames, são suficientes 0,5 mL de urina ureteral ou 5 mL de urina eliminada. Devido à rápida multiplicação de muitos tipos de microrganismo na urina à temperatura ambiente ou corporal, as amostras de urina devem ser rapidamente entregues ao laboratório ou mantidas sob refrigeração, sem ultrapassar uma noite. De forma alternada, podem ser empregados meios de transporte contendo em sua composição ácido bórico, caso o espécime clínico não possa ser refrigerado.

B. Exame microscópico

Podem-se obter muitas informações com o simples exame microscópico da urina. Uma gota de urina fresca não centrifugada, colocada em lâmina, coberta com lamínula e examinada com luz de intensidade restrita com objetiva de grande aumento em microscópio comum pode revelar a presença de leucócitos, células epiteliais e bactérias se o número for superior a 10^5 /mL. O achado de 10^5 microrganismos por mililitro em uma amostra de urina coletada adequadamente e examinada constitui forte evidência de infecção ativa das vias urinárias. O esfregaço de urina do jato médio não centrifugada, corado pelo método de Gram, quando revela a presença de bastonetes gram-negativos, é diagnóstico de infecção do trato urinário.

A rápida centrifugação da urina sedimenta imediatamente os piócitos, que podem transportar bactérias, ajudando, assim, a estabelecer um diagnóstico microscópico de infecção. A presença de outros elementos formados no sedimento — ou a existência de proteinúria — é de pouca valia na identificação de infecção ativa das vias urinárias. Podem ocorrer piócitos na ausência de bactérias, mas pode-se verificar a presença de bacteriúria sem piúria. A observação de numerosas células epiteliais escamosas, lactobacilos ou microbiota mista na cultura sugere coleta incorreta da urina.

Algumas tiras reagentes para urina contêm leucócito-esterase e nitrito, que estabelecem a presença de células polimorfonucleares e bactérias, respectivamente, na urina. As reações positivas são fortemente sugestivas de infecção bacteriana do trato urinário.

Apesar de não ser facilmente aceito pelos laboratórios de microbiologia clínica, muitos laboratórios têm implementado

sistemas automatizados e semiautomatizados para a rotina dos exames de urinálise. Uma variedade de técnicas é usada por esses instrumentos para detectar leucócitos e bactérias. O desempenho desses sistemas varia, mas eles possuem um nível de padronização para altos volumes de amostras e podem não ser usados pelos métodos de tiras reagentes.

C. Cultura

A cultura da urina, para ser significativa, deve ser efetuada de modo quantitativo. A urina corretamente coletada deve ser cultivada em quantidades determinadas em meios sólidos, e devem-se contar as colônias que aparecem após a incubação para que indiquem o número de bactérias por mililitro. O procedimento habitual consiste em espalhar 0,001 a 0,05 mL de urina não diluída em placas de ágar-sangue e outros meios sólidos para cultura quantitativa. Todos os meios de cultura devem ser incubados durante uma noite a 37°C. Em seguida, a densidade de crescimento deve ser comparada com fotografias de diferentes densidades de crescimento de bactérias semelhantes, fornecendo dados semiquantitativos.

Na pielonefrite ativa, o número de bactérias na urina coletada por cateter ureteral é relativamente baixo. Enquanto se acumulam na bexiga, as bactérias multiplicam-se rapidamente e, em pouco tempo, atingem um número superior a 10^5 /mL — bem mais do que poderia ocorrer como resultado de contaminação pela microbiota uretral ou da pele, ou pelo ar. Por conseguinte, existe um consenso geral de que, se forem cultivadas mais de 10^5 colônias/mL a partir de uma amostra de urina adequadamente coletada e cultivada, o resultado constituirá forte evidência de infecção ativa do trato urinário. A presença de mais de 10^5 bactérias do mesmo tipo por mililitro em duas amostras consecutivas estabelece o diagnóstico de infecção ativa do trato urinário com 95% de certeza. Se forem cultivadas menos bactérias, indica-se o exame repetido da urina para confirmar a presença de infecção.

O achado de menos de 10^4 bactérias/mL — incluindo alguns tipos diferentes de bactéria — sugere que os microrganismos provêm da microbiota normal e são contaminantes, geralmente em consequência de coleta inadequada da amostra. A presença de 10^4 /mL de um único tipo de bastonete gram-negativo entérico é fortemente sugestiva de infecção do trato urinário, em especial nos homens. Em certas ocasiões, mulheres jovens com disúria aguda e infecção das vias urinárias apresentam 10^2 a 10^3 /mL. Se as culturas forem negativas mas houver sinais clínicos de infecção das vias urinárias, deverá ser considerada a possibilidade de “síndrome uretral”, obstrução ureteral, infecção gonocócica, tuberculose vesical ou outra doença.

Líquido cerebrospinal (LCS)

A meningite ocupa posição de destaque entre as emergências clínicas, tornando essencial seu diagnóstico precoce, rápido e preciso. O diagnóstico de meningite depende de um elevado índice de suspeita, da obtenção de amostras apropriadas e do exame imediato dessas amostras. Como o risco de morte ou lesão irreversível é grande, a não ser que o tratamento seja iniciado imediatamente, raramente existe uma segunda chance para a obtenção de amostras antes do tratamento, essenciais para o diagnóstico etiológico específico e o tratamento ideal.

O problema diagnóstico mais urgente consiste em diferenciar a meningite bacteriana purulenta aguda da meningite “asséptica”

e granulomatosa. Em geral, a decisão imediata baseia-se na contagem de células, na concentração de glicose e proteína do LCS, bem como nos resultados do exame microscópico à procura de microrganismos (ver Caso 1, Cap. 48). A impressão inicial é modificada pelos resultados das culturas, das provas sorológicas, dos testes de amplificação de ácidos nucleicos e de outros procedimentos laboratoriais. Ao avaliar os resultados das determinações da glicose do LCS, deve-se considerar o nível simultâneo de glicemia. Em algumas neoplasias do sistema nervoso central, o nível de glicose do LCS apresenta-se baixo.

A. Amostras

Tão logo haja suspeita de infecção do sistema nervoso central, devem-se obter amostras de sangue para cultura e uma amostra de LCS. Para obtenção do LCS, deve-se proceder a uma punção lombar com técnica asséptica estrita, tendo cuidado para não comprimir a medula com a retirada muito rápida do líquido quando a pressão intracraniana estiver acentuadamente elevada. Em geral, o LCS é coletado em 3 ou 4 porções de 2 a 5 mL, em tubos de ensaios esterilizados, o que permite a realização mais conveniente e confiável de exames para determinação dos diferentes valores necessários para se planejar a abordagem.

B. Exame microscópico

Os esfregaços são efetuados com o sedimento do líquido centrifugado. Recomenda-se utilizar uma centrífuga tipo Cytospin, porque concentra o material celular e bactérias de maneira mais eficaz que a centrifugação comum. Os esfregaços são corados pelo método de Gram. O exame dos esfregaços corados com objetiva de imersão em óleo pode revelar a presença de diplococos gram-negativos intracelulares (meningococos), diplococos gram-negativos lanceolados intra e extracelulares (pneumococos), ou pequenos bastonetes gram-negativos (*H. influenzae* ou bastonetes gram-negativos entéricos).

C. Detecção de antígenos

É possível detectar o antígeno criptocócico no LCS pelo teste de aglutinação do látex ou testes imunoenzimáticos. O antígeno contra o *S. pneumoniae* pode ser detectado pelo imunoensaio de membrana.

D. Cultura

Os métodos de cultura utilizados devem favorecer o crescimento dos microrganismos mais comumente encontrados na meningite. O ágar-sangue de carneiro e o ágar-chocolate juntos propiciam o crescimento de quase todas as bactérias e fungos que causam meningite. O diagnóstico de meningite tuberculosa exige a realização de culturas em meios especiais (ver Quadro 47.2 e Cap. 23). Pode-se tentar isolar o vírus na meningite asséptica ou na meningoencefalite. O vírus pode ser isolado com sucesso do LCS em infecções causadas pelo vírus da caxumba, na meningite por herpes simples e por alguns enterovírus. A maioria das infecções virais do sistema nervoso central é mais bem detectada por métodos de amplificação dos ácidos nucleicos.

E. Exame de acompanhamento do LCS

A normalização do nível de glicose e da contagem de células do LCS constitui uma boa evidência de tratamento adequado. A resposta clínica é de suma importância.

Secreções respiratórias

Com frequência, os sinais e sintomas indicam o comprometimento de determinada área das vias respiratórias, sendo as amostras coletadas de acordo com esses locais. Ao interpretar os resultados de laboratório, é necessário considerar a microbiota normal da área em que foi coletada a amostra.

A. Amostras

1. Garganta — os casos de “dor de garganta” são causados, em sua maioria, por infecção viral. Apenas 5 a 10% das “dores de garganta” em adultos e 15 a 20% em crianças estão associados a infecções bacterianas. O achado de exsudato amarelado folicular ou de membrana acinzentada deve levantar a suspeita de infecção por estreptococos β -hemolíticos do grupo A de Lancefield, difteria e infecção por gonococos, fusospiroquetas ou *Candida*. Esses sinais também podem ser observados na mononucleose infecciosa e nas infecções por adenovírus e outros vírus.

Devem ser obtidos *swabs* de garganta de cada região amigdaliana, bem como da parede faríngea posterior, sem tocar na língua e na mucosa bucal. A microbiota normal da garganta inclui inúmeros estreptococos *viridans*, neissérias, difteroides, estafilococos, pequenos bastonetes gram-negativos e muitos outros microrganismos. O exame microscópico de esfregaços de *swabs* de garganta é de pouca valia nas infecções estreptocócicas, visto que todos os indivíduos abrigam na garganta um predomínio de estreptococos.

As culturas de *swabs* de garganta são mais confiáveis quando o material é inoculado imediatamente após a coleta. Podem-se utilizar meios de cultura seletivos para os estreptococos com o objetivo de cultivar microrganismo *Streptococcus* do grupo A. Ao semear o material em meios seletivos para os estreptococos ou em placas de ágar-sangue, é fundamental espalhar minuciosamente um pequeno inóculo e evitar supercrescimento da microbiota normal, o que pode ser feito facilmente tocando uma pequena área da placa com o *swab* e utilizando um segundo aplicador esterilizado (ou uma alça bacteriológica esterilizada) para semear a placa a partir dessa área. A detecção de colônias beta-hemolíticas é facilitada ao se cortar o ágar (para reduzir a tensão de oxigênio) e incubar a placa durante 2 dias a 37°C.

Nas duas últimas décadas, uma variedade de testes de detecção de antígenos, métodos com sondas e testes de amplificação de ácidos nucleicos foi desenvolvida para melhorar a detecção de *Streptococcus pyogenes* de *swabs* de garganta em pacientes com faringite estreptocócica aguda. Em muitos casos, os métodos rápidos de detecção têm se mostrado tão sensíveis quanto a cultura e têm substituído a cultura em muitos laboratórios. É importante que o usuário perceba que somente *S. pyogenes* será detectado ou excluído por esses testes, e, portanto, eles não podem ser utilizados para o diagnóstico da faringite bacteriana causada por outros patógenos. Uma abordagem é iniciar com o teste rápido e enviar para cultura as amostras que deram resultado negativo pelo teste rápido.

2. Nasofaringe — as amostras da nasofaringe são examinadas com pouca frequência devido à necessidade de técnicas especiais para obtê-las. (Ver Diagnóstico das infecções virais, adiante.) A coqueluche é diagnosticada pela cultura de *B. pertussis* de lavados nasofaríngeos ou nasais, ou por amplificação do DNA da *B. pertussis* mediante PCR na amostra.

3. Orelha média — raramente são obtidas amostras da orelha média devido à necessidade de punção do tímpano. Na otite

média aguda, 30 a 50% dos casos de líquido aspirado são bacteriologicamente estéreis. As bactérias isoladas com maior frequência consistem em pneumococos, *H. influenzae*, *Moraxella catarrhalis* e estreptococos hemolíticos.

4. Vias respiratórias inferiores — as secreções brônquicas e pulmonares de exsudatos são frequentemente analisadas por meio de exame do escarro. O aspecto mais enganoso do exame do escarro é a contaminação quase inevitável com a saliva e a microbiota oral. Por conseguinte, o achado de *Candida*, *S. aureus* ou mesmo *S. pneumoniae* no escarro de um paciente com pneumonite não tem qualquer significado etiológico, a não ser que seja corroborado pelo quadro clínico. As amostras de escarro, para serem significativas, devem ser expectoradas das vias respiratórias inferiores e visivelmente distintas da saliva. A presença de numerosas células epiteliais escamosas sugere contaminação maciça com saliva; a observação de grande número de leucócitos polimorfonucleares (PMN) indica exsudato purulento. O escarro pode ser induzido por inalação de aerossol de solução salina hipertônica aquecida durante alguns minutos. Na pneumonia acompanhada de efusão pleural, o líquido pleural pode conter os microrganismos causais, sendo, portanto, mais confiável que o escarro. Se houver suspeita de tuberculose, os lavados gástricos (escarro deglutido) poderão revelar microrganismos quando o material expectorado não for obtido, como, por exemplo, em pacientes pediátricos.

5. Aspiração transtraqueal, broncoscopia, biópsia pulmonar, lavado broncoalveolar — a microbiota nessas amostras frequentemente reflete, de modo acurado, os processos existentes nas vias respiratórias inferiores. Podem ser necessárias amostras obtidas por broncoscopia para o diagnóstico da pneumonia por *Pneumocystis* ou infecção causada por *Legionella* ou outros microrganismos. As amostras de lavado broncoalveolar são particularmente úteis em pacientes imunocomprometidos com pneumonia difusa.

B. Exame microscópico

Os esfregaços de partículas ou grânulos purulentos do escarro corados pelo método de Gram ou pelo método álcool-acidorresistente podem revelar microrganismos causais e PMN. Um teste “*quellung*” (intumescimento capsular) direto para pneumococos pode ser efetuado com soro polivalente em amostra de escarro fresco.

C. Cultura

Os meios utilizados para culturas de escarro devem ser apropriados para o crescimento de bactérias (p. ex., pneumococos, *Klebsiella*), fungos (p. ex., *Coccidioides immitis*), micobactérias (p. ex., *M. tuberculosis*) e outros microrganismos. As amostras obtidas por broncoscopia e biópsia pulmonar também devem ser semeadas por outros meios de cultura (p. ex., para anaeróbios, *Legionella* e outros microrganismos). Deve-se estimar a prevalência relativa dos diferentes microrganismos na amostra. Apenas o achado de um microrganismo predominante ou o isolamento simultâneo de um microrganismo do escarro e do sangue podem estabelecer claramente o seu papel no processo pneumônico ou supurativo. Além disso, laboratórios de hospitais que apresentam um grande número de pacientes transplantados, com frequência possuem um abrangente algoritmo para espécimes que são obtidas por broncoscopia, incluindo uma

variedade de métodos como os NAATs e outras técnicas para ampla detecção de diferentes possíveis patógenos.

Amostras do trato gastrointestinal

Os sintomas agudos atribuíveis ao trato gastrointestinal, sobretudo náuseas, vômitos e diarreia, são comumente atribuídos à infecção. Na verdade, a maioria desses sintomas é causada por intolerância a alimentos ou bebidas, enterotoxinas, medicamentos ou doenças sistêmicas.

Muitos casos de diarreia infecciosa aguda são causados por vírus que não podem crescer em cultura de tecido. No entanto, inúmeros vírus que podem crescer em cultura (p. ex., adenovírus, enterovírus) podem multiplicar-se no intestino sem causar sintomas gastrointestinais. De modo semelhante, alguns patógenos bacterianos entéricos podem persistir no intestino após infecção aguda. Por conseguinte, pode ser difícil atribuir alguma importância a um agente bacteriano ou viral cultivado a partir de amostras de fezes, particularmente na presença de doença subaguda ou crônica.

Essas considerações não devem desestimular o médico no seu empenho por obter o isolamento laboratorial de microrganismos entéricos, mas constituir apenas um aviso de que existem algumas dificuldades comuns na interpretação dos resultados.

O intestino grosso tem microbiota bacteriana normal extraordinariamente grande. Os microrganismos mais prevalentes são anaeróbios (*Bacteroides*, bastonetes gram-positivos e cocos gram-positivos), microrganismos gram-negativos entéricos e *E. faecalis*. Qualquer tentativa de isolar bactérias patogênicas das fezes requer a separação dos patógenos da microbiota normal, geralmente com o uso de meios seletivos diferenciais e culturas de enriquecimento. As causas importantes das gastroenterites agudas incluem vírus, toxinas (de estafilococos, clostrídeos, vibriões, *E. coli* toxigênica), bastonetes gram-negativos entéricos invasivos, fermentadores lentos da lactose, shigelas e salmonelas, bem como campilobactérias. A importância relativa desses grupos de microrganismos difere acentuadamente em diversas partes do mundo.

A. Amostras

Fezes e *swabs* retais constituem as amostras obtidas com mais facilidade. A bile coletada por drenagem duodenal pode revelar infecção do trato biliar. É preciso observar a presença de sangue, muco ou helmintos no exame macroscópico da infecção. O achado de leucócitos em suspensões de amostras de fezes examinadas ao microscópio ou a detecção de leucócitos derivados da proteína lactoferrina constituem formas úteis de diferenciar as diarreias infecciosas invasivas das não invasivas. Entretanto, é importante notar que os leucócitos podem estar presentes em condições inflamatórias não infecciosas do trato gastrointestinal. Devem-se utilizar técnicas especiais para investigar protozoários e helmintos parasitos, bem como seus ovos. Os esfregaços corados podem revelar a prevalência de leucócitos e de determinados microrganismos anormais, como, por exemplo, *Candida* ou estafilococos, mas não podem ser utilizados para diferenciar os patógenos bacterianos entéricos da microbiota normal.

B. Cultura

As amostras são suspensas em caldo e cultivadas em meios comuns, bem como em meios diferenciais (p. ex., ágar de MacConkey, ágar-EMB), para permitir a separação dos bastonetes

gram-negativos que não fermentam a lactose de outras bactérias entéricas. Se houver suspeita de infecção por *Salmonella*, a amostra também deverá ser semeada em meio de cultura enriquecido (p. ex., caldo F com selenito) durante 18 h antes de ser semeada em meios de cultura diferenciais (p. ex., meio entérico de Hektoen ou ágar de *Shigella-Salmonella*). É mais provável o isolamento da *Yersinia enterocolitica* após o armazenamento de suspensões fecais durante 2 semanas a 4°C, mas este microrganismo também pode ser isolado em ágar para *Yersinia* ou *Shigella-Salmonella* incubado a 25°C. O crescimento dos vibriões é melhor em ágar-sacarose com sais biliares, tiosulfato e citrato. As campilobactérias são isoladas em ágar de Campy ou em meio seletivo de Skirrow, com incubação a 40 a 42°C em CO₂ a 10% e acentuada redução da tensão de O₂. As colônias bacterianas são identificadas por métodos bacteriológicos padronizados. A aglutinação de bactérias de colônias suspeitas com antissoro misturado específico constitui frequentemente o método mais rápido para se estabelecer a presença de salmonelas ou shigelas no trato intestinal.

C. Métodos não baseados em cultura

Os testes imunoenzimáticos (Elisa) para a detecção de patógenos entéricos específicos, tanto diretamente nas fezes como para a confirmação do crescimento em caldo ou meio sólido, estão disponíveis. Os Elisa que detectam as toxinas de Shiga 1 e 2 em casos suspeitos de colites causadas por *E. coli* enterohemorrágica (também chamada *E. coli* produtora de toxina Shiga ou STEC) estão disponíveis e são superiores à cultura. Também estão disponíveis Elisa para a detecção direta de patógenos virais como rotavírus, adenovírus 40, 41 e norovírus; patógenos bacterianos como *Campylobacter jejuni*; e protozoários como *Giardia lamblia*, *Cryptosporidium parvum* e *Entamoeba histolytica*. O desempenho desses testes é variável.

Os parasitos intestinais e seus ovos são detectados por meio de exame microscópico repetido de amostras fecais frescas. As amostras exigem manipulação especial no laboratório (ver Cap. 46).

Doenças sexualmente transmissíveis

As causas do corrimento genital da uretrite em homens são a *Neisseria gonorrhoeae*, *Chlamydia trachomatis* e *Ureaplasma urealyticum*. Em mulheres, a endocervicite é causada por *N. gonorrhoeae* e *C. trachomatis*. As lesões genitais associadas a doenças em ambos os sexos consistem frequentemente em herpes simples, menos comumente em sífilis ou cancroide, incomumente em linfoma venéreo e raramente em granuloma inguinal. Cada uma dessas doenças apresenta história natural e evolução das lesões características, embora uma possa imitar a outra. O diagnóstico laboratorial da maioria das referidas infecções é considerado em outra parte deste livro. São descritos adiante alguns exames diagnósticos que se encontram resumidos no Quadro 47.2.

A. Gonorreia

Esfregaço corado de exsudato uretral ou cervical que mostre a presença de diplococos gram-negativos intracelulares é fortemente sugestivo de gonorreia. A sensibilidade é de cerca de 90% para o homem e de 50% para a mulher — assim, para as mulheres são recomendados o exame de cultura ou os testes de amplificação dos ácidos nucleicos. O exsudato, o *swab* retal ou o *swab* de garganta devem ser semeados imediatamente em meios de cultura especiais para o crescimento da *N. gonorrhoeae*. As

provas sorológicas não são úteis. Os métodos moleculares para detecção do DNA de *N. gonorrhoeae* da uretra, de exsudato cervical ou de urina pode ser feito, mas testes falsos-positivos para a detecção de sequências de DNA de neissérias não patogênicas podem ocorrer e variam com o tipo de plataforma comercial utilizada. Os testes sorológicos não têm utilidade.

B. Infecções genitais por *Chlamydia*

Ver a seção sobre o diagnóstico das infecções por clamídias, adiante.

C. Herpes genital

Ver o Cap. 33, bem como a seção sobre o diagnóstico das infecções virais, adiante.

D. Sífilis

O exame do líquido tecidual coletado na base do cancro, em campo escuro ou por imunofluorescência, pode revelar a presença do *T. pallidum* típico. As provas sorológicas para a sífilis tornam-se positivas 3 a 6 semanas após a infecção. A positividade do teste de flocculação (p. ex., VDRL ou RPR) exige confirmação. A infecção sífilítica é comprovada por um resultado positivo do teste do anticorpo treponêmico imunofluorescente (p. ex., FTA-ABS, aglutinação por partícula de *T. pallidum* [*T. pallidum* particle agglutination — TP-PA], ou os novos Elisás e ensaios quimioluminescentes — ver Cap. 24) prova a infecção sífilítica.

E. Cancroide

Em geral, os esfregaços de uma lesão supurativa revelam microbiota bacteriana mista. Os *swabs* de lesões devem ser cultivados em dois ou três meios seletivos para *Haemophilus ducreyi* a 33°C. As provas sorológicas não são úteis. Ensaios moleculares em laboratórios de pesquisa e de referência.

F. Granuloma inguinal

Klebsiella (anteriormente, *Calymmatobacterium*) *granulomatis*, o agente etiológico dessa lesão proliferativa, granulomatosa e de consistência dura, pode ser cultivada em meios bacteriológicos complexos; todavia, a cultura é raramente efetuada, uma vez que sua execução bem-sucedida mostra-se muito difícil. A demonstração histológica de “corpúsculos de Donovan” intracelulares em material de biópsia confirma com maior frequência a impressão clínica. As provas sorológicas não são úteis. Ensaios moleculares em laboratórios de pesquisa e de referência.

G. Vaginose/vaginite

A vaginose bacteriana associada à *G. vaginalis* ou *Mobiluncus* (ver Cap. 21 e Caso 13, Cap. 48) é diagnosticada na sala de exame por inspeção do corrimento vaginal. O corrimento (1) é acinzentado e às vezes espumoso; (2) apresenta pH acima de 4,6; (3) contém uma amina (“odor de peixe”) quando alcalinizada com hidróxido de potássio; e (4) possui “células indicadoras” (*cluecells*) que consistem em grandes células epiteliais recobertas com bastonetes gram-negativos ou gram-variáveis. São utilizadas observações semelhantes para o diagnóstico da infecção por *Trichomonas vaginalis* (ver Cap. 46); os microrganismos móveis podem ser visualizados em preparações a fresco ou cultivados a partir da amostra do corrimento genital. Sondas genéticas e, mais recentemente, NAATs são muito mais sensíveis do que os

procedimentos a fresco. A vaginite causada por *Candida albicans* é diagnosticada pelo achado de pseudo-hifas em preparação de hidróxido de potássio do corrimento vaginal ou por cultura.

INFECÇÕES ANAERÓBIAS

A maioria das bactérias que compõem a microbiota humana normal é constituída de anaeróbios. Quando deslocados de seus locais normais em tecidos ou espaços corporais, os anaeróbios podem provocar doença. Certas características são sugestivas de infecções por anaeróbios: (1) com frequência, são contíguas a uma superfície mucosa; (2) tendem a envolver misturas de microrganismos; (3) tendem a formar infecções em espaços fechados, em forma de abscessos isolados (pulmonar, cerebral, pleural, peritonial, pélvico) ou infiltrando-se através das camadas teciduais; (4) o pus das infecções por anaeróbios frequentemente tem odor fétido; (5) a maioria dos anaeróbios de importância patogênica, à exceção de *Bacteroides* e algumas espécies de *Prevotella*, é altamente suscetível à penicilina G; (6) as infecções por anaeróbios são favorecidas por redução do suprimento sanguíneo, presença de tecido necrótico e baixo potencial de oxirredução — fatores que também interferem na liberação dos antimicrobianos; (7) é fundamental utilizar métodos essenciais de coleta, meios de transporte, bem como técnicas e meios anaeróbios sensíveis para isolar esses microrganismos. Caso contrário, o exame bacteriológico pode ser negativo ou revelar apenas aeróbios casuais. (Ver também Cap. 21.)

Os locais abordados a seguir constituem importantes pontos de infecção por anaeróbios.

Trato respiratório

As infecções periodontais, os abscessos periorais, a sinusite e a mastoidite podem ser causados predominantemente por *Prevotella melaninogenica*, *Fusobacterium* e peptostreptococos. A aspiração do conteúdo da cavidade oral para os pulmões pode resultar em pneumonia necrosante, abscesso pulmonar e empiema. Os antimicrobianos e a drenagem postural ou cirúrgica são essenciais para o tratamento.

Sistema nervoso central

Os anaeróbios raramente provocam meningite, mas constituem causas comuns de abscesso cerebral, empiema subdural e tromboflebite séptica. Em geral, os microrganismos originam-se no trato respiratório e disseminam-se para o cérebro por extensão ou por via hematogênica.

Infecções intra-abdominais e pélvicas

A microbiota do colo consiste predominantemente em anaeróbios, 10¹¹ bactérias/g de fezes. O *Bacteroides fragilis*, os clostrídeos e peptostreptococos desempenham importante papel na formação de abscessos em decorrência de perfuração intestinal. A *Prevotella bivia* e a *Prevotella disiens* são importantes nos abscessos pélvicos que se originam nos órgãos genitais femininos. A exemplo do *B. fragilis*, essas espécies costumam ser relativamente resistentes à penicilina; por conseguinte, devem-se utilizar clindamicina, metronidazol ou um outro agente eficaz.

Infecções da pele e dos tecidos moles

As bactérias anaeróbias e aeróbias frequentemente se unem para formar infecções sinérgicas (gangrena, fascíte necrosante,

celulite). As formas mais importantes de tratamento consistem em drenagem cirúrgica, excisão e melhora da circulação, enquanto os antimicrobianos atuam como adjuvantes. Em geral, é difícil apontar determinado microrganismo como responsável pela lesão progressiva devido à participação habitual de misturas de microrganismos.

DIAGNÓSTICO DAS INFECÇÕES POR CLAMÍDIAS

Embora a *C. trachomatis*, *C. pneumoniae* e *C. psittaci* sejam bactérias, trata-se de parasitos intracelulares obrigatórios. As culturas e outros testes diagnósticos para as clamídias exigem procedimentos muito semelhantes aos utilizados em laboratórios de virologia diagnóstica em vez dos empregados em laboratórios de bacteriologia e micologia. Por conseguinte, o diagnóstico das infecções causadas por clamídias é discutido em uma seção distinta deste capítulo. O diagnóstico laboratorial das infecções por clamídias também é considerado no Capítulo 27.

Amostras

No caso das infecções oculares e genitais por *C. trachomatis*, as amostras para exame direto ou cultura devem ser coletadas de locais infectados por meio de raspados ou *swabs* vigorosos da superfície epitelial atingida. As culturas ou secreções purulentas não são adequadas, devendo o material purulento ser retirado antes da obtenção da amostra. Por conseguinte, no caso da conjuntivite de inclusão, obtém-se um raspado conjuntival; na presença de uretrite, obtém-se um *swab* de alguns centímetros para dentro da uretra; e, para a cervicite, a amostra é obtida da superfície de células colunares do canal endocervical. *Swabs* ou amostras de urina podem ser usados para testes de amplificação dos ácidos nucleicos. Quando há suspeita de infecção do trato genital superior em mulheres, os raspados do endométrio fornecem uma boa amostra. O líquido obtido por culdocentese ou aspiração da tuba uterina tem baixa taxa de isolamento de *C. trachomatis* em cultura.

Para *C. pneumoniae*, utilizam-se amostras de *swab* da nasofaringe (e não da garganta).

Para linfogranuloma venéreo, os aspirados dos bubões ou nódulos flutuantes constituem a melhor amostra para cultura.

Para psitacose, cultura de escarro, sangue ou material de biópsia podem conter *C. psittaci*. Esses testes não são feitos rotineiramente em laboratórios clínicos, pois requerem métodos especializados, além de haver risco para o pessoal de laboratório.

Os *swabs*, os raspados e as amostras de tecido devem ser colocados em meios de transporte. Um meio útil contém 0,2 mol/L de sacarose em tampão de fosfato de 0,02 M, pH de 7,0 a 7,2, com 5% de soro fetal bovino. Outros meios de transporte podem ser igualmente apropriados. O meio de transporte deve conter antibióticos para suprimir outras bactérias diferentes das espécies de *Chlamydia*. A gentamicina (10 µg/mL), a vancomicina (100 µg/mL) e a anfotericina B (4 µg/mL) podem ser utilizadas em combinação, visto que não inibem as clamídias. Se não for possível processar rapidamente as amostras, poderão ser refrigeradas por 24 h; caso contrário, deverão ser congeladas a -60°C ou a temperaturas mais baixas até serem processadas.

Microscopia e coloração

O exame citológico só é importante e útil no exame de raspados conjuntivais para se estabelecer o diagnóstico de conjuntivite de inclusão e tracoma por *C. trachomatis*. Podem-se observar inclusões intracitoplasmáticas típicas, classicamente em amostras coradas pelo método de Giemsa. Podem-se utilizar anticorpos monoclonais conjugados com fluoresceína para o exame direto de amostras do trato genital e amostras oculares; todavia, não são tão sensíveis quanto às culturas de clamídias ou aos testes diagnósticos moleculares.

Cultura

Quando solicitada, recomendam-se técnicas de cultura de células para isolamento das espécies de *Chlamydia*. Em geral, a cultura de células para *C. trachomatis* e *C. psittaci* envolve a inoculação das amostras clínicas em células de McCoy tratadas com cicloeximida, enquanto a *C. pneumoniae* exige células HL ou HEP-2 pré-tratadas. Uma técnica utiliza um crescimento confluyente de células de McCoy em lamínulas de 13 mm em pequenos frascos descartáveis. O inóculo é colocado em duplicata de frascos e centrifugado nas monocamadas em cerca de 3.000 × g, seguido de incubação a 35°C durante 48 a 72 h e corado. Para detecção de *C. trachomatis*, recorre-se à imunofluorescência, à coloração pelo método de Giemsa ou à coloração por iodo para a pesquisa de inclusões intracitoplasmáticas. As técnicas imunofluorescentes são as mais sensíveis das três colorações, mas exigem reagentes de IF especiais e microscopia. O método de Giemsa mostra-se mais sensível que o iodo, porém o exame microscópico é mais difícil.

Uma segunda técnica de cultura utiliza células de McCoy em placas de microdiluição com 96 orifícios e coloração por iodo ou com anticorpo fluorescente. Como a área de superfície da monocamada é menor, e o inóculo também, o método da placa de microdiluição é menos sensível que a técnica da lamínula em frasco.

As inclusões de *C. trachomatis* coram-se pelo iodo, o que não ocorre com as inclusões de *C. pneumoniae* e *C. psittaci* (ver o Cap. 27), espécies distinguidas de *C. trachomatis* por suas respostas diferentes à coloração por iodo e suscetibilidade à sulfonamida. *C. pneumoniae* pode ser detectada com o uso de anticorpo monoclonal específico do gênero ou, melhor ainda, de anticorpo monoclonal específico da espécie. As técnicas sorológicas para diferenciação das espécies não são práticas, embora *C. trachomatis* possa ser tipada pelo método de microimunofluorescência.

Detecção de antígenos e hibridização do ácido nucleico

Os ensaios imunoenzimáticos não são mais preconizados para a detecção dos antígenos de clamídia, em amostras do trato genital de pacientes com doença sexualmente transmissível. As técnicas NAATs são mais sensíveis e estão substituindo os Elisas. Os testes de anticorpos fluorescentes diretos (direct fluorescent antibody [DFA]) continuam sendo usados para alguns espécimes de sítios não genitais, como a conjuntiva de neonatos. Foram comercializados kits com sondas moleculares não radioisotópicas para as sequências do RNA 16S de *C. trachomatis*, visando à detecção direta desse microrganismo em amostras clínicas. A sensibilidade e a especificidade globais de tal método são de cerca de 85% e 98 a 99%, respectivamente. Testes de amplificação do ácido nucleico também foram desenvolvidos e

comercializados. Tais ensaios baseiam-se na reação em cadeia da polimerase (PCR), amplificação por transcrição ou amplificação por distensão da fita de DNA. Esses testes são muito mais sensíveis que a cultura e outros testes sem amplificação, que exigiram uma redefinição da sensibilidade na documentação laboratorial da infecção por clamídias. A especificidade dos testes parece aproximar-se de 100%. (Ver Cap. 27.)

Sorologia

O teste de fixação do complemento é amplamente utilizado no diagnóstico de psitacose. O diagnóstico sorológico das infecções por clamídias é discutido no Cap. 27.

O método de microimunofluorescência é mais sensível que o teste de fixação de complemento para a determinação dos anticorpos dirigidos contra as clamídias. O título de anticorpos IgG pode ser diagnóstico quando se verifica uma elevação de 4 vezes nos títulos em amostras de soro das fases aguda e convalescente. Todavia, pode ser difícil demonstrar uma elevação dos títulos de IgG devido aos títulos elevados na população sexualmente ativa. A determinação dos anticorpos IgM é particularmente útil no diagnóstico de pneumonia por *C. trachomatis* em recém-nascidos. Os lactentes nascidos de mães com infecções por clamídias apresentam anticorpos séricos IgG contra as clamídias provenientes da circulação materna. Os lactentes com infecções oculares ou das vias respiratórias superiores apresentam baixos títulos de IgM anticlamídia, enquanto os lactentes com pneumonia por clamídia exibem títulos de IgM contra as clamídias de 1:32 ou mais.

DIAGNÓSTICO DAS INFECÇÕES VIRAIS

O diagnóstico virológico exige uma comunicação entre o médico e o laboratório, e depende da qualidade das amostras e das informações fornecidas ao laboratório.

A escolha dos métodos para confirmação laboratorial de infecção viral depende do estágio da doença (Quadro 47.4). Os testes com anticorpos exigem amostras obtidas a intervalos apropriados, e o diagnóstico só é confirmado na convalescença. O isolamento do vírus, a detecção de antígenos ou os NAATs são necessários (1) quando ocorrem novas epidemias, como a *influenza*; (2) quando as provas sorológicas não são úteis; e (3) quando a mesma doença clínica pode ser causada por muitos agentes diferentes. Por exemplo, a meningite asséptica (não bacteriana) pode ser causada por muitos vírus diferentes; de modo semelhante, as

QUADRO 47.4 Relação entre o estágio da doença e a presença de vírus em materiais de teste e o aparecimento de anticorpo específico

Estágio ou período da doença	Vírus detectável em materiais de teste	Anticorpo específico demonstrável ^a
Incubação	Raramente	Não
Pródromo	Ocasionalmente	Não
Início	Frequentemente	Ocasionalmente
Fase aguda	Frequentemente	Frequentemente
Recuperação	Raramente	Habitualmente
Convalescença	Muito raramente	Habitualmente

^aO anticorpo pode ser detectado em uma fase muito precoce em indivíduos previamente vacinados.

síndromes respiratórias podem ser causadas por inúmeros vírus, bem como por micoplasmas e outros agentes.

Os métodos diagnósticos baseados em técnicas de amplificação do ácido nucleico têm substituído algumas abordagens que utilizam culturas de vírus. Entretanto, não mudará a necessidade da coleta apropriada de amostras e interpretação dos testes. Além disso, haverá situações em que será conveniente o isolamento do agente infeccioso.

O isolamento de um vírus pode não estabelecer a etiologia de determinada doença. É preciso considerar muitos outros fatores. Alguns vírus persistem no hospedeiro humano por longos períodos, de modo que o isolamento de herpes-vírus, poliovírus, vírus Echo ou vírus Coxsackie de um paciente com doença não diagnosticada não comprova ser o vírus a causa da doença. É necessário estabelecer padrões clínico e epidemiológico consistentes para que se possa determinar se um determinado agente é responsável pelo quadro clínico específico.

Muitos vírus não são facilmente isolados durante os primeiros dias da doença. As amostras a serem utilizadas para isolamento do vírus estão relacionadas no Quadro 47.5. A correlação entre o isolamento do vírus e a presença de anticorpos ajuda a estabelecer o diagnóstico, mas isto raramente é realizado.

As amostras podem ser refrigeradas por até 24 h antes da realização de culturas dos vírus, à exceção do vírus sincicial respiratório e de alguns outros vírus. Caso contrário, o material deverá ser congelado (de preferência a -60°C ou a temperaturas mais baixas) se houver qualquer demora no transporte para o laboratório. As amostras que não devem ser congeladas são (1) o sangue total coletado para determinação dos anticorpos, a partir do qual o soro deve ser separado antes do congelamento; e (2) o tecido para cultura de células ou órgãos, que deve ser conservado a 4°C e transportado imediatamente ao laboratório.

Os vírus nas doenças respiratórias são encontrados em secreções nasais ou faríngeas. O vírus pode ser demonstrado no líquido de garganta ou em raspados da base de erupções vesiculares. Nas infecções oculares, o vírus pode ser detectado em *swabs* ou raspados conjuntivais, bem como na lágrima. Em geral, as encefalites são diagnosticadas mais facilmente por métodos de amplificação de ácidos nucleicos ou por métodos sorológicos. Os arbovírus e os herpes-vírus não costumam ser isolados do LCS; entretanto, o tecido cerebral de pacientes com encefalite viral pode apresentar o vírus causal. Em doenças associadas a enterovírus, como doença do sistema nervoso central, pericardite aguda e miocardite, os vírus podem ser isolados das fezes, de *swabs* de garganta ou do LCS. Entretanto, como foi previamente discutido, os NAATs são os preferidos para detecção de enterovírus no LCS. Os testes com anticorpos fluorescentes diretos são tão sensíveis quanto a cultura para detecção de infecções das vias respiratórias por vírus sincicial respiratório, vírus *influenza* A e B, vírus *parainfluenza* e adenovírus. Esses testes fornecem resultados poucas horas após a coleta da amostra, em comparação com a necessidade de vários dias para a cultura de vírus. Contudo, esses testes de detecção rápida estão sendo lentamente substituídos por RTq-PCR e por técnicas de microarranjo que permite a detecção simultânea de diferentes agentes virais de interesse.

Exame direto do material clínico: microscopia e coloração

As doenças virais para as quais o exame microscópico direto de impressões ou de esfregaços mostrou-se útil são a raiva, a

QUADRO 47.5 Infecções virais: agentes, amostras e testes diagnósticos

Síndrome e vírus	Amostra	Sistema de detecção	Comentários
Doenças respiratórias			
Vírus <i>influenza</i>	Lavados ou <i>swab</i> de nasofaringe, escarro, amostras respiratórias obtidas de forma invasiva	Cultura de células (PMK, MDCK), ovos embrionados, AF direto, Elisa, amplificação de ácidos nucleicos	Vírus detectado por hemadsorção de eritrócitos de cobaia em 2 a 4 dias. Testes IH e FI usados para identificar vírus; testes de amplificação de ácidos nucleicos podem estar disponíveis em laboratórios públicos de referência
Vírus <i>parainfluenza</i>	Lavados ou <i>swab</i> de nasofaringe, escarro	Cultura de células (PMK, LCC-MK2), AF direto, amplificação de ácidos nucleicos	Deteção de vírus por hemadsorção de eritrócitos de cobaia em 4 a 7 dias. Utilização dos testes IH, IF e IHA para a identificação do vírus
Vírus sincicial respiratório	Lavados de nasofaringe	Cultura de células (HEL, HeLa, HEp-2), AF direto, amplificação de ácidos nucleicos	ECP geralmente visível em 1 a 7 dias. Deteção de antígeno por Elisa
Adenovírus	Lavados ou <i>swab</i> de nasofaringe, fezes, <i>swab</i> conjuntival	Cultura de células (HEp-2, HEK), AF direto, amplificação de ácidos nucleicos, Elisa para adenovírus entéricos	ECP geralmente visível em 3 a 7 dias. IF usada para identificar o vírus
Rinovírus	Lavado ou <i>swab</i> de nasofaringe	Cultura de células (HEL), amplificação de ácidos nucleicos	Os testes NAAT estão disponíveis e substituindo outros métodos
Enterovírus	Lavados ou <i>swabs</i> de nasofaringe, fezes	Cultura de células (PMK, HEL), amplificação de ácidos nucleicos	O vírus <i>Coxsackie</i> raramente cresce em cultura de tecidos; os testes de amplificação de ácidos nucleicos para sistema nervoso central são preferidos
Doenças febris			
Dengue, outras arboviroses	Soro, LCS, amostras de necropsia, vetor (mosquito <i>Aedes</i>)	Camundongos recém-nascidos, cultura de células (Vero)	Muitos vírus desse grupo são altamente infecciosos e facilmente transmitidos aos laboratoristas. Alguns só devem ser estudados em laboratórios com acesso controlado. Utilizar sorologia
Febres hemorrágicas			
Ver o Cap. 38	Soro, sangue	Camundongos recém-nascidos, cultura de células (Vero)	Ver comentários sobre doenças febris
Coriomeningite linfocítica (CML)			
Vírus da CML	Sangue, LCS	Cultura celular (Vero, BHK), camundongo recém-nascido	Utilização de IF e neutralização em camundongos para identificação do vírus
Febre de Lassa			
Vírus de Lassa	Sangue, <i>swab</i> de nasofaringe, exsudatos	Cultura de células (Vero, BHK)	O isolamento do vírus de Lassa só é efetuado em laboratório com acesso controlado e restrito

Síndrome e vírus	Amostra	Sistema de detecção	Comentários
Encefalite			
Arbovírus	Soro, LCS, <i>swab</i> de nasofaringe	Camundongo recém-nascido, cultura de células (Vero)	Ver comentários sobre doenças febris
Enterovírus	Fezes, <i>swabs</i> de garganta, LCS	Cultura de células (PMK, HEL), testes de amplificação de ácidos nucleicos	
Vírus da raiva	Saliva, necropsia de cérebro, necropsia de pele (pele da nuca)	Camundongo recém-nascido, IF direta	IF direta é preferível devido à importância do rápido estabelecimento do diagnóstico para tratamento eficaz
Herpes-vírus	LCS	PCR	
Meningite			
Enterovírus	LCS	Cultura de células (PMK, HEL); os testes de amplificação de ácidos nucleicos são preferidos	
Vírus da caxumba	LCS, <i>swab</i> de nasofaringe, urina	Cultura de células (PMK)	Deteção dos vírus por hemadsorção de eritrócitos de cobaia em 4 a 7 dias. Utilização dos testes de IHA e IF para identificação do vírus em cultura; o PCR está disponível em laboratórios de referência
Mononucleose infecciosa			
Vírus Epstein-Barr (EBV)	Sangue, <i>swab</i> de nasofaringe	Cultura de células linfoides	A cultura de vírus EB não é efetuada rotineiramente em laboratórios de virologia clínica
Citomegalovírus	Sangue, urina, <i>swab</i> de garganta	Cultura de células (HFF); cultura em frasco, detecção de antígenos, PCR	Os tubos de cultura de tecidos devem ser conservados durante 4 semanas; o frasco recipiente, durante 24 h com o antígeno em fase inicial corado por DFA
Hepatite (ver Cap. 37 para testes disponíveis e indicados)			
Vírus da hepatite A	Soro, fezes	IME, Elisa, RT-PCR	
Vírus da hepatite B	Soro	Elisa, PCR	
Vírus da hepatite C	Soro	Elisa, PCR	
Vírus da hepatite D	Soro	Elisa	
Enterite			
Rotavírus	Fezes	Elisa	
Agente Norwalk, calicivírus, astrovírus	Fezes	IME	

(continua)

QUADRO 47.5 Infecções virais: agentes, amostras e testes diagnósticos (continuação)

Síndrome e vírus	Amostra	Sistema de detecção	Comentários
Exantemas			
Vírus varicela-zóster	Fluido de vesícula	Cultura de células (HEK). Anticorpo por fluorescência direta é mais sensível	ECP geralmente visível em 4 dias a 2 semanas
Vírus do sarampo	Swab de nasofaringe, sangue e urina	Cultura de células (PMK, HEK). Anticorpo fluorescente direto	ECP geralmente visível em 2 a 3 semanas; sorologia
Vírus da rubéola	Swab de nasofaringe, sangue e urina	Cultura de células (AGMK, Vero)	Sorologia
Vírus da varíola do macaco, vírus da varíola bovina e tanapoxvírus	Líquido de vesícula	Ovos embrionados, microscopia eletrônica	Testes realizados somente em laboratórios de saúde pública (referência)
Herpes vírus simples	Vesículas, geralmente orais ou genitais	Cultura de células (HFF, Vero); PCR	Em geral, as culturas tornam-se positivas em 24 a 72 h; a IF direta é rápida
Parvovírus	Sangue	Sorologia, PCR	
Parotidite			
Vírus da caxumba	Swab de nasofaringe, urina	Cultura celular (PMK)	Ver, anteriormente, comentários sobre Meningite; sorologia
Anomalias congênitas			
Citomegalovírus	Urina, swab de garganta	Ver, anteriormente, Mononucleose infecciosa	
Rubéola	Swab de garganta, LCS, sangue	Ver, anteriormente, Exantemas	Sorologia
Conjuntivite			
Herpes simples	Swabs da conjuntiva, lágrima	Ver, anteriormente, Exantemas	
Herpes-zóster			
Adenovírus		Ver, anteriormente, Doenças respiratórias	
Enterovírus			
Aids (Síndrome da imunodeficiência adquirida)			
Vírus da imunodeficiência humana	Sangue, particularmente leucócitos	Cultura de CSP do paciente (não é realizada na maior parte dos laboratórios clínicos)	Anticorpo para Elisa, confirmação por <i>Western blot</i> . Vírus quase sempre detectável em células polimorfonucleares quando os anticorpos séricos estão presentes; RT-PCR
Infecções por papovavírus			
Papovavírus HC humano	Cérebro, urina, amostras de tecidos	Cultura de células (HFF), EM	
Papovavírus BK humano		Amplificação de ácidos nucleicos	
Papilomavírus	Biópsias, verrugas	DNA, IF	Hibridização do DNA feita em esfregaços e líquidos Pap

AF: anticorpo fluorescente; AGMK: rim de macaco verde africano; BHK: rim de *hamster* recém-nascido; CSP: células de sangue periférico; ECP: efeito citopático; Elisa: imunoenensaio enzimático; FC: fixação do complemento; HEK: rim embrionário humano; HEL: rim embrionário humano; HeLa: linhagem de células epiteliais humanas; HEp-2: linhagem de células epiteliais humanas tipo 2; HFF: fibroblastos de prepúcio humano; IF: anticorpo fluorescente; IH: inibição da hemaglutinação; IHA: inibição da hemadsorção; IME: imunomicroscopia eletrônica; LCC-MK2: linhagem celular de rim de macaco; LCM: coriomeningite linfocítica; MDCK: linhagem de células renais de cão; PCR: reação em cadeia da polimerase; PMK: rim de macaco primário; RIA: radioimunoensaio; RT-PCR: transcriptase reversa — reação em cadeia da polimerase; Vero: linhagem celular de rim de macaco.

*Diversos testes que utilizam soro de pacientes e antígenos virais são utilizados para o diagnóstico. São empregados testes semelhantes que utilizam vírus isolados do paciente e antissoros conhecidos para identificação do agente infectante. Esses testes incluem neutralização da replicação viral (inibição do efeito citopático), fixação do complemento e outros testes relacionados, anteriormente, na legenda.

infecção pelo herpes-vírus simples e a infecção pelo vírus varicela-zóster. A coloração de antígenos virais por imunofluorescência em um esfregaço cerebral ou impressões corneanas do animal raivoso ou da pele da nuca de seres humanos constitui o método de escolha para o diagnóstico rotineiro de raiva.

Cultura de vírus

A. Preparação dos inóculos

Os líquidos isentos de bactérias, como o LCS, o sangue total, o plasma ou o creme leucocitário, podem ser inoculados em culturas de células, diretamente ou após diluição com solução de fosfato tamponada (pH de 7,6). Em geral, a inoculação em ovos embrionados ou em animais para o isolamento de vírus só é efetuada em laboratórios especializados.

O tecido é lavado em meios de cultura ou água esterilizada, cortado em pequenos fragmentos com tesoura e macerado para se obter uma pasta homogênea. Adiciona-se diluente em quantidade suficiente para obter uma concentração de 10 a 20% (peso/volume). Essa suspensão pode ser centrifugada a baixa velocidade (inferior a 2.000 rpm) durante 10 min para sedimentar os restos celulares insolúveis. O líquido sobrenadante pode ser inoculado; se houver bactérias, serão eliminadas conforme se discutirá adiante.

Os tecidos também podem ser submetidos à ação da tripsina, e a suspensão celular resultante pode (1) ser inoculada em monocamada de células de cultura de tecido existente ou (2) cocultivada com outra suspensão de células comprovadamente isenta de vírus.

Se o material a ser testado contiver bactérias (lavado de garganta, fezes, urina, tecido infectado ou insetos), deverão ser inativadas ou removidas antes da inoculação.

1. Agentes bactericidas — os antibióticos são comumente utilizados em combinação com a centrifugação diferencial (ver adiante).

2. Métodos mecânicos

a. Filtros — preferem-se os filtros de membrana do tipo Millipore de acetato de celulose ou material inerte semelhante.

b. Centrifugação diferencial — trata-se de um método conveniente para remoção de muitas bactérias de preparações com contaminação maciça de vírus pequenos. As bactérias são sedimentadas a baixas velocidades que não sedimentam os vírus. Em seguida, efetua-se uma centrifugação a alta velocidade para sedimentar o vírus. Depois, o sedimento contendo o vírus é novamente suspenso em um pequeno volume.

B. Cultivo em cultura de células

As técnicas de cultivo de células estão sendo substituídas por métodos de detecção de antígenos e por NAATs. Entretanto, elas ainda são úteis e utilizadas em laboratórios públicos de virologia clínica e pesquisa. Quando os vírus se multiplicam em cultura de células, produzem efeitos biológicos (p. ex., alterações citopáticas, interferência viral, produção de hemaglutinina), permitindo a identificação do agente.

As culturas em tubo de ensaio são preparadas pelo acréscimo de células suspensas em 1 a 2 mL de líquido nutriente contendo soluções salinas balanceadas e vários fatores de

crescimento (em geral, soro, glicose, aminoácidos e vitaminas). As células de natureza fibroblástica ou epitelial ligam-se e crescem na parede do tubo de ensaio, onde podem ser examinadas com a ajuda de um microscópio de baixo aumento.

No caso de muitos vírus, o crescimento do agente é acompanhado da degeneração dessas células (Fig. 47.1). Alguns vírus produzem efeito citopático (ECP) característico em cultura de

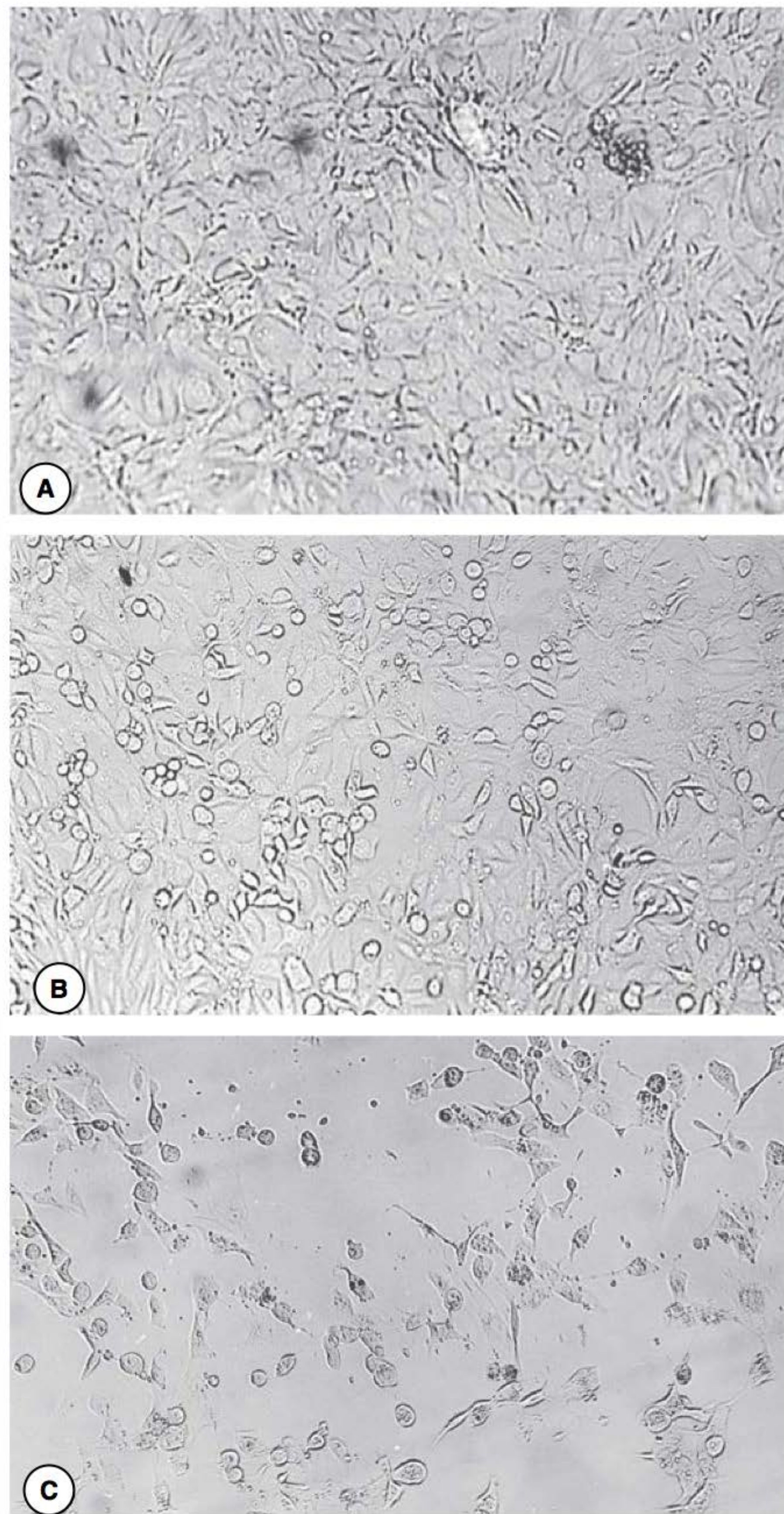


FIGURA 47.1 (A) Monocamada de células renais normais de macaco não coradas em cultura (ampliada 120 vezes). (B) Cultura de células renais de macaco não coradas, mostrando o estágio inicial dos efeitos citopáticos típicos da infecção por enterovírus (ampliada 120 vezes). Cerca de 25% das células na cultura exibem efeitos citopáticos, indicando multiplicação viral (efeitos citopáticos 1+). (C) Cultura de células renais de macaco não coradas, ilustrando efeitos citopáticos mais avançados do enterovírus (efeitos citopáticos 3+ a 4+) (ampliada 120 vezes). Quase 100% das células estão afetadas e a maior parte da camada de células desprende-se da parede do tubo de cultura.

células (tumefação, retração, células arredondadas, formação de sincícios e de agregados), permitindo o estabelecimento de um rápido diagnóstico presuntivo quando a síndrome clínica é conhecida. Assim, por exemplo, o vírus sincicial respiratório tipicamente produz células gigantes multinucleadas (sincícios), enquanto os adenovírus produzem aglomerados de grandes células redondas, semelhantes a cachos de uvas. Alguns vírus (p. ex., vírus da rubéola) não produzem alterações citopáticas diretas, mas podem ser detectados pela sua interferência no efeito citopático de um segundo vírus (interferência viral). Os vírus *influenza* e alguns paramixovírus podem ser detectados em 24 a 48 h mediante o acréscimo de eritrócitos às culturas infectadas. Os vírus que estão amadurecendo na membrana celular produzem uma hemaglutinina que permite a adsorção dos eritrócitos à superfície celular (hemadsorção). A identidade de um isolado viral é estabelecida com antissoros específicos do tipo que inibem o crescimento viral ou reagem com antígenos virais.

Alguns vírus podem crescer em cultura, mas esse é um processo muito lento e árduo. Em vez da cultura, são empregados testes alternativos para diagnosticar tais infecções (ver adiante).

C. Culturas em tubos (*centrifugation-enhanced culture [shell vial]*)

É um método que permite a rápida detecção de vírus em amostras clínicas, tendo sido adaptado para diversos vírus, como o citomegalovírus e o vírus varicela-zóster. Assim, por exemplo, é possível detectar o CMV em 18 a 24 h em comparação com o período necessário de 2 a 4 semanas para a cultura clássica de células. As sensibilidades da cultura em tubos e da cultura clássica de células para o citomegalovírus (CMV) são comparáveis. Monocamadas de linhagem celular apropriada (p. ex., células MRC-5 para o CMV) crescem em lamínulas, em tubos de 15 × 45 mm. Após a inoculação da amostra, os tubos são centrifugados a 700 rpm durante 40 min à temperatura ambiente; são incubados a 37°C durante 16 a 24 h e fixados. Utiliza-se um anticorpo monoclonal específico contra uma proteína nuclear do CMV presente em uma fase muito inicial da cultura. Existem vários desses anticorpos comercialmente disponíveis. São empregados métodos de coloração de anticorpos diretos ou indiretos, bem como a microscopia de fluorescência, para determinar as culturas positivas. São incluídos tubos de controle tanto positivos quanto negativos em cada teste. Uma modificação da técnica de cultura em tubos foi desenvolvida para permitir a recuperação simultânea e a detecção de múltiplos vírus respiratórios com o uso de células R-Mix. Esse método é comercializado pela companhia Quidel/Diagnostic Hybrids, Inc., Athens, Ohio. Um frasco contém duas linhagens celulares (mix), tais como células de carcinoma de pulmão humano A549 e fibroblastos de pulmão de marta Mv1Lu. O laboratório fará o inóculo dos dois frascos. Após 18 a 24 h de incubação, um frasco é corado com o emprego de um conjunto de anticorpos imunofluorescentes que detectam todos os vírus respiratórios comuns. Se a coloração for positiva, as células presentes no segundo frasco são raspadas, inoculadas em oito lâminas e então coradas com anticorpos monoclonais reagentes que detectam vírus específicos. Não são obtidos vírus isolados quando se emprega a técnica dos tubos. Se houver necessidade de isolamento do vírus para testes de sensibilidade a antivirais, deve-se recorrer à técnica clássica de cultura de células.

Sistema enzimático de indução de vírus (*Enzyme-linked virus-inducible system [ELVIS]*)

Essa nova linhagem celular (Quidel/Diagnostic Hybrids, Inc) é um novo sistema usado para detecção do vírus herpes simples (HSV) em cultura. Uma linhagem celular renal de hamsters recém-nascidos foi geneticamente modificada, usando uma sequência promotora do gene UL97 do HSV e o gene LacZ de *E. coli*. Quando o HSV está presente na amostra clínica ele ativa o promotor UL97, que por sua vez ativa o gene LacZ para produção da enzima β -galactosidase. Assim, quando o substrato para essa enzima é adicionado uma coloração azulada é produzida, indicando a presença do agente viral. O tipo de HSV pode ser definido adicionando na cultura positiva anticorpos monoclonais que detectem o HSV-1 ou o HSV-2.

Detecção de antígenos

A detecção de antígenos virais é amplamente utilizada no diagnóstico virológico. Existem *kits* disponíveis comercialmente para a detecção de muitos vírus, como os herpes simples I e II, *influenza* A e B, vírus sincicial respiratório, adenovírus, vírus *parainfluenza*, rotavírus e citomegalovírus. São empregados múltiplos tipos de ensaio, como ensaio imunoenzimático, anticorpos com fluorescência direta, fluorescência indireta, aglutinação em látex, etc. As vantagens destes processos são que permitem a detecção de vírus de difícil crescimento em cultura de células (p. ex., rotavírus, vírus da hepatite A) ou que crescem muito lentamente (citomegalovírus). Em geral, os testes de detecção de antígenos para vírus são menos sensíveis que a cultura viral e os NAATs. Como discutido anteriormente, esses testes têm sido substituído por testes moleculares.

Amplificação e detecção de ácidos nucleicos

Uma grande variedade de testes está disponível comercialmente para detectar ou amplificar (e detectar) os ácidos nucleicos virais. Tais procedimentos estão rapidamente se tornando padrões para o diagnóstico virológico, suplantando os métodos tradicionais de cultura viral e detecção de antígenos. Os métodos incluem PCR, RT (transcriptase reversa)-PCR e outros. Esses procedimentos permitem a detecção de vírus (p. ex., enterovírus e muitos outros), bem como a quantificação viral (p. ex., HIV-1, citomegalovírus, vírus Epstein-Barr, vírus das hepatites B e C, e HIV). Os dados dos testes quantitativos são usados para guiar a terapia antiviral em várias doenças virais. Um bom exemplo é o HIV/Aids.

Hibridização do ácido nucleico

A hibridização do ácido nucleico para detecção do vírus mostra-se altamente sensível e específica. A amostra é espalhada em uma membrana de nitrocelulose, e o ácido nucleico viral presente na amostra é ligado; em seguida, é desnaturado com álcali *in situ*, hibridizado com um fragmento de ácido nucleico viral marcado, sendo os produtos hibridizados detectados. No caso do rotavírus, que contém RNA de fita dupla, o método de hibridização é ainda mais sensível que o Elisa. O RNA em amostras fecais desnaturadas pelo calor que contém rotavírus é imobilizado conforme foi descrito anteriormente, e a hibridização *in situ* é efetuada com sondas de fita simples marcadas, obtidas por transcrição de rotavírus *in vitro*.

Medição da resposta imunológica em uma infecção viral

Tipicamente, a infecção viral desencadeia respostas imunológicas dirigidas contra um ou mais antígenos virais. Em geral, verifica-se o desenvolvimento de respostas celulares e humorais, de modo que a avaliação de uma delas pode ser utilizada para se estabelecer o diagnóstico de infecção viral. A imunidade celular pode ser avaliada por hipersensibilidade dérmica, transformação linfocítica e testes de citotoxicidade. As respostas imunológicas humorais têm maior importância para o diagnóstico. Os anticorpos da classe IgM aparecem inicialmente, seguidos dos anticorpos IgG. Os anticorpos IgM desaparecem em várias semanas, enquanto os anticorpos IgG persistem durante muitos anos. O diagnóstico de infecção viral é estabelecido sorologicamente pela demonstração de elevação dos títulos de anticorpos contra o vírus ou demonstração de anticorpos antivirais da classe IgM (ver Cap. 8). Os métodos empregados consistem no teste de neutralização, teste de fixação do complemento, teste de inibição da hemaglutinação (IH) e teste de imunofluorescência (IF), hemaglutinação passiva e imunodifusão.

A determinação dos anticorpos por diferentes métodos não fornece necessariamente resultados paralelos. Os anticorpos detectados pelo teste de Fixação do complemento são encontrados na presença de infecção por enterovírus e no período convalescente, mas não persistem. Os anticorpos detectados pelo teste de neutralização também aparecem durante a infecção e persistem por muitos anos. A avaliação dos anticorpos por vários métodos em indivíduos ou grupos de indivíduos fornece informações diagnósticas, bem como dados sobre as características epidemiológicas da doença.

Os testes sorológicos para o diagnóstico viral são mais úteis quando o vírus apresenta um longo período de incubação prévio ao aparecimento de manifestações clínicas. Uma lista parcial de tais vírus inclui o vírus Epstein-Barr, o vírus do Nilo Ocidental, o vírus da hepatite e o HIV. Em geral, os testes para detecção de anticorpos para esses vírus são o primeiro passo no diagnóstico e podem, na maioria dos casos, ser seguidos mais tarde por NAATs que são usados para avaliação dos níveis de circulação viral como uma estimativa do nível de infecção e/ou resposta a terapias antivirais específicas. Outra importante utilidade dos testes sorológicos é na avaliação da própria vulnerabilidade ou exposição prévia a um vírus e ao potencial de reativação no contexto de imunossupressão ou no transplante de órgãos.

Imunomicroscopia eletrônica

Os vírus que não podem ser detectados por técnicas convencionais podem ser observados à imunomicroscopia eletrônica (IME). Os complexos de antígeno-anticorpo ou os agregados formados entre partículas virais em suspensão são produzidos pela presença de anticorpos no antissoro adicionado, bem como detectados mais facilmente e com maior segurança do que as partículas virais isoladas. A IME é utilizada para a detecção de vírus que causam enterite e diarreia; em geral, esses vírus não podem ser cultivados por cultura viral de rotina. Os rotavírus são detectados por Elisa.

HIV

O vírus 1 da imunodeficiência humana ocorre no mundo inteiro, enquanto o HIV-2 é encontrado principalmente na África

Ocidental e em algumas outras áreas geográficas. A infecção pelo HIV representa um caso especial no diagnóstico virológico. O diagnóstico laboratorial deve ser estabelecido com precisão, devendo haver pouca ou nenhuma possibilidade de resultado falso positivo. Estabelecido o diagnóstico, devem ser efetuados testes laboratoriais para se acompanhar a evolução da infecção e ajudar a monitorar a eficácia da terapia. Os bancos de sangue utilizam testes muito sensíveis para a detecção de ambos os tipos virais em doadores de sangue, impedindo, assim, a ocorrência de infecção pelo HIV-1 transmitida por transfusões.

A compreensão dos testes diagnósticos para o HIV e dos testes utilizados para monitoramento da infecção exige um conhecimento da estrutura e replicação do HIV, bem como da resposta imunológica à infecção. Apresentamos aqui um breve resumo desses tópicos. O HIV é discutido de modo mais pormenorizado no Capítulo 44.

O HIV-1 e o HIV-2 são retrovírus. São vírus dotados de envelope, com fitas simples do RNA de sentido positivo. Mediante o uso da enzima viral transcriptase reversa, o RNA é transcrito em DNA, em seguida integrado ao genoma da célula do hospedeiro. A proteína viral mais comumente determinada diretamente é a p24 (proteína do capsídeo). Podem-se observar respostas humorais contra uma variedade de outros produtos gênicos do HIV: produtos *env*, glicoproteína (gp) 160 (gp160, gp120, gp41); *gag*, p24, p17, p9, p7; e *pol*, p66, p51 e p32. O vírus HIV-2 apresenta produtos gênicos similares.

Duas a 6 semanas após a infecção, 50% ou mais dos pacientes desenvolvem uma síndrome semelhante à mononucleose infecciosa. Nesta ocasião, são observados níveis elevados de HIV-1 no sangue, que pode ser detectado por cultura ou PCR da transcriptase reversa. Os anticorpos dirigidos contra as proteínas do HIV-1 tornam-se detectáveis 2 a 8 semanas após a infecção. Observa-se uma resposta da IgM aos produtos gênicos *gag*, gradualmente convertida em resposta da IgG. Em geral, respostas da IgG à p24 e à gp120 ocorrem inicialmente, seguidas de resposta à gp41 e outras proteínas. Na viremia, os níveis sanguíneos de p24 declinam com a resposta humoral e podem tornar-se indetectáveis durante o período de latência da infecção, enquanto os níveis de anticorpos contra a p24 permanecem elevados. Posteriormente, na evolução da doença, os níveis de anticorpos contra a p24 diminuem, enquanto o antígeno p24 aumenta. Durante o período que sucede à infecção, quando aparecem níveis elevados de viremia do HIV-1, a contagem de células T CD4 declina. No início do período de latência, normaliza-se e, em seguida, diminui gradualmente no decorrer do tempo e mais rapidamente nos estágios avançados da Aids.

Os testes utilizados para se estabelecer o diagnóstico de infecção pelo HIV-1 consistem em produtos comercialmente disponíveis altamente desenvolvidos e padronizados. Pode-se dispor de vários *kits* para o mesmo tipo de teste. Esses testes são descritos de modo sucinto a seguir.

Ensaio para os anticorpos anti-HIV

A. Ensaio de imunoabsorção ligado a enzima (ensaio imunoenzimático)

O Elisa constitui o teste de rastreamento primário para o diagnóstico de infecção pelo HIV-1. Em geral, os antígenos do HIV-1 são imobilizados em uma superfície sólida, geralmente orifícios de plástico ou partículas. Em seguida, adicionam-se o

soro do paciente e os reagentes apropriados. Os anticorpos anti-HIV-1 ligados aos antígenos imobilizados do vírus são detectados com uma IgG anti-humana marcada com enzima e uma reação colorimétrica. A intensidade da cor é proporcionalmente maior com concentrações mais elevadas de anticorpo anti-HIV-1. A cor acima de determinado ponto-limite é considerada positiva. O Elisa para o HIV-1 apresenta sensibilidade de mais de 99% e especificidade de 99%. Em geral, os lactentes nascidos de mães infectadas pelo HIV-1 apresentam Elisa positivo para o HIV-1 devido à transferência transplacentária de anticorpos. O teste irá tornar-se gradualmente negativo se o lactente estiver realmente infectado pelo HIV-1. Várias gerações desses testes foram desenvolvidas. Muitas são automatizadas e estão disponíveis para detecção simultânea de ambos os tipos virais.

A necessidade de detecção rápida em indivíduos que possam se mostrar positivos para o HIV enquanto ainda estão em um ambiente clínico tem levado a diversos melhoramentos no teste de Elisa. Um ensaio foi desenvolvido para testar as secreções orais. Além desse, diversos ensaios imunoenzimáticos rápidos para uso a partir do sangue total, plasma e do soro foram aprovados. Todos os testes rápidos devem ser tratados da mesma maneira que os testes convencionais. Os resultados positivos devem ser confirmados por *Western blot*. Um teste negativo em uma pessoa com fortes suspeitas clínicas deverá ser repetido se for clinicamente indicado ou pode ser realizado um NAAT caso disponível.

B. Western blot

É utilizado como medida dos anticorpos anti-HIV-1 específicos para se confirmar um resultado positivo do Elisa. No teste *Western blot*, as proteínas do HIV-1 são separadas por eletroforese em papel de nitrocelulose. A tira de papel é incubada com o soro do paciente. Os anticorpos anti-HIV-1 específicos são subsequentemente detectados por meio de uma IgG anti-humana ligada a enzima. Na reação colorimétrica positiva, aparecem bandas no papel de nitrocelulose que correspondem à posição dos antígenos específicos do HIV-1. O critério para um teste positivo consiste na presença de duas bandas que correspondem a p24, gp41 e gp120/160. A ausência de bandas indica resultado negativo, enquanto a presença de bandas que não preenchem o critério de positividade do teste representa um resultado indeterminado. Resultados falsos-positivos e falsos-negativos são relativamente raros. Indivíduos infectados pelo HIV-2 podem apresentar padrão incomum no *Western blot* para HIV-1, devendo ser necessário outro teste de *Western blot* para esse tipo viral. Os pacientes com Elisa positivo e *Western blot* indeterminado devem ser submetidos a nova avaliação clínica e novos testes, dentro de 2 a 6 meses. Um lactente nascido de mãe infectada pelo HIV-1 pode apresentar *Western blot* positivo; entretanto, esse resultado irá tornar-se gradualmente negativo se o lactente não estiver realmente infectado pelo HIV-1.

Ensaio para detecção direta de infecção pelo HIV

A. Detecção do antígeno p24

Utiliza-se o ensaio Elisa para detecção do antígeno p24. Os anticorpos anti-p24 são imobilizados em uma superfície sólida e incubados com o soro do paciente. A quantidade de p24 é

detectada por meio de uma IgG anti-HIV-1 ligada a enzima e uma reação colorimétrica. O antígeno p24 pode ser detectado durante o estágio de viremia aguda da infecção, bem como nos estágios tardios da Aids. Em uma porcentagem muito pequena de indivíduos assintomáticos com infecção pelo HIV-1, obtém-se um resultado positivo para o antígeno p24. O teste para detecção da p24 não é normalmente realizado, nos EUA. Porém, é com frequência empregado em países pobres e particularmente em recém-nascidos.

B. Detecção do RNA do HIV-1

Dispõe-se comercialmente de uma variedade de ensaios para detecção e quantificação do RNA do HIV-1, como os ensaios PCR, NASBA, TMA e bDNA para detecção e quantificação do HIV-1. (Ver, anteriormente, seção sobre o diagnóstico molecular.) Esses ensaios qualitativos podem ser utilizados para detecção de infecção pelo HIV-1 antes da soroconversão, quando os testes de anticorpos se tornam positivos, para resolver casos indeterminados de *Western blot* no diagnóstico de infecção em recém-nascidos, bem como para acompanhamento da eficácia da terapia anti-HIV-1.

C. Detecção do DNA pró-viral do HIV-1

O DNA é extraído de células mononucleares obtidas do sangue periférico anticoagulado. *Primers* de oligonucleotídeos específicos para segmentos do DNA pró-viral do HIV-1 integrado são utilizados em um ensaio de PCR. (Ver, anteriormente, a seção sobre o diagnóstico molecular.) Esse tipo de ensaio pode ser utilizado para um lactente com anticorpos positivos nascido de mãe infectada pelo HIV-1, para determinar se o lactente também apresenta infecção. É o teste de escolha para crianças com menos de 18 meses de vida.

D. Cultura do HIV-1

A cultura de tecido foi o primeiro teste a ser desenvolvido para se estabelecer o diagnóstico de infecção pelo HIV-1. Era utilizada para estabelecer a presença do HIV-1 como causa da Aids. Células mononucleares do sangue periférico de um paciente potencialmente infectado são cultivadas junto com células mononucleares do sangue periférico de um indivíduo não infectado, estimuladas com fitoemaglutinina e interleucina 2. As culturas são examinadas à procura de células gigantes multinucleares, atividade da transcriptase reversa do HIV-1 ou produção do antígeno p24 do HIV-1. Além disso, podem-se efetuar uma cultura de células quantitativa e uma cultura de plasma quantitativa. A cultura do HIV-1 tem sensibilidade de 95 a 99%, é demorada e de custo elevado, não sendo, portanto, eficaz em termos de custo para uso rotineiro. Modificações nas técnicas de cultivo são empregadas nos ensaios fenotípicos para detecção da resistência a antirretrovirais. Apesar dos recentes avanços, esses ensaios ainda estão em pesquisa intensiva e estão disponíveis em poucos laboratórios de referência.

Monitoramento das contagens de células T CD4

As contagens absolutas de células T CD4 são amplamente utilizadas para monitoramento do estado de infecção do paciente

pelo HIV-1. Em geral, as contagens são efetuadas com a utilização de células do sangue total coradas com anticorpos anti-CD4 marcados com um corante fluorescente. Os eritrócitos são lisados, e efetua-se a contagem de células CD4 utilizando a citometria de fluxo.

Testes prognósticos e monitoração do tratamento

A determinação de uma alta carga viral através de níveis elevados do RNA do HIV-1 indica prognóstico sombrio. De forma semelhante, uma baixa contagem de células T CD4 indica risco de infecção oportunista e, portanto, um prognóstico mais sombrio. Tanto a carga viral quanto a contagem de células T CD4 são utilizadas para monitoramento da eficácia da terapia farmacológica anti-HIV-1. A carga viral é rotineiramente recomendada como referência no início da terapia antirretroviral, em sua alteração e na evidenciação de sua eficácia.

Os ensaios de genotipagem usam o teste de RT-PCR para amplificar o RNA do HIV-1 que codifica enzimas virais-alvos de fármacos antirretrovirais. A análise das sequências amplificadas permite a detecção de mutações que codificam a resistência aos fármacos. Tal teste de resistência é recomendado em casos de falha nos regimes de primeira ou segunda escolha e em mulheres grávidas.

QUESTÕES DE REVISÃO

- Uma mulher de 47 anos de idade recebeu um transplante de medula óssea como parte do tratamento de leucemia mieloide crônica. Durante sua internação no hospital, teve um cateter venoso central instalado para administração de fluidos. Logo antes do transplante, a paciente apresentou uma contagem de leucócitos baixa. Desenvolveu febre, e foram realizadas hemoculturas. Qual dos seguintes cenários sugere que as culturas de sangue positivas resultaram de um contaminante?
 - Duas culturas de sangue venoso periférico positivas para *Staphylococcus aureus*
 - Duas culturas de sangue venoso periférico positivas para *Staphylococcus epidermidis* com duas culturas coletadas do cateter central também positivas para *Staphylococcus epidermidis*
 - Uma cultura positiva de sangue venoso periférico e uma positiva do cateter central para *Escherichia coli*
 - Uma cultura de sangue do cateter central positiva para espécies de *Corynebacterium* e duas de sangue periférico negativas
 - Duas culturas do cateter central positivas para *Candida albicans*
- Dois dias atrás, um jovem de 22 anos de idade retornou de uma viagem de duas semanas pelo México. Desenvolveu uma diarreia em 24 h. Qual das seguintes alternativas não irá estabelecer a etiologia dessa diarreia?
 - Cultura de fezes para *Salmonella*, *Shigella* e *Campylobacter*
 - Cultura de fezes para o rotavírus e vírus tipo Norwalk
 - Ensaio imunoenzimático nas fezes para o antígeno de *Giardia lamblia*
 - Exame das fezes para *Entamoeba histolytica*
- Um homem de 37 anos de idade viajou para o Peru durante o período da epidemia de cólera. Um dia após seu retorno, desenvolveu diarreia aquosa grave. Para melhorar o isolamento do *Vibrio cholerae* das fezes, o laboratório precisa incluir:
 - Semeadura em ágar de MacConkey
 - Semeadura em ágar-sangue de *Campylobacter*
 - Semeadura em ágar-tiosulfato, sais biliares, citrato e sacarose
 - Semeadura em ágar-sulfito de bismuto
 - Semeadura em ágar de Hektoen
- Um homem de 42 anos de idade sabe que está com HIV/Aids. Qual das seguintes alternativas é o método mais apropriado para se acompanhar o progresso com a terapia altamente ativa com antirretrovirais (HAART)?
 - Determinação da carga viral
 - Acompanhamento do nível de anticorpos anti-HIV
 - Emprego do *Western blot* para acessar os níveis de anticorpos anti-P24
 - Culturas repetidas do sangue para o HIV-1 a fim de determinar quando as culturas irão se tornar negativas
 - Genotipagem do HIV-1 para determinar a suscetibilidade aos antirretrovirais
- Uma criança de 2 anos de idade desenvolve diarreia. Suspeita-se de infecção por rotavírus. Qual das seguintes alternativas pode ser útil para se diagnosticar infecção por rotavírus?
 - Coloração com anticorpo fluorescente em amostras de fezes
 - Microscopia óptica para detectar células de mucosa com efeito citopático
 - Detecção de antígenos virais nas fezes por Elisa
 - Cultura viral
- Qual das seguintes alternativas é apropriada para determinação do diagnóstico etiológico em infecções?
 - Cultura e identificação do agente etiológico
 - Hibridização DNA-DNA ou DNA-RNA para detecção de genes específicos de patógenos em amostras de pacientes
 - Demonstração de resposta imunológica significativa por anticorpos ou celular para um agente infeccioso
 - Identificação morfológica do agente em colorações de amostras ou secções de tecidos por microscopia óptica ou eletrônica
 - Detecção do antígeno para o agente etiológico por ensaio imunológico
 - Todas as opções anteriores
- Uma mulher de 45 anos de idade é admitida em um hospital devido a febre, perda de 6 kg e murmúrio cardíaco recente. É diagnosticada uma provável endocardite. Quantas hemoculturas e durante qual período devem ser feitas para fornecer evidências de infecção bacteriana específica em uma endocardite?
 - Uma
 - Duas no intervalo de 10 min
 - Três em 2 h
 - Três em 24 h
 - Seis em 3 dias
- Um garoto de 4 anos de idade desenvolve diarreia sanguinolenta. Suspeita-se de colite hemorrágica por *Escherichia coli* O157:H7. Que meio deve ser semeado para auxiliar a equipe do laboratório a fazer o diagnóstico dessa infecção?
 - Ágar-sangue
 - Ágar de MacConkey-sorbitol
 - Ágar entérico de Hektoen

- (D) Ágar CIN (cefsulodina, irgasan e novobiocina)
 (E) Ágar tiosulfato, citrato, sais biliares e sacarose
9. Um homem negro de 43 anos de idade dirige frequentemente seu caminhão (carreta de 18 rodas) através do vale central da Califórnia. Dois meses atrás, ocorreu uma grande ventania enquanto ele dirigia pelo vale. Duas semanas depois, ele desenvolveu febre com tosse e dor nos pulmões e na pleura. Foi visto um infiltrado na radiografia de tórax. Diagnosticou-se pneumonia, e o paciente recebeu tratamento com eritromicina. A febre, a tosse, a dor e a infiltração desapareceram em 3 semanas. Há 2 semanas, o homem desenvolveu cefaleia progressiva e teve acessos de vômitos nos últimos 2 dias. Seu LCS apresenta 150 leucócitos/mL, com predomínio de linfócitos e baixa concentração de glicose. Suspeita-se de meningite por *Coccidioides immitis*. Qual dos seguintes testes é o mais sensível e útil para confirmação desse diagnóstico?
- (A) Teste de aglutinação em látex para os anticorpos contra *Coccidioides* a partir do LCS
 (B) Teste de fixação do complemento para os anticorpos contra *Coccidioides* a partir do LCS
 (C) Teste de imunodifusão do LCS para anticorpos contra *Coccidioides immitis*
 (D) Cultura para *Coccidioides immitis* a partir do LCS
 (E) Teste de fixação do complemento no soro para os anticorpos contra o *Coccidioides immitis*
10. Um paciente de 5 anos de idade que recebeu transplante renal e que está sendo tratado com ciclosporina, desenvolve um distúrbio linfoproliferativo. Qual dos seguintes vírus é o mais provável responsável por esse distúrbio?
- (A) Citomegalovírus
 (B) Herpes-vírus simples
 (C) Vírus Coxsackie B
 (D) Vírus da hepatite B
 (E) Vírus Epstein-Barr
11. Todas as alternativas indicadas a seguir são apropriadas para o uso de testes sorológicos para vírus, *exceto*:
- (A) Como uma indicação de suscetibilidade a uma infecção viral em particular
 (B) Para o diagnóstico quando o vírus tem um longo período de incubação
 (C) Para fins de rastreamento
 (D) Para confirmação de uma infecção viral
 (E) Para se monitorar a resposta ao tratamento
12. Em agosto, um menino de 2 anos de idade apresentou febre alta, cefaleia, perturbação mental e rigidez de nuca. O exame físico confirmou a presença de febre, rigidez leve da nuca e que, embora a criança esteja irritada e levemente sonolenta, ela pode ser despertada e está tomando alguns líquidos por via oral. Os parâmetros do LCS mostraram 60 µg/dL de proteínas, 40 µg/dL de glicose e um total de 200 leucócitos, predominantemente mononucleares. A causa mais provável da infecção dessa criança é:
- (A) Bacteriana
 (B) Viral
 (C) Protozoária
 (D) Fúngica
 (E) Micobacteriana
13. No caso da questão anterior, o teste mais útil para se fazer um diagnóstico rápido e definitivo do agente causador mais provável é:
- (A) Um teste de antígeno para *Streptococcus pneumoniae*
 (B) Um teste de aglutinação em látex para o antígeno de *Cryptococcus*
 (C) Um teste de amplificação de ácidos nucleicos para detecção de RNA viral
 (D) Cultura em meio seletivo combinada com um teste de sonda para confirmação
 (E) Um esfregaço do líquido cefalorraquidiano corado por Giemsa
14. O teste de suscetibilidade pelo método da CIM (MIC), em oposição à difusão em disco, é preferido para todos os seguintes tipos de infecção, *exceto*:
- (A) Infecções do trato urinário
 (B) Endocardite
 (C) Osteomielite
 (D) Bacteriemia em paciente neutropênico
 (E) Meningite bacteriana
15. A vaginose bacteriana é mais bem diagnosticada por todos os seguintes métodos, *exceto*:
- (A) Medida do pH vaginal
 (B) Detecção de odor de peixe quando a descarga é alcalinizada com KOH
 (C) Cultivo bacteriano para aeróbios e anaeróbios
 (D) Exame de esfregaço corado por Gram para “células-alvo”

Respostas

- | | | | |
|------|------|-------|-------|
| 1. D | 5. C | 9. B | 13. C |
| 2. B | 6. F | 10. E | 14. A |
| 3. C | 7. D | 11. E | 15. C |
| 4. A | 8. B | 12. B | |

REFERÊNCIAS

- Emonent S, Shah HN, Cherkaoui A, Schrenzel J: Application and use of various mass spectrometry methods in clinical microbiology. *Clin Microbiol Infect* 2010;16:1601.
- Forbes BA, Sahm DF, Weissfeld AS (editors): *Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology*, 12th ed. ASM Press, Washington, DC, 2007.
- Griffith BP, Campbell S, Caliendo AM: Human immunodeficiency viruses. In Versalovic J, Carroll KC, Funke G et al. (editors). *Manual of Clinical Microbiology*, 10th ed. ASM Press, 2011.
- Nolte FS, Caliendo AM: Molecular Microbiology. In Versalovic J, Carroll KC, Funke G et al. (editors): *Manual of Clinical Microbiology*, 10th ed. ASM Press, 2011.
- Persing D, Tenover FC, Tang YW et al. (editors): *Molecular Microbiology: Diagnostic Principles and Practice*, 2nd ed. ASM Press, 2011.
- Winn W, Allen S, Janda W et al. (editors): *Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology*, 6th ed. Lippincott Williams & Wilkins, 2006.

Casos e correlações clínicas

O diagnóstico e o tratamento das doenças infecciosas exigem uma compreensão das manifestações clínicas apresentadas pelo paciente, bem como um conhecimento da microbiologia. Muitas infecções manifestam-se por uma variedade de sinais e sintomas focais e sistêmicos que, nos casos típicos, são altamente sugestivos do diagnóstico, embora a doença possa ser causada por vários microrganismos diferentes. O estabelecimento de um diagnóstico clínico, com confirmação laboratorial subsequente, faz parte da arte da medicina. Este capítulo descreve 23 casos e fornece breves comentários sobre o diagnóstico diferencial e sobre o tratamento das infecções envolvidas. São apresentados dois casos adicionais e dois surtos de doenças de ocorrência natural causados por agentes associados à guerra biológica.

O leitor pode consultar os capítulos anteriores para caracterização dos microrganismos, bem como o Capítulo 47 para informações sobre testes de diagnóstico microbiológico, além de livros de medicina e de doenças infecciosas para informações mais completas acerca das entidades clínicas. Recomendamos o livro de McPhee e Papadakis: *Current Medicina Diagnóstico e Tratamento*.

SISTEMA NERVOSO CENTRAL

CASO 1: MENINGITE

Uma menina de 3 anos de idade foi levada pelos pais ao serviço de emergência devido à ocorrência de febre e perda de apetite nas últimas 24 h, assim como a dificuldade de acordá-la nas últimas 2 h. A história de desenvolvimento da criança foi normal desde o nascimento. Frequentou uma creche e apresentou história clínica de vários episódios de supostas infecções virais semelhantes a de outras crianças na creche. As imunizações estavam em dia.

Manifestações clínicas

A temperatura era de 39,5°C, o pulso de 130/min, e a respiração de 24/min. A pressão arterial era de 110/60 mmHg.

O exame físico revelou uma criança bem desenvolvida e bem nutrida, com peso e altura normais, que estava sonolenta. Quando seu pescoço foi fletido passivamente, ocorreu também flexão das pernas (sinal de Brudzinski positivo, sugerindo irritação das meninges). O exame oftalmoscópico não demonstrou papiledema, indicando ausência de elevação da pressão intracraniana. O restante do exame físico mostrou-se normal.

Achados laboratoriais

Minutos depois, foi obtida uma amostra de sangue para cultura e outros exames laboratoriais, sendo estabelecida uma via intravenosa. A paciente foi submetida à punção lombar em menos de 30 min após a chegada à emergência. A pressão de abertura foi de 350 mmHg (elevada) de líquido cefalorraquiano (LCS), o qual apresentou aspecto turvo. Foram coletados vários tubos de LCS para cultura, contagem celular e testes químicos. Um dos tubos foi levado imediatamente ao laboratório para coloração pelo método de Gram, a qual revelou inúmeras células polimorfonucleares (PMN) com diplococos gram-negativos associados a células (intracelulares) sugestivos de *Neisseria meningitidis* (Cap. 20).

Os testes de química sanguínea foram normais. O hematócrito também se mostrou normal. A contagem de leucócitos foi de 25.000/ μ L (acentuadamente elevada), com 88% de PMN e contagem absoluta de PMN de 22.000/ μ L (bastante elevada), 6% de linfócitos e 6% de monócitos. O LCS apresentou 5.000 PMN/ μ L (normal: 0 a 5 linfócitos/ μ L). A proteína do LCS foi de 100 mg/dL (elevada), e o nível de glicose, de 15 mg/dL (baixo, caracterizando hipoglicorraquia) — todos compatíveis com meningite bacteriana. Nas hemoculturas e nas culturas do LCS, houve o crescimento de *N. meningitidis* do sorogrupo B.

Tratamento

A terapia intravenosa com cefotaxima foi iniciada 35 a 40 min após a chegada da criança; também foi administrada dexametasona. A paciente, tratada durante 14 dias com o antibiótico, recuperou-se sem sequelas visíveis. Outros exames neurológicos e testes de audição foram planejados para o futuro. Foi administrada profilaxia com rifampicina às outras crianças que frequentavam a mesma creche.

Comentário

As características clínicas da meningite bacteriana variam de acordo com a idade do paciente. Em crianças de mais idade e adultos, a meningite bacteriana manifesta-se com febre, cefaleia, vômitos, fotofobia, alteração do estado mental, variando desde sonolência até coma, e sinais neurológicos, incluindo desde anormalidades da função dos nervos cranianos até convulsões. Todavia, alguns sinais sutis, como febre e letargia, são compatíveis com meningite, particularmente em crianças. A meningite é considerada aguda na presença de sinais e sintomas de menos de 24 h de duração e subaguda com sinais e sintomas presentes durante 1 a 7 dias. Indica-se a realização de punção lombar com exame do LCS em todos os casos sob suspeita de meningite.

Com maior frequência, a meningite aguda é causada por algumas espécies de bactérias (Quadro 48.1): estreptococos do sorogrupo B de Lancefield (*Streptococcus agalactiae*) (Cap. 14) e *Escherichia coli* (Cap. 15) em recém-nascidos; *Haemophilus influenzae* (Cap. 18) em crianças não vacinadas de 4 a 6 meses e 6 anos de idade; *N. meningitidis* em crianças, adolescentes não vacinados e adultos jovens; e *Streptococcus pneumoniae* (Cap. 14) ocasionalmente em crianças e com crescente incidência em indivíduos de meia-idade e idosos. Muitas outras espécies de microrganismos causam meningite com menor frequência. A *Listeria monocytogenes* (Cap. 12) provoca meningite em pacientes imunossuprimidos e indivíduos normais. A levedura *Cryptococcus neoformans* (Cap. 45) constitui a causa mais comum de meningite em pacientes com Aids e pode provocar meningite em outros pacientes imunossuprimidos, bem como em indivíduos normais. A meningite causada por *Listeria* ou *Cryptococcus* pode ser aguda ou de início insidioso. Os bacilos gram-negativos provocam meningite em pacientes com traumatismo encefálico agudo e naqueles submetidos à neurocirurgia ou em recém-nascidos (amostras encapsuladas de *E. coli*). O *S. pneumoniae* é detectado na meningite recorrente em pacientes com fraturas de crânio basilares. O *Mycobacterium*

tuberculosis (Cap. 23) pode ter início lento (forma crônica; > 7 dias) em indivíduos imunologicamente normais, porém progride mais rapidamente (forma subaguda) em indivíduos imunossuprimidos, como pacientes com Aids. As espécies de *Naegleria* (Cap. 46), que são amebas de vida livre, provocam algumas vezes meningite em indivíduos com história recente de natação em águas doces mornas. Em geral, os vírus causam meningite mais leve que as bactérias. Os vírus (Caps. 30, 33 e 36) que mais comumente provocam meningite são os enterovírus (vírus Echo e vírus Coxsackie) e o vírus da caxumba.

O diagnóstico de meningite exige elevado grau de suspeita quando ocorrem sinais e sintomas apropriados, devendo-se efetuar uma punção lombar sem demora, seguida de exame do LCS. Tipicamente, os achados no LCS incluem contagens de leucócitos na faixa de centenas a milhares por microlitro (PMN em caso de meningite bacteriana aguda e linfócitos em casos de meningites tuberculosa e viral); glicose < 40 mg/dL ou de menos de 50% das concentrações séricas; e proteína > 100 mg/dL (ver Quadro 48.2). Na meningite bacteriana, a coloração do sedimento citocentrifugado do LCS pelo método de Gram revela a presença de PMN e morfologia bacteriana compatível com a espécie subsequentemente cultivada: *N. meningitidis*, diplococos gram-negativos intracelulares; *H. influenzae*, pequenos cocobacilos gram-negativos; estreptococos do sorogrupo B e pneumococos, além de cocos gram-positivos em pares ou em cadeias. Devem-se efetuar hemoculturas juntamente com as culturas do LCS.

A meningite bacteriana aguda é fatal se não for tratada. A terapia inicial para as meningites bacterianas em crianças com menos de 1 mês de vida deve incluir terapia parenteral de eficácia comprovada contra os microrganismos indicados no Quadro 48.1, incluindo a *L. monocytogenes*. Ampicilina mais cefotaxima ou ceftriaxona com ou sem gentamicina ou ampicilina em combinação com um aminoglicosídeo são recomendadas. Para indivíduos de 1 mês a 18 anos de vida, assim como para adultos com mais de 50 anos, a terapia indicada é vancomicina mais uma cefalosporina de terceira geração devido

QUADRO 48.1 Causas comuns de meningite

Microrganismo	Faixa etária	Comentários	Capítulo
Estreptococos do sorogrupo B (<i>S. agalactiae</i>)	Recém-nascidos de até 3 meses	Cerca de 25% das mulheres são portadoras vaginais de estreptococos do grupo B. A profilaxia com ampicilina durante o trabalho de parto em mulheres com alto risco (ruptura prolongada de membranas, febre, etc.) ou sabidamente portadoras reduz a incidência de infecções nos recém-nascidos	14
<i>Escherichia coli</i>	Recém-nascidos	Geralmente possuem o antígeno K1	15
<i>Listeria monocytogenes</i>	Recém-nascidos; idosos; crianças e adultos imunocomprometidos	Não é incomum em pacientes com deficiência de imunidade celular	12
<i>Haemophilus influenzae</i>	Crianças de 6 meses a 5 anos de idade	A disseminação do uso de vacina reduziu bastante a incidência de meningite por <i>H. influenzae</i> em crianças	18
<i>Neisseria meningitidis</i>	Da 1ª infância até 5 anos e adultos jovens	Vacinas polissacarídeas contra os sorotipos A, C, Y e W135 são usadas em áreas epidêmicas e em associação com surtos	20
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	Todas as faixas etárias; maior incidência em idosos	Ocorre frequentemente com pneumonia; também ocorre com mastoidite, sinusite e fraturas basilares do crânio	14
<i>Cryptococcus neoformans</i>	Pacientes com Aids	Causa frequente de meningite em pacientes com Aids	45

QUADRO 48.2 Achados típicos no LCS em várias doenças do sistema nervoso central

Diagnóstico	Células (por μL)	Glicose (mg/dL)	Proteína (mg/dL)	Pressão de abertura
Normal ^a	0 a 5 linfócitos	45 a 85	15 a 45	70 a 180 mm H ₂ O
Meningite bacteriana (purulenta) ^b	200 a 20.000 PMN	Baixa (< 45)	Alta (> 50)	++++
Meningite granulomatosa (micobacteriana, fúngica) ^{b, c}	100 a 1.000, principalmente linfócitos	Baixa (< 45)	Alta (> 50)	+++
Meningite asséptica, viral ou meningoencefalite ^{c, d}	100 a 1.000, principalmente linfócitos	Normal	Moderadamente alta (> 50)	Normal a +
Meningite por espiroquetas (sífilis, leptospirose) ^c	25 a 2.000, principalmente linfócitos	Normal ou baixa	Alta (> 50)	+
Reação "na vizinhança" ^e	Aumento variável	Normal	Normal ou elevada	Variável

^a O nível de glicose no LCS deve ser considerado em relação ao nível de glicemia. Normalmente, o nível de glicose do LCS é 20 a 30 mg/dL inferior ao nível de glicemia ou 50 a 70% do valor normal da glicemia.

^b Microrganismos em esfregaço ou cultura de LCS.

^c Pode haver predomínio de PMN no estágio inicial.

^d Isolamento precoce do vírus do LCS; elevação dos títulos de anticorpos em amostras pareadas de soro.

^e Pode ocorrer na mastoidite, abscesso cerebral, abscesso epidural, sinusite, trombo séptico, tumor cerebral, cultura de LCS geralmente negativa.

à prevalência de *S. pneumoniae* multirresistentes, relatos de aumentos de MIC (concentração inibitória mínima) para a penicilina em meningococos e a prevalência da produção de betalactamases com o *H. influenzae*. Como os adultos com mais de 50 anos também são suscetíveis à *L. monocytogenes*, recomenda-se adição de ampicilina ao regime de tratamento de crianças de mais idade e adultos aos tratamentos listados anteriormente.

Existem evidências disponíveis que corroboram a administração adjuvante de dexametasona 10 a 20 min antes ou concomitantemente à primeira dose do antimicrobiano para crianças com meningite por *H. influenzae*, e para adultos com meningite pneumocócica com a continuação dos esteroides durante os primeiros 2 a 4 dias de terapia.

Diversas vacinas estão atualmente disponíveis e são recomendadas para prevenção das causas mais graves de meningite bacteriana. A vacina conjugada contra o *H. influenzae* tipo B e a vacina pneumocócica 13 valente conjugada fazem parte atualmente dos esquemas rotineiros de vacinação de crianças e recém-nascidos*. A vacina pneumocócica polissacarídica 23-valente é recomendada para prevenção de doença pneumocócica invasiva em certos grupos de alto risco com idade superior a 2 anos. Esses grupos incluem os idosos e aqueles que têm doenças crônicas subjacentes, tais como doença cardiovascular, diabetes melito, problemas pulmonares crônicos, perda de LCS e asplenia, entre outras. A vacina meningocócica conjugada quadrivalente está recomendada atualmente para todas as pessoas saudáveis entre 11 e 19 anos ou mais, e para aquelas de 20 a 55 anos ou mais que apresentem fatores de risco, como, por exemplo, viajantes para áreas endêmicas. Para adultos com mais de 55 anos, a vacina meningocócica polissacarídica está recomendada atualmente, enquanto se aguarda a avaliação da vacina conjugada para esses grupos etários.

* N. de R.T. No Brasil, a vacina conjugada 10-valente foi incorporada desde 2010 ao Calendário Básico de Vacinação Infantil do Ministério da Saúde.

REFERÊNCIAS

- Kim KS: Acute bacterial meningitis in infants and children. *Lancet Infect Dis* 2010;10:32.
- Tunkel AR, Hartman BJ, Kaplan SL et al: Practice guidelines for the management of bacterial meningitis. *Clin Infect Dis* 2004;39:1267.
- Van de Beek D, de Gans J, Tunkel AR, Wijdicks EF: Community acquired bacterial meningitis in adults. *N Engl J Med* 2006;354:44.

CASO 2: ABSCESSO CEREBRAL

Um homem de 57 anos de idade chegou ao hospital com convulsões. Três semanas antes, apresentou cefaleia bifrontal aliviada com ácido acetilsalicílico. A cefaleia sofreu recidiva várias vezes, inclusive uma na véspera do dia em que foi internado. Na manhã de sua internação, apresentou convulsões focais com movimentos involuntários no lado direito do rosto e no braço direito. Enquanto se encontrava na sala de emergência, teve uma convulsão generalizada, controlada com diazepam, fenitoína e fenobarbital intravenoso. A história relatada pela esposa do paciente revelou que fora submetido à extração dentária e fizera uma ponte cerca de 5 semanas antes. O paciente não fuma, bebe apenas socialmente e não está tomando medicação alguma. O restante da história não forneceu qualquer dado útil.

Manifestações clínicas

A temperatura era de 37°C, o pulso de 110/min e a respiração de 18/min. A pressão arterial era de 140/80 mmHg.

Ao exame físico, o paciente apresentou-se sonolento, com diminuição do tempo de atenção. Moveu todos os membros,

porém com menos amplitude no braço direito do que no esquerdo. Constatou-se ligeiro embaçamento do disco óptico esquerdo, sugerindo uma possível elevação da pressão intracraniana. O restante do exame físico mostrou-se normal.

Achados laboratoriais e de imagem

Todos os testes laboratoriais foram normais, como a hemoglobina, o hematócrito, a contagem de leucócitos, a contagem diferencial, os eletrólitos séricos, a ureia sanguínea, a creatinina sérica, o exame de urina, a radiografia de tórax e o ECG. Não foi feita punção lombar, e o LCS não foi examinado devido à possibilidade de elevação da pressão intracraniana causada por lesão expansiva. As hemoculturas foram negativas. A tomografia computadorizada (TC) da cabeça revelou lesão localizada de 1,5 cm no hemisfério parietal esquerdo, sugerindo abscesso cerebral.

Tratamento

O paciente foi submetido à intervenção neurocirúrgica com drenagem da lesão, totalmente removida. A cultura do material necrótico da lesão revelou *Prevotella melaninogenica* (Cap. 21) e *Streptococcus anginosus* (Cap. 14). O exame patológico do tecido indicou que a lesão tinha várias semanas. O paciente recebeu antibioticoterapia durante 4 semanas. Não apresentou mais convulsões e não teve qualquer déficit neurológico subsequente. Um ano mais tarde, os anticonvulsivantes foram suspensos, e a TC de acompanhamento mostrou-se negativa.

Comentário

O abscesso cerebral é uma infecção bacteriana piogênica localizada no interior do parênquima cerebral. As principais manifestações clínicas estão relacionadas com a presença de massa invasiva no cérebro mais do que com os sinais e sintomas clássicos de infecção. Por conseguinte, os pacientes costumam apresentar cefaleia e alteração do estado mental, progredindo para letargia ou coma. Em menos de 50% dos pacientes, ocorrem achados neurológicos focais relacionados com a localização do abscesso; cerca de 33% apresentam convulsões, e menos de 50% têm febre. Em certas ocasiões, os pacientes exibem sinais e sintomas sugestivos de meningite aguda. De início, o médico deve diferenciar o abscesso cerebral de outros processos do sistema nervoso central, incluindo cânceres primários ou metastáticos, abscessos subdurais ou epidurais, infecções virais (encefalite por herpes simples), meningite, acidente vascular encefálico e uma variedade de outras doenças.

Os fatores predisponentes importantes associados à formação de abscesso cerebral incluem infecções em locais distantes com bacteriemia, como endocardite, infecções pulmonares ou outras infecções ocultas. Muitos pacientes foram submetidos a procedimentos dentários relativamente recentes. Além disso, podem ocorrer abscessos cerebrais por disseminação de locais contíguos de infecção, como orelha média, mastoide ou seios, ou após traumatismo penetrante. Entretanto, 20% dos pacientes com abscessos cerebrais não exibem qualquer fator predisponente discernível.

O abscesso cerebral pode ser causado por uma única espécie de bactéria, porém mais de uma espécie é frequentemente isolada — em geral, duas espécies em média. Entre as bactérias facultativas e aeróbias, os estreptococos *viridans* (incluindo cepas não hemolíticas, bem como α e β -hemolíticas, grupo do *S. anginosus*, *Streptococcus mitis* etc.; ver Cap. 14) são os mais comuns, sendo observados em 33 a 50% dos pacientes. O *Staphylococcus aureus* (Cap. 13) é isolado em 10 a 15% dos casos e, quando presente, constitui frequentemente o único microrganismo isolado. Os bastonetes gram-negativos entéricos ocorrem em cerca de 25% dos casos, frequentemente em culturas mistas. Muitas outras bactérias facultativas ou aeróbias (p. ex., *S. pneumoniae*, *Nocardia* sp., *M. tuberculosis* e outras micobactérias não tuberculosas) também são encontradas em abscessos cerebrais. São observadas bactérias anaeróbias em 50% ou mais dos pacientes (Cap. 21). O *Peptostreptococcus* é o microrganismo mais comum, seguido do *Bacteroides* e de espécies de *Prevotella*. O *Fusobacterium*, *Actinomyces* e *Eubacterium* são menos comuns, seguidos de outros anaeróbios. Os fungos (Cap. 45) são verificados quase exclusivamente em pacientes imunocomprometidos. Espécies de *Candida* são os fungos mais prevalentes, porém a frequência de bolores oportunistas, como espécies de *Aspergillus* e *Scedosporium apiospermum*, está aumentando. Fungos dimórficos, tais como o *Coccidioides immitis* também podem causar abscesso cerebral. O *C. neoformans* é um importante patógeno nos pacientes com Aids. Os parasitos (Cap. 46) responsáveis por abscessos cerebrais incluem o *Toxoplasma gondii*, o protozoário mais comum nesses casos, especialmente entre pacientes com Aids, a neurocisticercose (forma larval do *Taenia solium*), *Entamoeba histolytica*, espécies de *Schistosoma* e *Paragonimus*.

Em geral, a punção lombar para coleta de LCS não está indicada aos pacientes com abscesso cerebral (ou outras lesões expansivas no cérebro). O aumento da pressão intracraniana torna o procedimento potencialmente fatal, visto que a herniação do cérebro através do tentório do cerebelo pode resultar em compressão do mesencéfalo. Os achados no LCS não são específicos de abscesso cerebral: verifica-se com frequência a presença de leucócitos, predominantemente células mononucleares; o nível de glicose pode estar moderadamente baixo, e a concentração de proteína elevada. Por conseguinte, se houver suspeita de abscesso cerebral na ausência de febre e sinais sugestivos de meningite aguda, o médico deverá efetuar uma TC. Tipicamente, os abscessos cerebrais exibem captação do material de contraste com realce anelar na TC, embora achados semelhantes possam ser obtidos em pacientes com tumores cerebrais e outras doenças. A ressonância magnética (RM) pode ser útil para diferenciar entre abscessos e tumores cerebrais. A diferenciação definitiva entre abscesso e tumor cerebral é efetuada mediante exame patológico e cultura de tecido da lesão obtido por procedimento neurocirúrgico.

Os abscessos cerebrais sem tratamento são fatais. A excisão cirúrgica constitui a terapia inicial e permite o estabelecimento do diagnóstico de abscesso cerebral. A punção com agulha por meio de uma técnica estereotática constitui uma alternativa à excisão cirúrgica. A antibioticoterapia deve ser parenteral e incluir penicilina G em altas doses para os estreptococos e vários anaeróbios, metronidazol para os anaeróbios resistentes à penicilina G, mais uma cefalosporina de terceira geração para os bastonetes gram-negativos entéricos. Vancomicina ou outro agente

específico contra *S. aureus* deverão ser incluídos na terapia inicial se o paciente tiver endocardite, bacteriemia estafilocócica comprovada, ou se o abscesso revelar a presença de estafilococos. Pode-se instituir uma antibioticoterapia inicial em vez de proceder à cirurgia em alguns pacientes com abscessos cerebrais pequenos (< 2 cm), múltiplos ou de difícil acesso cirúrgico; todavia, a ocorrência de deterioração das funções neurológicas indica necessidade de cirurgia. Uma vez obtidos os resultados de cultura do material do abscesso, a antibioticoterapia inicial deve ser modificada, utilizando-se agentes específicos contra as bactérias isoladas da lesão. A antibioticoterapia deve ser mantida durante pelo menos 3 a 4 semanas, quando o paciente é submetido a excisão cirúrgica, ou durante 8 semanas ou mais nos casos em que não se faz a cirurgia. Em geral, as causas não bacterianas do abscesso cerebral exigem diagnóstico definitivo e terapia específica. Os esteroides para diminuir o intumescimento só deverão ser utilizados se houver um efeito expansivo.

REFERÊNCIAS

- Bernardini GL: Diagnosis and management of brain abscess and subdural empyema. *Curr Neurol Neurosci Rep* 2004;4:448.
- Honda H, Warren DK: Central nervous system infections: Meningitis and brain abscess. *Infect Dis Clin N Am* 2009;23:609.
- Tunkel AR: Brain abscess. In Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (editors). *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*, 7th ed. Philadelphia, Churchill Livingstone Elsevier, 2010.
- Yogev R, Bar-Meir M: Management of brain abscesses in children. *Pediatr Infect Dis* 2004;23:157.

SISTEMA RESPIRATÓRIO

CASO 3: PNEUMONIA BACTERIANA

Um homem de 35 anos de idade foi encaminhado à sala de emergência devido à ocorrência de febre e dor no lado esquerdo do tórax ao tossir. Cinco dias antes, apareceram sinais de infecção viral das vias respiratórias superiores com dor de garganta, coriza e aumento da tosse. Na véspera, apresentou dor torácica no lado esquerdo ao tossir e respirar profundamente. Doze horas antes de chegar à sala de emergência, foi acordado por intenso calafrio, tremor e sudorese. A anamnese revelou que o paciente consome quantidades moderadas a maciças de álcool e fuma um maço de cigarros por dia há cerca de 17 anos. O paciente já trabalhou como mecânico de automóveis. Tem uma história clínica de duas internações anteriores — há 4 anos por abstinência de álcool e há 2 anos por bronquite aguda.

Manifestações clínicas

A temperatura era de 39°C, o pulso de 130/min e a respiração de 28/min. A pressão arterial era de 120/80 mmHg.

O exame físico revelou um homem com peso ligeiramente acima do normal e tosse frequente, colocando a mão sobre o lado esquerdo do tórax ao tossir. O escarro, produzido em pequena quantidade, é espesso e cor de ferrugem. O exame do tórax revelou movimentos normais do diafragma. Constatou-se endurecimento à percussão na parte posterolateral esquerda do tórax, sugerindo a consolidação do pulmão. Foram percebidos sons respiratórios tubulares (brônquicos) na mesma área, juntamente com sons crepitantes secos (estertores), compatíveis com consolidação pulmonar e presença de muco viscoso nas vias respiratórias. O restante do exame físico mostrou-se normal.

Achados laboratoriais e de imagem

As radiografias de tórax mostraram consolidação densa do lado inferior esquerdo, compatível com pneumonia bacteriana. O hematócrito foi de 45% (normal). A contagem de leucócitos atingiu 16.000/ μ L (acentuadamente elevada), com 80% de PMN e contagem absoluta de PMN de 12.800/ μ L (bastante elevada), 12% de linfócitos e 8% de monócitos. Os testes de química sanguínea, inclusive os eletrólitos, mostraram-se normais. O escarro era espesso, amarelo a ferruginoso e de aspecto purulento. A coloração de uma amostra de escarro pelo método de Gram revelou numerosos PMN e diplococos gram-positivos com forma lanceolada. Vinte e quatro horas depois, as hemoculturas tornaram-se positivas para *S. pneumoniae* (Cap. 14). As culturas do escarro revelaram numerosos *S. pneumoniae* e algumas colônias de *H. influenzae* (Cap. 18).

Tratamento

O diagnóstico inicial foi de pneumonia bacteriana, provavelmente pneumocócica. Foi instituída terapia parenteral com penicilina G aquosa, e o paciente recebeu líquidos parenterais. Em 48 h, houve a normalização da temperatura, e o paciente passou a eliminar grandes quantidades de escarro purulento. A penicilina G foi mantida durante 7 dias. Houve resolução da consolidação pulmonar no acompanhamento feito 4 semanas após a internação do paciente.

CASO 4: PNEUMONIA VIRAL

Um homem de 31 anos de idade apresentou queixa de erupção cutânea, tosse e dispneia. Quatro dias antes, começou a sentir-se doente e apresentara febre de 38°C. No dia seguinte, ocorreu erupção cutânea, que inicialmente surgiu em forma de “inchaços”, tornando-se logo vesiculosa. Subsequentemente, apareceram vários outros grupos de lesões cutâneas intensamente pruriginosas. Duas horas antes de sua internação, o paciente sentiu pela primeira vez dor no lado direito do tórax ao tossir ou respirar profundamente.

Duas semanas antes da internação, a filha do paciente, de 8 anos de idade, tivera catapora (Cap. 33), e foi ele quem a tratou. O paciente não sabe se teve catapora quando criança.

Manifestações clínicas

A temperatura era de 39°C, o pulso de 110/min e a respiração de 30/min. A pressão arterial era de 115/70 mmHg. O paciente mostrou-se desconfortável. Apresentava erupção cutânea que consistia em múltiplos grupos ou estágios de lesões, inclusive maculopápulas vermelhas e vesículas rompidas e com crostas. Os dedos das mãos e os lábios exibiam coloração ligeiramente azul. Foram ouvidos estertores bilaterais em ambos os campos pulmonares. O restante do exame físico mostrou-se normal.

Achados laboratoriais e de imagem

As radiografias de tórax revelaram infiltrados pulmonares intersticiais bilaterais e difusos. A gasometria arterial revelou uma PO_2 de 60 mmHg com 91% de saturação da hemoglobina. O hematócrito, a contagem de leucócitos, os eletrólitos séricos e as provas de função hepática mostraram-se normais.

Tratamento e evolução hospitalar

O paciente foi hospitalizado e submetido a oxigenoterapia, com melhora da hipóxia. Recebeu aciclovir em altas doses por via intravenosa. Nos dias seguintes, o estado respiratório melhorou, e no sexto dia a oxigenoterapia foi interrompida. O aciclovir intravenoso foi substituído pela forma oral no 3º dia, sendo mantido por um total de 10 dias. O paciente teve alta no 7º dia.

Comentário

A **pneumonia bacteriana aguda** manifesta-se comumente em forma de início abrupto de calafrios e febre, tosse e, com frequência, **dor torácica pleurítica**. A tosse é frequentemente produtiva, com **escarro purulento**, mas muitos pacientes com pneumonia não se mostram adequadamente hidratados nem produzem escarro até que recebam líquidos, conforme se observou nesse caso. Ocorre dor torácica pleurítica quando o processo inflamatório da pneumonia afeta o revestimento pleural do pulmão e a cavidade torácica; o movimento da pleura, que ocorre com a tosse ou respiração profunda, provoca dor localizada. Os pacientes com pneumonia aguda têm aspecto doente e em geral apresentam taquipneia (respiração acelerada), bem como taquicardia (frequência cardíaca rápida). Muitos pacientes com pneumonia apresentam fatores predisponentes (insuficiência cardíaca congestiva, doença pulmonar obstrutiva crônica, etc.) que sofrem exacerbação antes do desenvolvimento da pneumonia ou em associação com esta.

Os achados ao exame físico estão associados à **consolidação do tecido pulmonar**, muco purulento (**escarro**) nas vias respiratórias e, em alguns pacientes, líquido na cavidade torácica. À percussão, verifica-se endurecimento sobre a área de consolidação (ou de líquido). Quando ocorre consolidação, as pequenas vias respiratórias fecham-se, de modo que apenas as grandes vias respiratórias permanecem abertas. À ausculta, percebem-se sons respiratórios tubulares sobre a área. Se houver o bloqueio de todas as vias respiratórias, nenhum som respiratório será audível. Os sons crepitantes secos (estertores) ou crepitações à ausculta indicam a presença de líquido ou muco nas vias respiratórias; esses sons podem mudar quando o paciente tosse.

A **pneumonia viral** caracteriza-se por inflamação intersticial do tecido pulmonar e formação de membrana hialina nos espaços alveolares, frequentemente acompanhada de bronquiolite e descamação das células ciliadas das pequenas vias respiratórias, com inflamação peribrônquica. Os vírus que mais comumente provocam pneumonia são o sincicial respiratório, *parainfluenza* (tipicamente o tipo 3), *influenza*, adenovírus, o vírus do sarampo e o vírus varicela-zóster (Caps. 32, 39 e 40). O citomegalovírus (Cap. 33) causa pneumonia em pacientes submetidos a transplante de medula óssea alogênica e a transplante de órgãos sólidos; o vírus varicela-zóster também pode causar pneumonia nesses pacientes. Patógenos virais emergentes, como os metapneumovírus e os recém-descobertos coronavírus, podem causar doença que simula a doença causada pelos patógenos respiratórios virais mais comuns (Caps. 40 e 41). Os coronavírus da SARS foram responsáveis por doença respiratória epidêmica fatal em diversos países. Muitos outros agentes infecciosos (bem como agentes não infecciosos) podem causar pneumonia intersticial, com ou sem consolidação focal do pulmão. Entre os exemplos destacam-se a *Legionella pneumophila* (Cap. 22), *Mycoplasma pneumoniae* (Cap. 25) e *Pneumocystis jirovecii* (Cap. 45). Os achados físicos ao exame de tórax na pneumonia viral são frequentemente limitados; muitas vezes, apenas estertores são audíveis à ausculta. Alguns dos vírus provocam erupções características que podem ser úteis para indicar o diagnóstico. As radiografias de tórax revelam infiltrados intersticiais bilaterais e difusos. Pode-se verificar a presença de áreas focais de consolidação. O tratamento de suporte, como oxigenoterapia, e a quimioterapia antiviral específica, quando possível, são importantes.

As causas mais comuns da **pneumonia adquirida na comunidade** consistem em *S. pneumoniae*, *M. pneumoniae* (**pneumonia atípica** em indivíduos jovens) e *L. pneumophila* (Quadro 48.3). Em conjunto, esses patógenos podem ser responsáveis por até 75% dos casos de pneumonia adquirida na comunidade. A pneumonia causada por *H. influenzae* é comum em associação com a doença vascular crônica. Outras causas são a *Chlamydomphila pneumoniae* (Cap. 27) (em até 10% dos casos de pneumonia adquirida na comunidade), *S. aureus* (Cap. 13) em associação com infecções pelo vírus *influenza* e *Klebsiella pneumoniae* (Cap. 15) em alcoolistas crônicos. Outros bacilos gram-negativos constituem causas incomuns de pneumonia adquirida na comunidade. As **infecções pulmonares pleurais com bactérias anaeróbias mistas** estão associadas a determinados fatores predisponentes, como doença periodontal, distúrbios convulsivos, torpor ou coma e aspiração de bactérias da orofaringe no pulmão. Nas infecções anaeróbias mistas, ocorrem pneumonia, abscessos pulmonares e infecção do espaço pleural (**empiema** ou pus na cavidade torácica).

A **pneumonia hospitalar (nosocomial)** é, frequentemente, provocada por bacilos gram-negativos entéricos multirresistentes, como a *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter sp.* (Cap. 15), *Pseudomonas aeruginosa* (Cap. 16) e *S. aureus* (Cap. 13) e a *Legionella* também pode causar pneumonia hospitalar. Fungos, inclusive o *Histoplasma capsulatum*, *C. immitis* e *C. neoformans* (Cap. 45), causam **pneumonia adquirida na comunidade**. As espécies de *Candida* e *Aspergillus* (Cap. 45) têm maior probabilidade de causar infecções hospitalares.

QUADRO 48.3 Características e tratamento de algumas pneumonias

Microrganismo	Contexto clínico	Esfregaços de escarro corados pelo método de Gram	Radiografia de tórax ^a	Exames laboratoriais	Complicações	Terapia antimicrobiana de escolha ^b	Capítulo
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	Doença cardiopulmonar crônica; ocorre após infecções das vias respiratórias superiores	Diplococos gram-positivos	Consolidação lobar	Esfregaço de escarro corado pelo método de Gram; hemocultura, cultura do líquido pleural; antígeno urinário	Bacteriemia, meningite, endocardite, pericardite, empiema	Penicilina G (ou V, via oral); fluoroquinolonas ou vancomicina para cepas de alta resistência à penicilina	14
<i>Haemophilus influenzae</i>	Doença cardiopulmonar crônica; ocorre após infecções das vias respiratórias superiores	Pequenos cocobacilos gram-negativos	Consolidação lobar	Cultura do escarro, hemocultura, cultura do líquido pleural	Empiema, endocardite	Ampicilina (ou amoxicilina) se for betalactamase negativo; cefotaxima ou ceftriaxona	18
<i>Staphylococcus aureus</i>	Epidemias de <i>influenza</i> ; hospitalar	Cocos gram-positivos em aglomerados	Infiltrados focais	Cultura do escarro, hemocultura, cultura do líquido pleural	Empiema, cavitação	Nafcilina ^c	13
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Uso abusivo de álcool, diabetes melito; hospitalar	Bastonetes gram-negativos encapsulados	Consolidação lobar	Cultura do escarro, hemocultura, cultura do líquido pleural	Cavitação, empiema	Uma cefalosporina de 3ª ou 4ª geração; para infecção grave ^d , adicionar gentamicina ou tobramicina	15
<i>Escherichia coli</i>	Hospitalar; raramente adquirida na comunidade	Bastonetes gram-negativos	Infiltrados focais, derrame pleural	Cultura do escarro, hemocultura, cultura do líquido pleural	Empiema	Uma cefalosporina de 3ª geração ^d	15
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Hospitalar; fibrose cística	Bastonetes gram-negativos	Infiltrados focais, cavitação	Cultura de escarro, hemocultura	Cavitação	Cefalosporina antipseudomonas ou carbapenêmico ou betalactâmico/inibidor de betalactamase, como piperacilina/tazobactam mais um aminoglicosídeo	16
Anaeróbios	Aspiração, periodontite	Microbiota mista	Infiltrados focais em zonas pulmonares dependentes	Cultura do líquido pleural ou material obtido por aspiração transtorácica; broncoscopia com amostra protegida	Pneumonia necrosante, abscesso, empiema	Clindamicina	11, 20, 48
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	Adultos jovens; verão e outono	PMN e monócitos; nenhum patógeno bacteriano	Infiltrados focais extensos	Títulos de fixação do complemento ^e ; os títulos de aglutininas frias séricas não são úteis, visto que carecem de sensibilidade e especificidade; PCR	Erupções cutâneas, miringite bolhosa; anemia hemolítica	Eritromicina, azitromicina ou claritromicina; doxicilina, fluoroquinolonas	25

(continua)

QUADRO 48.3 Características e tratamento de algumas pneumonias (continuação)

Microrganismo	Contexto clínico	Esfregaços de escarro corados pelo método de Gram	Radiografia de tórax ^a	Exames laboratoriais	Complicações	Terapia antimicrobiana de escolha ^b	Capítulo
Espécies de <i>Legionella</i>	Verão e outono; exposição a locais de construção, fontes de água, ar-condicionado contaminados; adquiridas na comunidade ou hospitalares	Poucos PMN; ausência de bactérias	Consolidação focal ou lobar	Título de anticorpos imunofluorescentes ^e ; cultura de escarro ou amostra de tecidos ^f , antígeno urinário para <i>Legionella</i> (somente para o sorogrupo 1 <i>L. pneumophila</i>); PCR	Empiema, cavitação, endocardite, pericardite	Azitromicina ou claritromicina, com ou sem rifampicina; fluoroquinolonas	22
<i>Chlamydophila pneumoniae</i>	Clinicamente similar à pneumonia por <i>M. pneumoniae</i> , mas os sintomas prodrômicos têm maior duração (até 2 semanas); é comum a ocorrência de faringite com rouquidão; pneumonia leve em adolescentes e adultos jovens	Inespecífico	Infiltrado subsegmentar, menos proeminente do que na pneumonia por <i>M. pneumoniae</i> ; consolidação rara	O isolamento do microrganismo é muito difícil; os estudos de microimunofluorescência com antígeno TWAR são os testes recomendados	A reinfecção em adultos de mais idade com DPOC subjacente ou insuficiência cardíaca pode ser grave ou mesmo fatal	Doxicilina, eritromicina, claritromicina; fluoroquinolonas	27
<i>Moraxella catarrhalis</i>	Doença pulmonar preexistente; indivíduos idosos; terapia com corticosteroides ou agentes imunossupressores	Diplococos gram-negativos	Infiltrados focais; consolidação lobar ocasional	Coloração de Gram e cultura de escarro ou de aspirado brônquico	Raramente, derrames pleurais e bacteriemia	Sulfametoxazol-trimetoprima ou amoxicilina-ácido clavulânico ou cefalosporina de 2 ^a ou 3 ^a geração	20
<i>Pneumocystis jiroveci</i>	Aids, terapia imunossupressora	Não é útil para o estabelecimento do diagnóstico	Infiltrados intersticiais e alveolares difusos; infiltrados apicais ou do lobo superior em pacientes que recebem pentamidina em aerossol	Cistos e trofozoítos de <i>P. jiroveci</i> em coloração do escarro ou do líquido do lavado broncoalveolar pelas colorações metenamina de prata ou Giemsa; anticorpo imunofluorescente direto no líquido BAL	Pneumotórax, insuficiência respiratória, SARA, morte	Sulfametoxazol-trimetoprima, isetionato de pentamidina	45

^aOs achados radiográficos carecem de especificidade.

^bO teste de sensibilidade aos antimicrobianos deve orientar a terapia.

^cAs infecções causadas por *S. aureus* resistente à nafcilina (oxacilina) são tratadas com vancomicina.

^dMicrorganismos produtores de β-lactamase de largo espectro e carbapenemases podem ter o tratamento complicado.

^eÉ necessária uma elevação de 4 vezes nos títulos para ser diagnóstica.

^fSão necessários meios de cultivo seletivos.

As contagens de células sanguíneas em pacientes com pneumonia, geralmente, revelam leucocitose com o aumento das células PMN. A radiografia de tórax revela infiltrados segmentares ou lobares. Podem-se observar cavidades, sobretudo nas infecções anaeróbias mistas ou na pneumonia causada por *S. aureus* ou por estreptococos do grupo A. Além disso, podem-se observar derrames pleurais que, quando presentes, podem indicar a necessidade de toracocentese visando à obtenção de líquido para contagens celulares e cultura, bem como, conduta terapêutica, no caso de empiema pleural (piotórax ou pleurite purulenta). Em todos os pacientes com pneumonia aguda, devem-se efetuar hemoculturas, e o escarro, quando disponível, também deve ser cultivado.

A maioria dos pacientes com pneumonia bacteriana e muitos pacientes com pneumonia de outras etiologias apresentam escarro mucopurulento. O escarro ferruginoso sugere comprometimento alveolar e está associado à pneumonia pneumocócica, embora também possa ser observado na presença de outros microrganismos. O escarro de odor fétido sugere infecção anaeróbia mista. Deve-se separar uma porção purulenta do escarro para coloração pelo método de Gram e exame microscópico; uma amostra adequada de escarro deve ter mais de 25 células PMN e menos de 10 células epiteliais por campo de pequeno aumento (ampliado 100 vezes). Tradicionalmente, o exame microscópico do escarro tem sido utilizado para ajudar a definir a etiologia da pneumonia. Entretanto, pode ser difícil diferenciar os microrganismos que fazem parte da microbiota orofaríngea normal dos que provocam pneumonia. O achado de numerosos diplococos gram-positivos com forma lanceolada sugere fortemente a presença de *S. pneumoniae*, mas os estreptococos que fazem parte da microbiota orofaríngea podem exibir o mesmo aspecto. O principal valor dos esfregaços de escarro corados consiste na detecção de microrganismos cuja presença não é esperada (p. ex., inúmeras células PMN juntamente com inúmeros bacilos gram-negativos sugerindo bacilos entéricos ou *Pseudomonas*, ou numerosos cocos gram-positivos em cachos, sugerindo estafilococos). As culturas de escarro têm muitas das mesmas desvantagens associadas aos esfregaços; pode ser difícil diferenciar a microbiota normal ou bactérias colonizantes da etiologia da pneumonia.

A verdadeira demonstração da causa da pneumonia é obtida a partir de um conjunto limitado de amostras: hemocultura positiva em um paciente com pneumonia sem nenhuma infecção passível de causar confusão; cultura positiva do líquido pleural ou do aspirado pulmonar direto; e detecção de antígenos circulantes de determinado microrganismo sem infecção passível de causar confusão (p. ex., antígeno urinário contra *S. pneumoniae*). A broncoscopia é utilizada, frequentemente, visando à obtenção de material para estudos diagnósticos em pacientes muito doentes com pneumonia e é recomendada para as pneumonias em agentes de saúde e hospedeiros imunocomprometidos. A cultura quantitativa bacteriana, realizada com uma cuidadosa coleta do lavado broncoalveolar (BAL) usando 10^4 cfu/mL de um patógeno específico com ponto de corte (*cut-off*) para significância clínica, é útil para se estabelecer uma etiologia de pneumonia bacteriana em pacientes não previamente tratados com antibióticos. A broncoscopia com BAL pode também evidenciar um patógeno não bacteriano, como um fungo filamentosos ou patógeno viral em pacientes de alto risco.

Nos EUA, diversas sociedades profissionais estabeleceram normas práticas para o diagnóstico, bem como tratamento empírico e definitivo das pneumonias comunitárias, associadas a centros de tratamento e à ventilação. Para os pacientes com pneumonias comunitárias, um macrolídeo, fluoroquinolona ou doxicilina é recomendado em monoterapia para pacientes previamente saudáveis. Um macrolídeo mais um β -lactâmico ou uma fluoroquinolona em monoterapia são recomendados para tratamento empírico inicial de pacientes ambulatoriais nos quais a resistência é um problema e para pacientes que necessitam de hospitalização. Estes regimes devem ser modificados nos casos em que a etiologia tenha sido estabelecida e a suscetibilidade do agente causador seja conhecida. Nos casos de pneumonia hospitalar, a resistência a múltiplos fármacos é, frequentemente, o maior problema, podendo ser necessária a terapia antipseudomonas com cefalosporinas de terceira geração, carbapenens ou β -lactâmicos/inibidores de β -lactamases em associação ou não com aminoglicosídeos.

REFERÊNCIAS

- American Thoracic Society, Infectious Diseases Society of America: Guidelines for the management of adults with hospital-acquired, ventilator-associated, and healthcare-associated pneumonia. *Am J Respir Crit Care Med* 2005;171:388.
- Anand N, Kollef MH: The alphabet soup of pneumonia: CAP, HAP, HCAP, NHAP, and VAP. *Semin Respir Crit Care Med* 2009;30:3.
- Mandell LA, Wunderink RG, Anzueto A et al.: Infectious Diseases Society of America/American Thoracic Society consensus guidelines on the management of community-acquired pneumonia in adults. *Clin Infect Dis* 2007;44:527.

CORAÇÃO

CASO 5: ENDOCARDITE

Uma mulher de 45 anos de idade foi internada devido a febre, dispneia e perda ponderal. Surgiram calafrios, sudorese e anorexia, 6 semanas antes de sua internação, cuja intensidade aumentou até o momento de ser internada. Apareceu dor persistente nas costas 4 semanas antes da internação. A dispneia de esforço, que ocorria depois de andar os três quartos habituais, passou a ser percebida após caminhar um quarteirão. Por ocasião de sua internação, a paciente relatou uma perda de peso de 5 kg.

Na infância, teve febre reumática, quando apresentou edema das articulações e febre, ficando acamada por 3 meses. Posteriormente, foi ouvido um sopro cardíaco.

Manifestações clínicas

A temperatura era de 38°C, o pulso de 90/min e a respiração de 18/min. A pressão arterial foi de 130/80 mmHg.

O exame físico revelou uma mulher com peso moderadamente acima do ideal, ativa e orientada. Começou a apresentar dificuldade respiratória enquanto estava subindo dois lances de escada. O exame dos olhos revelou mancha de Roth (mancha branca redonda circundada por hemorragia) na retina do olho direito. Foram observadas petéquias na conjuntiva de ambos os olhos. A cabeça e o pescoço apresentaram-se normais sob os demais aspectos. Foram observadas hemorragias subungueais em dois dedos da mão direita e em um dedo da mão esquerda. Foi constatada a presença de nódulos de Osler (pequenas lesões vermelhas ou purpúreas da pele, elevadas e hipersensíveis) nos coxins de um dedo da mão e um dedo do pé. O tamanho do coração mostrou-se normal à percussão. À ausculta, foi percebido um sopro diastólico de tonalidade grave com estenose da valva mitral; no lado esquerdo do tórax, ouviu-se um estalido de abertura no alto da valva mitral. O exame do abdome foi difícil devido à obesidade; um médico percebeu aumento de tamanho do baço. O restante do exame físico mostrou-se normal.

Achados laboratoriais e de imagem

As radiografias de tórax revelaram um coração de tamanho normal e pulmões normais. No ECG, foi observado ritmo sinusal normal com ondas P largas (condução atrial). A ecocardiografia mostrou aumento do átrio esquerdo, espessamento dos folhetos valvares mitrais e vegetação no folheto posterior. O hematócrito foi de 29% (baixo). A contagem de leucócitos atingiu 9.800/ μ L (normal alta), com 68% de PMN (contagem elevada), 24% de linfócitos e 8% de monócitos. A velocidade de hemossedimentação (VHS) foi de 68 mm/h (alta). Os testes de química sanguínea, inclusive eletrólitos e provas de função renal, mostraram-se normais. Foram obtidas três hemoculturas no dia da internação; 1 dia depois, as três mostraram-se positivas para cocos gram-positivos em cadeias, identificados como estreptococos *viridans* e, posteriormente, *Streptococcus sanguis* (Cap. 14).

Tratamento

Foi estabelecido o diagnóstico de endocardite da valva mitral e iniciado o tratamento com penicilina G, bem como gentamicina por via intravenosa, mantido por duas semanas. A paciente tornou-se afebril 3 dias após o início da terapia. Após tratamento bem-sucedido da endocardite, foi encaminhada para tratamento por longo prazo da cardiopatia.

Comentário

Os sinais e sintomas de **endocardite** são muito variados, visto que qualquer sistema orgânico pode ser secundariamente (ou primariamente) afetado. Ocorrem febre em 80 a 90% dos pacientes, calafrios em 50%, anorexia e perda ponderal em cerca de 25%, assim como lesões cutâneas em aproximadamente 25%. É muito comum a observação de sintomas inespecíficos, como cefaleia, dor nas costas, tosse e artralgia. Até 25% dos pacientes com endocardite apresentam sinais neurológicos ou acidentes vasculares cerebrais secundários a êmbolos de **vegetações valvares cardíacas**. Em 10 a 20% dos casos, ocorrem dores nas costas, torácica e abdominal. Tipicamente, os achados físicos incluem febre em 90 a 95% dos pacientes, **sopro**

cardíaco em 80 a 90% com novo sopro cardíaco ou mudança do sopro cardíaco em cerca de 15%, bem como esplenomegalia e lesões cutâneas em aproximadamente 50%. Muitos outros sintomas e achados físicos estão diretamente relacionados com as complicações da infecção metastática e da embolização das vegetações.

Os estreptococos são responsáveis por cerca de 70% dos casos de endocardite. Os estreptococos *viridans* de várias espécies (p. ex., o grupo de *S. sanguis*, *S. salivarius*, *S. mutans*, *S. bovis*; Cap. 14) são os mais comuns, seguidos dos enterococos (p. ex., *E. faecalis*) e outros estreptococos. Em geral, os estreptococos causam endocardite em valvas cardíacas anormais. O *S. aureus* é responsável por 20 a 25% dos casos de endocardite, e *Staphylococcus epidermidis*, por cerca de 5% (Cap. 13). O *S. aureus*, que pode infectar valvas cardíacas normais, é comum em usuários de drogas intravenosas e causa doença mais rapidamente progressiva dos que os estreptococos. O *S. epidermidis* constitui uma causa de endocardite em próteses valvares e raramente infecta valvas nativas. Ocorrem bacilos gram-negativos (Caps. 15 e 18) em cerca de 5% dos casos e leveduras, como *Candida albicans* (Cap. 45), em cerca de 3%. Patógenos emergentes, como espécies de *Bartonella* (Cap. 22) e *Tropheryma whippelii* (Cap. 22), têm sido relatados com maior frequência. Muitas outras bactérias — na verdade, qualquer espécie de bactéria — podem provocar endocardite; em uma pequena porcentagem de casos, as culturas são negativas.

A história e o exame físico constituem procedimentos diagnósticos importantes. O diagnóstico é fortemente sugerido por hemoculturas repetidamente positivas na ausência de outro local de infecção. A ecocardiografia pode constituir um procedimento adjuvante muito útil. A presença de vegetações em um paciente com febre inexplicada sugere fortemente a presença de endocardite.

A antibioticoterapia é essencial, visto que a endocardite não tratada é fatal. Devem-se utilizar bactericidas. A escolha dos antibióticos irá depender do microrganismo infectante: recomenda-se penicilina G associada a gentamicina durante duas semanas para os estreptococos *viridans* e 4 semanas para os enterococos suscetíveis. Vancomicina é o fármaco de escolha para as cepas resistentes à penicilina. A resistência a múltiplos fármacos entre os enterococos pode requerer o emprego de novos agentes, como linezolida e daptomicina, com base nos dados de sensibilidade (antibiograma). O *S. aureus* é tratado com penicilinas resistentes à penicilinase (p. ex., oxacilina), frequentemente, em associação com gentamicina para os primeiros 5 dias de tratamento. A vancomicina substitui os β -lactâmicos nos casos de estafilococos resistentes à oxacilina/meticilina (MRSA). A duração do tratamento para as endocardites estafilocócicas é de 6 semanas. Outras bactérias diferentes dos estreptococos e estafilococos são tratadas com antibióticos de atividade comprovada. Algumas vezes, é necessário recorrer à cirurgia com substituição da valva nos casos em que a regurgitação valvar (p. ex., regurgitação aórtica) resulta em insuficiência cardíaca aguda mesmo na presença de infecção ativa. A cirurgia é necessária para endocardite fúngica e para os casos de falha da terapia clínica; é frequentemente necessária nos casos de endocardite por microrganismos gram-negativos; e sua realização é importante quando a infecção afeta o seio de Valsalva ou resulta em abscessos septais, ou quando ocorre recidiva da embolização.

REFERÊNCIAS

Baddour LM, Wilson WR, Bayer AS et al.: Infective endocarditis: Diagnosis, antimicrobial therapy, and management of complications. A statement for healthcare professionals from the Committee on Rheumatic Fever, Endocarditis, and Kawasaki Disease, Council on Cardiovascular Disease in the Young, and the Councils on Clinical Cardiology, Stroke, and Cardiovascular Surgery and Anesthesia, American Heart Association: Endorsed by the Infectious Diseases Society of America. *Circulation* 2005;111:e394; reference to these includes Correction, *Circulation* 2005;112:2373. (Executive Summary, *Circulation* 2005;111:3167, Correction, *Circulation* 2005;112:2374). Accessed at <http://circ.ahajournals.org/cgi/content/full/111/23/e394>.

ABDOMINE

CASO 6: PERITONITE E ABSCESSOS

Um estudante de 18 anos de idade foi internado devido a febre e dor abdominal. Estava sentindo-se bem até 3 dias antes da internação, quando surgiram dor abdominal difusa, bem como vômitos após a refeição noturna. A dor persistiu por toda a noite e agravou-se na manhã seguinte. Foi examinado na sala de emergência, em que se constatou hipersensibilidade abdominal. As radiografias de tórax e abdome foram normais. A contagem de leucócitos foi de 24.000/ μ L, e outros exames laboratoriais, inclusive provas de funções hepática, pancreática e renal, mostraram-se normais. O paciente teve alta, porém a dor abdominal e os vômitos intermitentes persistiram, ocorrendo febre de 38°C. O paciente foi internado no 3º dia de doença.

Não foi obtida história de uso de medicações, drogas ou álcool, traumatismo ou infecções, e a história familiar mostrou-se negativa.

Manifestações clínicas

A temperatura era de 38°C, o pulso de 100/min e a respiração de 24/min. A pressão arterial foi de 110/70 mmHg.

O exame físico revelou um jovem de desenvolvimento normal, com aspecto agudamente enfermo, queixando-se de dor abdominal difusa. Os exames de tórax e cardíaco mostraram-se normais. Constatou-se ligeira distensão do abdome. À palpação, o paciente apresentou hipersensibilidade periumbilical difusa e do quadrante inferior direito, com defesa muscular (rigidez muscular à palpação). Houve evidências sugestivas de massa no quadrante inferior direito. Os sons intestinais foram infrequentes.

Achados laboratoriais e de imagem

O hematócrito foi de 45% (normal), e a contagem de leucócitos, de 20.000/ μ L (acentuadamente elevada), com 90% de

células PMN (acentuadamente elevada) e 12% de linfócitos. O nível sérico de amilase (teste para pancreatite) foi normal. Os eletrólitos e as provas de funções hepática e renal também foram normais. As radiografias de tórax e abdome mostraram-se normais apesar da observação de várias alças distendidas do intestino delgado. A TC de abdome revelou a existência de coleção de líquido no quadrante inferior direito com extensão na pelve.

Tratamento

O paciente foi levado para a sala de cirurgia. No ato cirúrgico, foi encontrado um apêndice perfurado com grande abscesso periapendicular estendendo-se na pelve. O apêndice foi removido e, evacuados do abscesso cerca de 300 mL de líquido de odor fétido, sendo colocados drenos. O paciente foi tratado com ertapenem durante duas semanas. Os drenos foram trocados diariamente e totalmente removidos uma semana após a cirurgia. A cultura do líquido do abscesso revelou pelo menos seis espécies de bactérias, inclusive *E. coli* (Cap. 15), *Bacteroides fragilis* (Cap. 21), estreptococos *viridans* e enterococos (microbiota gastrointestinal normal). O paciente recuperou-se sem maiores problemas.

Comentário

A dor constitui a manifestação primária habitual de **peritonite** e formação de **abscesso intra-abdominal**. A localização e a intensidade da dor estão relacionadas com a doença primária das vísceras abdominais. A perfuração de úlcera péptica produz rapidamente dor epigástrica que logo se propaga por todo o abdome, com o extravasamento do conteúdo gástrico. A ruptura do apêndice ou do divertículo do colo sigmoide, frequentemente, resulta em dor mais localizada no quadrante inferior direito ou no esquerdo, respectivamente, associada a peritonite focal e formação de abscesso. A dor é acompanhada de náuseas, vômitos, anorexia e febre.

Os sinais e sintomas após o extravasamento agudo do conteúdo intestinal no abdome tendem a ocorrer em duas fases. A primeira consiste no estágio de peritonite, com dor aguda associada à infecção por *E. coli* e outras bactérias anaeróbias facultativas; ocorre nos primeiros 1 a 2 dias e, se não for tratada, está associada a elevada taxa de mortalidade. O segundo estágio consiste na formação de abscesso associada a infecção por *B. fragilis* e outras bactérias anaeróbias obrigatórias.

O exame físico durante a fase aguda revela rigidez abdominal e hipersensibilidade difusa ou local. Com frequência, a hipersensibilidade é pronunciada quando se libera a palpação do abdome; o processo é denominado **hipersensibilidade de rebote**. Posteriormente, ocorrem distensão abdominal e perda da motilidade intestinal (**íleo paralítico**).

As bactérias que compõem a **microbiota gastrointestinal normal** (Cap. 10) constituem a causa da peritonite aguda e de abscessos associados à ruptura intestinal: *E. coli* e outros bastonetes gram-negativos entéricos, enterococos, estreptococos *viridans*, *B. fragilis* e outros bastonetes gram-negativos anaeróbios, além de cocos e bastonetes gram-positivos anaeróbios de muitas espécies.

A história e o exame físico constituem importantes etapas iniciais para o estabelecimento do diagnóstico, a fim de se

determinar a natureza aguda e a localização do problema. Os exames laboratoriais, como contagens de leucócitos, fornecem resultados anormais inespecíficos ou ajudam a descartar certas doenças, como pancreatite, conforme se observou neste caso. As radiografias de abdome constituem um auxiliar muito útil para o diagnóstico, e podem revelar a presença de coleções de gás e de líquido nos intestinos grosso e delgado. Grande parte das informações definitivas, indicando anormalidades focais, é obtida à TC. Na presença de líquido, a punção com agulha e a cultura do material estabelecem o diagnóstico de infecção, mas não definem o processo mórbido subjacente.

A cirurgia, que pode ser necessária para se estabelecer um diagnóstico definitivo, constitui, ao mesmo tempo, a etapa definitiva na terapia. O processo mórbido subjacente (como intestino gangrenoso ou ruptura de apêndice) pode ser corrigido, e a infecção localizada drenada. Os antimicrobianos constituem uma importante terapia adjuvante. A escolha dos fármacos deve incluir um antimicrobiano ativo contra os bastonetes gram-negativos entéricos, um agente ativo contra os enterococos e os estreptococos, assim como um terceiro contra os bastonetes gram-negativos anaeróbios frequentemente resistentes à penicilina G. Foram descritos muitos esquemas, um dos mais usados consiste em gentamicina, ampicilina e metronidazol. Contudo, ele tem sido substituído pela piperacilina + tazobactam e ertapenem.

CASO 7: GASTRENERITE

Quatro membros de uma família de camponeses imigrantes procuraram o hospital devido à ocorrência de diarreia e febre que apareceram 6 a 12 h antes. O pai tinha 28 anos de idade, a mãe, 24 anos, e os filhos, 6 e 4 anos. Na véspera, a família teve uma refeição composta de verduras mistas, carne moída, feijão e tortilhas preparadas por outra pessoa no acampamento. Outra criança da família, de 8 meses de vida, não fez a mesma refeição e permaneceu bem. Cerca de 24 h depois de comerem, as crianças apresentaram cólicas abdominais, febre e diarreia aquosa, sintomas que persistiram por 12 h, e a diarreia tornou-se sanguinolenta em ambas as crianças. Os pais apresentaram sintomas semelhantes 6 e 8 h antes, mas não tiveram sangue visível nas fezes.

Os pais declararam que várias outras pessoas no acampamento haviam manifestado doenças semelhantes nas 2 semanas anteriores. As condições sanitárias do acampamento eram precárias.

Manifestações clínicas

Ao exame físico, a temperatura das crianças foi de 39 a 39,5°C, e a dos pais, de 38°C. Todos apresentaram taquicardia e aspecto agudamente enfermo. Ambas as crianças mostraram-se desidratadas.

As contagens de leucócitos variaram de 12.000 a 16.000/ μL , com 55 a 76% de células PMN. Foram observados numerosos leucócitos em preparações úmidas de fezes. As fezes das crianças mostraram-se macroscopicamente sanguinolentas e mucoides. As culturas das amostras fecais de cada um dos pais desenvolveram, subsequentemente, *Shigella flexneri* (Cap. 15).

Tratamento

Ambas as crianças foram internadas, recebendo líquidos e ampicilina por via intravenosa. Os pais foram tratados de modo ambulatorial, com líquidos e ciprofloxacino por via oral. Todos se recuperaram sem maiores problemas. O acompanhamento de saúde pública resultou em melhora das condições sanitárias no acampamento.

Comentário

Os principais achados clínicos das infecções gastrintestinais consistem em náuseas, vômitos, dor abdominal, diarreia e febre. Os sintomas predominantes dependem do agente etiológico e do fato de tal agente ser toxigênico ou invasivo ou ambos. Quando existem toxinas pré-formadas no alimento, frequentemente estão associadas a náuseas e vômitos. Por exemplo, *S. aureus* (Cap. 13) e *Bacillus cereus* (Cap. 11) produzem **enterotoxinas** nos alimentos; poucas horas depois da ingestão do alimento, ocorrem náuseas e vômitos, assim como, em grau muito menor, diarreia. Os microrganismos que produzem enterotoxinas afetam a porção proximal do intestino delgado e tendem a provocar **diarreia aquosa** (p. ex., *E. coli* enterotoxigênica [Cap. 15], *Vibrio cholerae* [Cap. 17]). Certos agentes, como os rotavírus, o vírus Norwalk (Cap. 37) e a *Giardia lamblia* (Cap. 46), provocam diarreia aquosa devida a irritação ou destruição da mucosa. As bactérias invasivas ou produtoras de toxina infectam o colo e provocam dor abdominal, diarreia frequente (quase sempre com sangue e muco), febre e desidratação, como nesse caso. Tal conjunto de sinais e sintomas é conhecido como **disenteria**. Os microrganismos que causam disenteria incluem muitos sorotipos de *Salmonella*, *Shigella*, *Campylobacter jejuni* (Cap. 17), *E. coli* enteroinvasiva, *Clostridium difficile* (Cap. 11) e *E. histolytica* (Cap. 46). A **febre entérica** é uma infecção potencialmente fatal, caracterizada por febre, cefaleia e sintomas abdominais variáveis; a febre entérica é causada por *Salmonella typhi* (Cap. 15) (bem como por *Salmonella paratyphi* A e B, além de *Salmonella choleraesuis*) e *Yersinia enterocolitica* (Cap. 19). No Quadro 48.4 fornecemos uma lista dos agentes que comumente provocam gastroenterites invasiva e não invasiva induzidas por toxinas e infecções gastrintestinais.

As infecções gastrintestinais são muito comuns, sobretudo nos países em desenvolvimento, em que a taxa de mortalidade associada é elevada em lactentes e crianças de pouca idade. A prevenção em nível de saúde pública, mediante a adoção de higiene adequada, suprimento de água e alimentos em boas condições, é de suma importância.

O agente etiológico é identificado apenas em uma pequena porcentagem de casos mediante cultura de fezes ou imunoensaio. O achado de leucócitos em preparações a fresco de fezes é altamente sugestivo de infecção com um patógeno invasivo.

QUADRO 48.4 Agentes que comumente causam gastroenterites

Microrganismo	Período de incubação típico	Sinais e sintomas	Epidemiologia	Patogênese	Manifestações clínicas	Capítulo(s)
<i>Staphylococcus aureus</i>	1 a 8 h (raramente, até 18 h)	Náuseas e vômitos	Os estafilococos crescem em carnes, laticínios e outros alimentos, produzindo enterotoxina	A enterotoxina atua sobre os receptores no intestino, que transmitem os impulsos nervosos para os centros bulbares que controlam os vômitos	Muito comum, início abrupto, com vômitos intensos por até 24 h, recuperação regular em 24 a 48 h. Ocorre em pessoas que ingerem o mesmo alimento. Em geral, não há necessidade de tratamento, exceto para restaurar líquidos e eletrólitos	13
<i>Bacillus cereus</i>	2 a 16 h	Vômitos ou diarreias	Arroz cozido reaquecido é um veículo comum	Enterotoxina formada em alimentos ou no intestino devido ao crescimento de <i>B. cereus</i>	Com período de incubação de 2 a 8 h, principalmente vômitos. Com período de incubação de 8 a 16 h, principalmente diarreia	11
<i>Clostridium perfringens</i>	8 a 16 h	Diarreia aquosa	Clostrídeos crescem em pratos de carne reaquecidos. Ingestão de grandes números	A enterotoxina produzida durante a esporulação no intestino provoca hipersecreção	Início abrupto de diarreia profusa; às vezes ocorrem vômitos. Em geral, recuperação sem tratamento em 1 a 4 dias. Numerosos clostrídeos em culturas de amostras do alimento e das fezes de pacientes	11
<i>Clostridium botulinum</i>	18 a 24 h	Paralisia	<i>C. botulinum</i> cresce em alimento anaeróbico e produz toxina	A toxina absorvida pelo intestino bloqueia a acetilcolina na junção neuromuscular	Diplopia, disfagia, disfonia, dificuldade respiratória. O tratamento exige suporte ventilatório e administração de antitoxina. O diagnóstico é confirmado pelo achado de toxina no sangue ou nas fezes	11
<i>Escherichia coli</i> (enterotoxigênica; ETEC)	24 a 72 h	Diarreia aquosa	A causa mais comum da "diarreia do viajante"	A ETEC no intestino produz enterotoxinas termolábeis (TL) ou termoestáveis (TE). As toxinas ^a causam hipersecreção no intestino delgado	Em geral, início abrupto de diarreia; a ocorrência de vômitos é rara. Infecção grave em recém-nascidos. Em adultos, geralmente é autolimitada em 1 a 3 dias	9, 15
<i>Escherichia coli</i> (enteroinvasiva; EIEC)	48 a 72 h	Disenteria	Surtos ocasionais de disenteria; causa infrequente de infecção esporádica	Invasão inflamatória da mucosa colônica; semelhante à shigelose. As EIEC estão estreitamente relacionadas com <i>Shigella</i>	Diarreia sanguinolenta aguda com mal-estar, cefaleia, febre alta e dor abdominal. Doença grave em crianças malnutridas. Presença de leucócitos nas fezes	9, 15
<i>Escherichia coli</i> (produtora da toxina Shiga; STEC)	24 a 72 h	Diarreia aquosa, sanguinolenta	Diarreia sanguinolenta associada ao consumo de hambúrgueres inadequadamente cozidos em restaurantes de <i>fast-food</i>	A STEC produz a toxina Vero (semelhante à <i>Shiga</i>). Frequentemente, sorotipo 0157:H7	Provoca diarreia sanguinolenta, colite hemorrágica e a maioria dos casos de síndrome urêmica-hemolítica. Cultura de fezes para a <i>E. coli</i> sorbitol-negativa e sorotipos isolados com antissoros para 0157:H7. Outros sorotipos podem ser detectados pela produção de toxina por meio de um ensaio imunoenzimático que contém anticorpos contra toxinas semelhantes à <i>Shiga</i>	9, 15

(continua)

QUADRO 48.4 Agentes que comumente causam gastroenterites (continuação)

Microrganismo	Período de incubação típico	Sinais e sintomas	Epidemiologia	Patogênese	Manifestações clínicas	Capítulo(s)
<i>Escherichia coli</i> (enteropatogênica; EPEC)	Início lento	Diarreia aquosa	Causa comum de diarreia em neonatos nos países em desenvolvimento. Classicamente, provoca diarreia epidêmica em berçários, com elevadas taxas de mortalidade; na atualidade é menos comum nos países desenvolvidos	A EPEC fixa-se às células da mucosa epitelial e provoca alterações citoesqueléticas, podendo invadir as células. Diferente de outras <i>E.coli</i> que são enteroaderentes ou enteroagregativas e que provocam diarreia	Início insidioso de 3 a 6 dias com apatia, alimentação precária e diarreia. Em geral, duram 5 a 15 dias. A desidratação, o desequilíbrio eletrolítico e outras complicações podem levar à morte. A terapia antimicrobiana é importante	9, 15
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	6 a 96 h	Diarreia aquosa	Os microrganismos crescem em frutos do mar e no intestino, produzindo toxina ou invadindo	A toxina causa hipersecreção; os vibriões invadem o epitélio; as fezes podem ser sanguinolentas	Início abrupto de diarreia em grupos de pessoas que consumiram o mesmo alimento, particularmente caranguejo e outros frutos do mar. Em geral, a recuperação é completa em 1 a 3 dias. As culturas de amostras do alimento e de fezes são positivas	17
<i>Vibrio cholerae</i>	24 a 72 h	Diarreia aquosa	Os microrganismos crescem no intestino, produzindo toxina	A toxina ^a provoca hipersecreção no intestino delgado. Dose infectante > 10 ⁵ microrganismos	Início abrupto de diarreia líquida em áreas endêmicas. Exige a reposição imediata de líquidos e eletrólitos por vias intravenosa ou oral. As culturas de fezes são positivas. Usar meio seletivo	9, 18
Espécies de <i>Shigella</i> (casos leves)	24 a 72 h	Diarreia aquosa	O microrganismo cresce no epitélio intestinal superficial	Os microrganismos invadem as células epiteliais; presença de sangue, muco e PMN nas fezes. Dose infectante < 10 ³ microrganismos	Início abrupto de diarreia; podem ocorrer sangue e pus nas fezes, cólicas, tenesmo e letargia. Presença de leucócitos nas fezes. As culturas de fezes são positivas. Com frequência, leve e autolimitada. Restauração de líquidos	15
<i>Shigella dysenteriae</i> tipo 1 (bacilo de Shiga)	24 a 72 h	Disenteria, diarreia sanguinolenta	Provoca surtos em países em desenvolvimento	Produz citotoxina e neurotoxina	Diarreia sanguinolenta grave em crianças em países em desenvolvimento; taxa de mortalidade elevada. Rara nos EUA	15
Espécies de <i>Salmonella</i>	8 a 48 h	Diarreia aquosa	Os microrganismos crescem no intestino. Não produzem toxina	Infecção superficial do intestino, com pouca invasão. Dose infectante > 10 ⁵ microrganismos	Início gradual ou abrupto de diarreia e febre baixa. Presença de leucócitos nas fezes. As culturas de fezes são positivas. Nenhum agente antimicrobiano, a não ser que haja suspeita de disseminação sistêmica. É frequente o estado de portador prolongado	15
<i>Salmonella typhi</i> (<i>S. paratyphi</i> A e B; <i>S. choleraesuis</i>)	10 a 14 dias	Febre entérica	O ser humano é o único reservatório de <i>S. typhi</i>	Invade a mucosa intestinal e multiplica-se nos macrófagos, nos folículos linfóides intestinais; entra pelos nódulos mesentéricos, passa para o sangue e dissemina-se	Início insidioso de mal-estar, anorexia, mialgias e cefaleia; febre alta remitente; pode haver prisão de ventre ou diarreia. Hepatoesplenomegalia em cerca de 50% dos pacientes. Diagnóstico por cultura para <i>S. typhi</i> a partir de sangue, fezes ou de outro local. Antibioticoterapia é importante	15

Microrganismo	Período de incubação típico	Sinais e sintomas	Epidemiologia	Patogênese	Manifestações clínicas	Capítulo(s)
<i>Yersinia enterocolitica</i>	4 a 7 dias	Febre entérica	Transmissão orofecal. Pelos alimentos. Animais infectados	Gastrenterite ou adenite mesentérica. Bacteriemia ocasional. Toxina produzida ocasionalmente	Dor abdominal grave, diarreia, febre; PMNs e sangue nas fezes; poliartrite, eritema nodoso, especialmente em crianças. Armazenar amostras de fezes a 4°C antes da sementeira (cultivo)	19
<i>Clostridium difficile</i>	Dias ou semanas após a antibioticoterapia	Disenteria	Colite pseudomembranosa associada a antibióticos	Produz enterotoxina (toxina A) e citotoxina (toxina B), que causa diarreia e necrose das células epiteliais	Início abrupto de diarreia sanguinolenta e febre. Toxina presente nas fezes. Tipicamente, os pacientes receberam antibióticos nos dias ou semanas precedentes	11
<i>Campylobacter jejuni</i>	2 a 10 dias	Disenteria	Infecção pela via oral através dos alimentos, animais de estimação. O microrganismo cresce no intestino delgado	Invasão da mucosa. Produção de toxina incerta	Febre, diarreia, PMN e sangue fresco nas fezes, especialmente em crianças. Geralmente autolimitada. São necessários meios especiais para cultura a 42°C. Os pacientes geralmente se recuperam em 5 a 8 dias	17
Rotavírus	48 a 96 h	Diarreia aquosa, vômitos, febre branda	Este vírus constitui a principal causa da doença diarreica em lactentes e crianças de pouca idade no mundo inteiro	Induz alterações histopatológicas nas células da mucosa intestinal	Em geral, o distúrbio abdominal e a diarreia são precedidos de febre e vômitos. Ocorre morte em lactentes nos países em desenvolvimento, após desidratação e desequilíbrio eletrolítico. A evolução típica é de 3 a 9 dias. O diagnóstico é estabelecido pela detecção do antígeno de rotavírus por imunoensaio em amostras de fezes	37
Norovírus	24 a 48 h	Diarreia aquosa, vômitos	Principal causa de diarreia epidêmica, especialmente em lugares fechados, como cruzeiros marítimos; alta taxa de ataque secundária	Induz alterações histopatológicas na mucosa intestinal, como o fechamento de microvilosidades	Início abrupto de dor abdominal seguida de náuseas, vômitos e diarreia. Podem ocorrer febre baixa; mal-estar, mialgias e cefaleia são descritos. A evolução típica é de 2 a 3 dias. O diagnóstico requer RT-PCR e outros ensaios pouco acessíveis	37
<i>Giardia lamblia</i>	1 a 2 semanas	Diarreia aquosa	Parasito intestinal mais comumente identificado. Patógeno frequente em surtos de diarreia transmitida pela água	Interação complexa e pouco compreendida do parasito com as células da mucosa e a resposta imunológica do paciente	Diarreia autolimitada em 1 a 3 semanas; os sintomas de diarreia intermitente, má absorção e perda de peso podem persistir por 6 meses. O diagnóstico é estabelecido pelo achado de trofozoítos ou cistos nas fezes ou no conteúdo duodenal, ou pela detecção do antígeno de <i>Giardia</i> por imunoensaio em amostras de fezes	46
<i>Entamoeba histolytica</i>	Início gradual em 1 a 3 semanas	Disenteria	Maior prevalência nos países em desenvolvimento; 10% da população mundial podem estar infectados	Invade a mucosa colônica e provoca lise das células, incluindo leucócitos	Diarreia, dor abdominal, perda ponderal e febre são comuns. Pode causar inúmeras complicações, inclusive colite fulminante, perfuração e abscesso hepático. O diagnóstico é estabelecido pelo achado de trofozoítos ou cistos nas fezes	46

^aA toxina do cólera e a toxina termolábil de *E. coli* estimulam a atividade adenililciclase, aumento da concentração de cAMP no intestino, com consequente secreção de cloreto e água, bem como reabsorção reduzida de sódio. A toxina termoestável de *E. coli* ativa a guanililciclase intestinal, resultando em hipersecreção.

A manutenção de uma hidratação adequada constitui o aspecto mais importante do tratamento, particularmente, em lactentes e crianças pequenas. A terapia antimicrobiana é necessária no tratamento da febre entérica (**febre tifoide**) e reduz a duração dos sintomas nas infecções causadas por *Shigella*, *Campylobacter* e *V. cholerae*, porém prolonga os sintomas e a eliminação fecal de *Salmonella*.

Não existe terapia específica para a infecção causada por rotavírus, a causa viral mais comum da diarreia, porém há uma vacina disponível para prevenção, geralmente, usada por indivíduos em viagem a regiões endêmicas.

REFERÊNCIAS

- Dennehy PH: Viral gastroenteritis in children. *Pediatr Infect Dis J* 2011;30:63.
- Guerrant RL, Van Gilder T, Steiner TS et al.: Practice guidelines for the management of infectious diarrhea. *Clin Infect Dis* 2001;32:331.
- Guerrant RL, Bobak DA: Bacterial and protozoal gastroenteritis. *N Engl J Med* 1991;325:327.
- Marcos LA, Dupont HL: Advances in defining etiology and new therapeutic approaches in acute diarrhea. *J Infect* 2007;55:385.
- Patel MM, Hall AJ, Vinje J, Parashar UD: Noroviruses: A comprehensive review. *J Clin Virol* 2009;44:1.

TRATO URINÁRIO

CASO 8: INFECÇÃO VESICAL AGUDA SEM COMPLICAÇÕES

Uma mulher de 21 anos de idade procurou o serviço de saúde com história de crescente frequência urinária de 2 dias de duração, juntamente com urgência e disúria. A urina tornou-se rosada ou sanguinolenta em cerca de 12 h. A paciente não tem história pregressa de infecção das vias urinárias. Recentemente, tornou-se sexualmente ativa e estava utilizando diafragma, bem como espermicida.

Manifestações clínicas

A temperatura era de 37,5°C, o pulso de 105/min e a respiração, de 18/min. A pressão arterial era de 105/70 mmHg.

Ao exame físico, o único achado anormal foi hipersensibilidade leve à palpação profunda na área suprapúbica.

Achados laboratoriais

Os exames laboratoriais revelaram ligeira elevação da contagem de leucócitos, da ordem de 13.000/ μ L, com 66% de PMN, também elevados. Os níveis de ureia sanguínea, bem como os níveis séricos de creatinina, glicose e eletrólitos, estavam normais. O sedimento urinário revelou inúmeros leucócitos,

contagem moderada de eritrócitos e grande número de bactérias sugestivas de infecção do trato urinário. A cultura produziu mais de 10^5 unidades formadoras de colônias (CFU)/mL de *E. coli* (diagnóstica de infecção das vias urinárias). Não foram efetuados testes de sensibilidade a antimicrobianos.

Tratamento

A paciente foi curada em 3 dias de terapia com sulfametoxazol-trimetoprima por via oral.

Comentário

Ver adiante.

CASO 9: INFECÇÃO COMPLICADA DO TRATO URINÁRIO

Um homem de 67 anos de idade apresentou febre e choque 3 dias após ressecção transuretral da próstata aumentada. Duas semanas antes, tivera obstrução urinária com retenção decorrente do aumento prostático; foi estabelecido o diagnóstico de hipertrofia prostática benigna. Foi necessário proceder ao cateterismo da bexiga. Após a cirurgia, foi fixado um cateter vesical de longa permanência a um sistema de drenagem fechado, mantido no local. Dois dias após a cirurgia, o paciente apresentou febre de 38°C; no terceiro dia pós-operatório, tornou-se confuso e desorientado, tendo calafrios com tremores.

Manifestações clínicas

A temperatura era de 39°C, o pulso de 120/min e a respiração, de 24/min. A pressão arterial foi de 90/40 mmHg.

Ao exame físico, o paciente soube dizer seu nome, mas mostrou-se desorientado quanto ao tempo e ao espaço. O coração, os pulmões e o abdome estavam normais. Foi constatada ligeira hipersensibilidade costovertebral sobre a área do rim esquerdo.

Achados laboratoriais

Os exames laboratoriais revelaram hematócrito e hemoglobina normais, porém com contagem elevada de leucócitos, da ordem de 18.000/ μ L, com 85% de PMN (contagem acentuadamente elevada). Os níveis sanguíneos de ureia e os níveis séricos de creatinina, glicose e eletrólitos mostraram-se normais. Foi obtida uma amostra de urina do cateter com a utilização de agulha e seringa. O sedimento urinário apresentou numerosos leucócitos, alguns eritrócitos e numerosas bactérias, indicando infecção do trato urinário. A cultura de urina produziu mais de 10^5 CFU/mL de *K. pneumoniae* (Cap. 15), confirmando o diagnóstico de infecção do trato urinário. Na hemocultura, houve

também o crescimento de *K. pneumoniae*, que se mostrou suscetível às cefalosporinas de terceira geração gentamicina e tobramicina.

Tratamento e evolução hospitalar

O paciente apresentou infecção do trato urinário associada ao cateter vesical. Presume-se que o rim esquerdo tenha sido acometido com base na hipersensibilidade do ângulo costovertebral esquerdo. O paciente também apresentou bacteriemia secundária com choque (às vezes, denominada sepse e choque por microrganismos gram-negativos). Foi tratado com líquidos e antibióticos intravenosos, e recuperou-se. A mesma cepa de *K. pneumoniae* foi isolada de outros pacientes no hospital, indicando disseminação hospitalar da bactéria.

Comentário

As infecções do trato urinário podem afetar apenas as vias inferiores ou tanto as vias inferiores quanto as superiores. Utiliza-se o termo **cistite** para descrever a infecção da bexiga com sinais e sintomas de disúria, urgência e frequência, conforme se observou no Caso 8. Utiliza-se o termo **pielonefrite** para descrever a infecção do trato urinário superior, frequentemente com dor e hipersensibilidade no flanco, acompanhadas de disúria, urgência e frequência, conforme se observou no Caso 9. A cistite e a pielonefrite manifestam-se, frequentemente, em forma de doenças agudas; entretanto, é comum a ocorrência de infecções recorrentes ou crônicas.

Em geral, a presença de 10^5 ou mais CFU/mL na urina é aceita como indicador de bacteriúria significativa, embora os pacientes possam ser sintomáticos ou assintomáticos. Algumas mulheres jovens apresentam disúria e outros sintomas de cistite com menos de 10^5 CFU/mL de urina; nessas mulheres, a presença de apenas 10^3 CFU/mL de bastonete gram-negativo pode indicar bacteriúria significativa.

A prevalência de bacteriúria é de 1 a 2% em meninas de idade escolar, 1 a 3% em mulheres não grávidas e 3 a 8% durante a gravidez. A prevalência de bacteriúria aumenta com a idade, e a relação de infecção entre ambos os sexos torna-se quase igual. Depois dos 70 anos de idade, 20 a 30% ou mais das mulheres e 10% ou mais dos homens apresentam bacteriúria. Ocorrem rotineiramente infecções do trato urinário superior em pacientes com cateteres de longa permanência mesmo com cuidados ótimos e utilização de sistemas de drenagem fechados: 50% depois de 4 a 5 dias, 75% depois de 7 a 9 dias e 100% depois de 2 semanas. A atividade sexual e o uso de espermicida aumentam o risco de ITU em mulheres jovens.

E. coli (Cap. 15) é responsável por 80 a 90% das infecções bacterianas não complicadas agudas das vias urinárias inferiores (cistite) em mulheres jovens. Outras bactérias entéricas e *Staphylococcus saprophyticus* (Cap. 13) provocam a maioria das demais infecções vesicais com culturas positivas nesse grupo de pacientes. Algumas mulheres jovens com disúria aguda sugestiva de cistite apresentam culturas urinárias negativas para bactérias. Em tais circunstâncias, devem-se considerar culturas seletivas para *Neisseria gonorrhoeae* (Cap. 20) e *Chlamydia trachomatis* (Cap. 27), bem como uma avaliação para infecção pelo herpes-vírus simples.

Nas infecções complicadas do trato urinário superior, na presença de anormalidade anatômica ou cateterismo crônico, o espectro de bactérias infectantes é maior do que nos casos não complicados. Com frequência, verifica-se a presença de *E. coli*, porém muitas outras espécies de outros bastonetes gram-negativos (p. ex., *Klebsiella*, *Proteus* e *Enterobacter* [Cap. 15], além de *Pseudomonas* [Cap. 16]), enterococos e estafilococos também são comuns. Em muitos casos, são identificadas duas ou mais espécies, e as bactérias costumam mostrar-se resistentes aos antimicrobianos administrados em associação com terapia anterior.

A presença de leucócitos na urina é altamente sugestiva, mas não específica, de infecção bacteriana do trato urinário superior. Leucócitos podem ser detectados mediante o exame microscópico do sedimento urinário ou, indiretamente, pela detecção da esterase leucocitária em tiras reagentes. Verifica-se também a presença de eritrócitos ao exame microscópico do sedimento urinário ou indiretamente pela detecção de hemoglobina em tiras reagentes. A proteinúria igualmente é detectada com tiras reagentes. A observação de bactérias na urina não centrifugada, corada pelo método de Gram, sugere fortemente a existência de 10^5 ou mais bactérias por mililitro de urina.

A presença de bacteriúria é confirmada pela cultura quantitativa da urina por qualquer um de vários métodos. Um método utilizado com frequência consiste em efetuar uma cultura de urina utilizando alça bacteriológica calibrada para liberar 0,01 ou 0,001 mL, seguida de contagem do número de colônias que crescem.

Em geral, a cistite aguda sem complicações é causada por *E. coli* suscetível a concentrações de antibióticos facilmente alcançáveis na urina, apropriados ao tratamento das infecções do trato urinário. Por conseguinte, na presença dessa infecção em mulheres jovens, raramente é necessário proceder à identificação definitiva do microrganismo e a testes de sensibilidade. Esses casos podem ser tratados com dose única de antibiótico apropriado (baseado no teste de antibiograma); todavia, um tratamento de 3 a 5 dias resulta em menor taxa de recidiva. A pielonefrite é tratada com 10 a 14 dias de antibioticoterapia. As infecções recorrentes ou complicadas do trato urinário superior são mais bem tratadas com antibióticos de comprovada atividade contra as bactérias infectantes; indicam-se a identificação definitiva do microrganismo, bem como a realização de testes de sensibilidade. A terapia durante 14 dias mostra-se apropriada, devendo ser estendida para 14 a 21 dias se houver recidiva. As pacientes com infecções complicadas do trato urinário superior devem ser avaliadas à procura de anormalidades anatômicas, cálculos, etc.

REFERÊNCIAS

- Foster RT Sr: Uncomplicated urinary tract infections in women. *Obstet Gynecol Clin North Am* 2008;35:235.
- Gupta K, Hooton TM, Naber KG et al.: International clinical practice guidelines for the treatment of acute uncomplicated cystitis and pyelonephritis in women. A 2010 update by the Infectious Diseases Society of America and the European Society for Microbiology and Infectious Diseases. *Clin Infect Dis* 2011;52:e103.
- Neal DE Jr: Complicated urinary tract infections. *Urol Clin North Am* 2008;35:13.

também o crescimento de *K. pneumoniae*, que se mostrou suscetível às cefalosporinas de terceira geração gentamicina e tobramicina.

Tratamento e evolução hospitalar

O paciente apresentou infecção do trato urinário associada ao cateter vesical. Presume-se que o rim esquerdo tenha sido acometido com base na hipersensibilidade do ângulo costovertebral esquerdo. O paciente também apresentou bacteriemia secundária com choque (às vezes, denominada sepse e choque por microrganismos gram-negativos). Foi tratado com líquidos e antibióticos intravenosos, e recuperou-se. A mesma cepa de *K. pneumoniae* foi isolada de outros pacientes no hospital, indicando disseminação hospitalar da bactéria.

Comentário

As infecções do trato urinário podem afetar apenas as vias inferiores ou tanto as vias inferiores quanto as superiores. Utiliza-se o termo **cistite** para descrever a infecção da bexiga com sinais e sintomas de disúria, urgência e frequência, conforme se observou no Caso 8. Utiliza-se o termo **pielonefrite** para descrever a infecção do trato urinário superior, frequentemente com dor e hipersensibilidade no flanco, acompanhadas de disúria, urgência e frequência, conforme se observou no Caso 9. A cistite e a pielonefrite manifestam-se, frequentemente, em forma de doenças agudas; entretanto, é comum a ocorrência de infecções recorrentes ou crônicas.

Em geral, a presença de 10^5 ou mais CFU/mL na urina é aceita como indicador de bacteriúria significativa, embora os pacientes possam ser sintomáticos ou assintomáticos. Algumas mulheres jovens apresentam disúria e outros sintomas de cistite com menos de 10^5 CFU/mL de urina; nessas mulheres, a presença de apenas 10^3 CFU/mL de bastonete gram-negativo pode indicar bacteriúria significativa.

A prevalência de bacteriúria é de 1 a 2% em meninas de idade escolar, 1 a 3% em mulheres não grávidas e 3 a 8% durante a gravidez. A prevalência de bacteriúria aumenta com a idade, e a relação de infecção entre ambos os sexos torna-se quase igual. Depois dos 70 anos de idade, 20 a 30% ou mais das mulheres e 10% ou mais dos homens apresentam bacteriúria. Ocorrem rotineiramente infecções do trato urinário superior em pacientes com cateteres de longa permanência mesmo com cuidados ótimos e utilização de sistemas de drenagem fechados: 50% depois de 4 a 5 dias, 75% depois de 7 a 9 dias e 100% depois de 2 semanas. A atividade sexual e o uso de espermicida aumentam o risco de ITU em mulheres jovens.

E. coli (Cap. 15) é responsável por 80 a 90% das infecções bacterianas não complicadas agudas das vias urinárias inferiores (cistite) em mulheres jovens. Outras bactérias entéricas e *Staphylococcus saprophyticus* (Cap. 13) provocam a maioria das demais infecções vesicais com culturas positivas nesse grupo de pacientes. Algumas mulheres jovens com disúria aguda sugestiva de cistite apresentam culturas urinárias negativas para bactérias. Em tais circunstâncias, devem-se considerar culturas seletivas para *Neisseria gonorrhoeae* (Cap. 20) e *Chlamydia trachomatis* (Cap. 27), bem como uma avaliação para infecção pelo herpes-vírus simples.

Nas infecções complicadas do trato urinário superior, na presença de anormalidade anatômica ou cateterismo crônico, o espectro de bactérias infectantes é maior do que nos casos não complicados. Com frequência, verifica-se a presença de *E. coli*, porém muitas outras espécies de outros bastonetes gram-negativos (p. ex., *Klebsiella*, *Proteus* e *Enterobacter* [Cap. 15], além de *Pseudomonas* [Cap. 16]), enterococos e estafilococos também são comuns. Em muitos casos, são identificadas duas ou mais espécies, e as bactérias costumam mostrar-se resistentes aos antimicrobianos administrados em associação com terapia anterior.

A presença de leucócitos na urina é altamente sugestiva, mas não específica, de infecção bacteriana do trato urinário superior. Leucócitos podem ser detectados mediante o exame microscópico do sedimento urinário ou, indiretamente, pela detecção da esterase leucocitária em tiras reagentes. Verifica-se também a presença de eritrócitos ao exame microscópico do sedimento urinário ou indiretamente pela detecção de hemoglobina em tiras reagentes. A proteinúria igualmente é detectada com tiras reagentes. A observação de bactérias na urina não centrifugada, corada pelo método de Gram, sugere fortemente a existência de 10^5 ou mais bactérias por mililitro de urina.

A presença de bacteriúria é confirmada pela cultura quantitativa da urina por qualquer um de vários métodos. Um método utilizado com frequência consiste em efetuar uma cultura de urina utilizando alça bacteriológica calibrada para liberar 0,01 ou 0,001 mL, seguida de contagem do número de colônias que crescem.

Em geral, a cistite aguda sem complicações é causada por *E. coli* suscetível a concentrações de antibióticos facilmente alcançáveis na urina, apropriados ao tratamento das infecções do trato urinário. Por conseguinte, na presença dessa infecção em mulheres jovens, raramente é necessário proceder à identificação definitiva do microrganismo e a testes de sensibilidade. Esses casos podem ser tratados com dose única de antibiótico apropriado (baseado no teste de antibiograma); todavia, um tratamento de 3 a 5 dias resulta em menor taxa de recidiva. A pielonefrite é tratada com 10 a 14 dias de antibioticoterapia. As infecções recorrentes ou complicadas do trato urinário superior são mais bem tratadas com antibióticos de comprovada atividade contra as bactérias infectantes; indicam-se a identificação definitiva do microrganismo, bem como a realização de testes de sensibilidade. A terapia durante 14 dias mostra-se apropriada, devendo ser estendida para 14 a 21 dias se houver recidiva. As pacientes com infecções complicadas do trato urinário superior devem ser avaliadas à procura de anormalidades anatômicas, cálculos, etc.

REFERÊNCIAS

- Foster RT Sr: Uncomplicated urinary tract infections in women. *Obstet Gynecol Clin North Am* 2008;35:235.
- Gupta K, Hooton TM, Naber KG et al.: International clinical practice guidelines for the treatment of acute uncomplicated cystitis and pyelonephritis in women. A 2010 update by the Infectious Diseases Society of America and the European Society for Microbiology and Infectious Diseases. *Clin Infect Dis* 2011;52:e103.
- Neal DE Jr: Complicated urinary tract infections. *Urol Clin North Am* 2008;35:13.

REFERÊNCIAS

- Calhoun JH, Manring MM: Adult osteomyelitis. *Infect Dis Clin North Am* 2005;19:265.
- Kaplan SL: Osteomyelitis in children. *Infect Dis Clin North Am* 2005;19:787.

CASO 11: GANGRENA GASOSA

Um jovem de 22 anos de idade caiu da motocicleta e sofreu fratura exposta do fêmur esquerdo, com graves lacerações e lesão por esmagamento da coxa, bem como lesões menos extensas dos tecidos moles em outras partes do corpo. Foi rapidamente transportado até o hospital e imediatamente levado para a sala de cirurgia, em que a fratura foi reduzida e as feridas, debridadas. Por ocasião da internação, os resultados dos exames incluíram hematócrito de 45% e nível de hemoglobina de 15 g/dL. A evolução pós-operatória imediata não apresentou problema; entretanto, depois de 24 h surgiu dor na coxa. Constatou-se a presença de febre. A dor e o edema da coxa aumentaram rapidamente.

Manifestações clínicas e evolução

A temperatura era de 40°C, o pulso de 150/min e a respiração de 28/min. A pressão arterial era de 80/40 mmHg.

O exame físico revelou um jovem agudamente enfermo, em estado de choque e delirante. A coxa esquerda mostrava-se acen-tuadamente inchada e fria ao toque. Foi constatada a presença de grandes áreas equimóticas perto da ferida, com secreção serosa da ferida. Havia crepitação, indicando gás no tecido da coxa. A radiografia também revelou a presença de gás nos planos teciduais da coxa. Foi estabelecido o diagnóstico de gangrena gasosa, e o paciente levado à sala de cirurgia para extenso desbridamento de emergência do tecido necrótico. Durante a cirurgia, o hematócrito caiu para 27%, e o nível de hemoglobina, para 11 g/dL; o soro adquiriu cor vermelho-acastanhada, indicando hemólise com hemoglobina livre na circulação. As culturas anaeróbias da amostra obtida na cirurgia produziram *Clostridium perfringens* (Caps. 11 e 21). O paciente desenvolveu insuficiência renal e cardíaca, vindo a falecer 3 dias após o acidente.

Comentário

O Caso 11 ilustra uma ocorrência clássica de gangrena gasosa por clostrídeos. O *C. perfringens* (ou, em certas ocasiões, outras espécies de *Clostridium*) é inoculado na ferida traumática a partir do ambiente. Os clostrídeos são discutidos nos Caps. 11 e 21. Tecido necrótico e corpos estranhos fornecem um ambiente anaeróbio apropriado à multiplicação dos microrganismos. Depois de um período de incubação habitual de 2 a 3 dias, porém algumas vezes de apenas 8 a 12 h, verifica-se o início agudo de dor, cuja intensidade aumenta rapidamente em associação com choque e *delirium*. O membro ou a ferida exibem

hipersensibilidade, edema tenso e secreção sorrossanguinolenta. Com frequência, verifica-se crepitação. A pele perto da ferida apresenta-se pálida, mas torna-se rapidamente pigmentada, e formam-se vesículas repletas de líquido na pele circundante. Aparecem áreas de necrose negra na pele. Nos casos graves, a evolução é rápida.

Em pacientes como esse, a coloração do líquido de uma vesícula ou do aspirado de tecido pelo método de Gram revela grandes bastonetes gram-positivos com extremidades rombu-das, altamente sugestivos de infecção por clostrídeos. Leucócitos PMN são raros. A cultura anaeróbia fornece a confirmação laboratorial definitiva. O diagnóstico diferencial de gangrena gasosa por clostrídeos inclui mionecrose estreptocócica anaeróbia, mionecrose necrosante sinérgica e fascíte necrosante, doenças clinicamente superpostas que podem ser diferenciadas da gangrena gasosa por clostrídeos mediante coloração pelo método de Gram e culturas de amostras apropriadas.

As radiografias do local infectado revelam a presença de gás nos planos fasciais. Os exames laboratoriais anormais incluem hematócrito baixo. O nível de hemoglobina pode estar baixo ou normal, mesmo quando o hematócrito se encontra baixo, indicando hemólise e hemoglobina circulante livre. Em geral, ocorre leucocitose.

A cirurgia extensa com remoção de todo o tecido morto e infectado é necessária como procedimento para salvar a vida do paciente. Penicilina G constitui o antibiótico de escolha. A antitoxina não tem a menor valia. Quando ocorrem choque e hemoglobina livre circulante, é comum haver o desenvolvimento de insuficiência renal e outras complicações, tornando o prognóstico sombrio.

DOENÇAS SEXUALMENTE TRANSMISSÍVEIS

CASO 12: URETRITE, ENDOCERVICITE E DOENÇA INFLAMATÓRIA PÉLVICA

Uma jovem de 19 anos de idade procurou a clínica devido à ocorrência de dor na parte inferior do abdome, de 2 dias de duração, e corrimento vaginal amarelado observado pela primeira vez há 4 dias, por ocasião do último dia do período menstrual. A paciente tivera relação com dois parceiros no mês anterior, e com um novo parceiro 10 dias antes de comparecer à clínica.

Manifestações clínicas

A temperatura era de 37,5°C, com normalidade dos outros sinais vitais. O exame físico revelou corrimento mucopurulento amarelado do orifício cervical. Foi constatada hipersensibilidade moderada na parte inferior esquerda do abdome. O exame pélvico bimanual revelou hipersensibilidade ao movimento cervical e hipersensibilidade dos anexos mais intensa no lado esquerdo do que no direito.

Achados laboratoriais

Um teste de amplificação do ácido nucleico (NAATs) que detecta tanto *N. gonorrhoeae* (Cap. 20) quanto *C. trachomatis* (Cap. 27), foi realizado a partir de *swab* cervical, sendo positivo para *C. trachomatis*.

Tratamento

Foi estabelecido o diagnóstico de doença inflamatória pélvica (DIP). A paciente foi tratada em base ambulatorial com dose única intramuscular de ceftriaxona mais doxiciclina durante 2 semanas. Seus dois parceiros compareceram à clínica e também foram tratados.

Comentário

Em homens, corrimento uretral é classificado como **uretrite gonocócica**, causada por *N. gonorrhoeae*, ou **uretrite não gonocócica**, causada, geralmente, por *C. trachomatis* (15 a 55% dos casos) ou *Ureaplasma urealyticum* (20 a 40% dos casos) e, de modo esporádico, *Trichomonas vaginalis* (Cap. 46). O diagnóstico baseia-se na presença ou ausência de diplococos gram-negativos intracelulares na coloração de uma amostra do corrimento uretral. Todos os pacientes com uretrite devem ser testados por métodos de amplificação dos ácidos nucleicos para *C. trachomatis* e *N. gonorrhoeae*. Com frequência, utiliza-se a ceftriaxona para tratamento da uretrite gonocócica, embora as quinolonas possam ser utilizadas em áreas que relatam baixa resistência. Doxiciclina ou azitromicina são usadas para tratar as uretrites não gonocócicas. Recomenda-se fortemente que homens com infecção gonocócica também sejam tratados para infecção causada por *Chlamydia* devido à provável presença de ambas as infecções.

Em mulheres, o diagnóstico diferencial de **endocervicite (cervicite mucopurulenta)** inclui gonorreia e infecção causada por *C. trachomatis*. O diagnóstico é estabelecido com base na cultura da secreção endocervical e testes de amplificação dos ácidos nucleicos para detecção simultânea de *N. gonorrhoeae* e de *C. trachomatis*. Existem três opções principais de tratamento: (1) tratamento para *N. gonorrhoeae* e *C. trachomatis* antes da obtenção dos resultados de cultura (opção recomendada); (2) tratamento apenas para *C. trachomatis*, se a prevalência de infecção por *N. gonorrhoeae* for baixa, mas se houver alta probabilidade de infecção por *Chlamydia*; ou (3) aguardar os resultados de cultura se a prevalência de ambas as doenças for baixa e houver alta probabilidade de adesão ao tratamento com recomendação de consulta de retorno. Os tratamentos recomendados são os mesmos anteriormente mencionados para uretrite.

A **doença inflamatória pélvica (DIP)**, também denominada **salpingite**, consiste em inflamação do útero, das tubas uterinas e tecidos dos anexos não associada a cirurgia ou gravidez. A DIP representa uma importante consequência da infecção endocervical por *N. gonorrhoeae* e *C. trachomatis*, e bem mais de metade dos casos é provocada por um ou por ambos os microrganismos. A incidência de DIP gonocócica apresenta-se elevada em populações de cidades do interior, enquanto a DIP causada por *Chlamydia* é mais comum em estudantes universitárias e populações mais afluentes. Outras causas bacterianas comuns da DIP incluem microrganismos entéricos e bactérias anaeróbias associadas à vaginose bacteriana. O sintoma inicial

comum consiste em dor na parte inferior do abdome. Com frequência, ocorrem corrimento vaginal anormal, sangramento uterino, disúria, coito doloroso, náuseas, vômitos e febre. A principal complicação da DIP consiste em infertilidade decorrente da oclusão das tubas uterinas. Estima-se que 8% das mulheres tornam-se inférteis depois de um episódio de DIP, 19,5% depois de dois episódios, e 40% depois de três ou mais episódios. Deve-se considerar o diagnóstico clínico de DIP em qualquer mulher de idade reprodutiva que apresente dor pélvica. Com frequência, as pacientes apresentam achados físicos clássicos além dos sinais e sintomas de apresentação, como dor na parte inferior do abdome, movimento cervical e hipersensibilidade dos anexos. Pode-se confirmar o diagnóstico clínico por visualização laparoscópica do útero e das tubas uterinas; entretanto, esse procedimento não é prático, sendo raramente efetuado. Todavia, apenas, cerca de 66% das mulheres com diagnóstico clínico de DIP apresentam a doença quando as tubas uterinas e o útero são visualizados. O diagnóstico diferencial deve incluir gravidez ectópica e apendicite, bem como outras doenças. Em pacientes com DIP, recomenda-se, frequentemente, a hospitalização com terapia intravenosa para reduzir a possibilidade de infertilidade. Os esquemas farmacológicos em pacientes internadas consistem em cefoxitina e doxiciclina ou gentamicina e clindamicina. Os esquemas ambulatoriais consistem em cefoxitina ou ceftriaxona em doses únicas mais doxiciclina ou ofloxacino mais metronidazol.

REFERÊNCIAS

- Centers for Disease Control and Prevention: Sexually transmitted diseases treatment guidelines, 2011. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2010;59(RR-12):1.
- Lareau SM, Beigi RH: Pelvic inflammatory disease and tubo-ovarian abscess. *Infect Dis Clin North Am* 2008;22:693.
- Trigg BG, Kerndt PR, Aynalem G: Sexually transmitted infections and pelvic inflammatory disease in women. *Med Clin North Am* 2008;92:1083.

CASO 13: VAGINOSE E VAGINITE

Uma mulher de 28 anos de idade procurou a clínica devido à ocorrência de corrimento vaginal cinza-esbranquiçado de odor desagradável, percebido pela primeira vez há 6 dias. A paciente é sexualmente ativa com um único parceiro que ela conheceu no mês anterior.

Manifestações clínicas

O exame físico revelou corrimento cinza-esbranquiçado fino e homogêneo, aderente à parede vaginal. Não foi constatada secreção do orifício cervical. O exame pélvico bimanual foi normal, assim como o restante do exame físico.

Achados laboratoriais

O pH do líquido vaginal foi de 5,5 (normal: < 4,5). Quando foi adicionado KOH ao líquido vaginal em uma lâmina, tornou-

se possível perceber odor semelhante ao da amina (odor de peixe). O exame direto a fresco do líquido revelou inúmeras células epiteliais com bactérias aderentes (células indicadoras — *clue cells*). Não foram observadas células PMN. O diagnóstico foi de vaginose bacteriana.

Tratamento

O metronidazol, administrado 2 vezes/dia durante 7 dias, resultou em rápido desaparecimento do distúrbio. Foi decidido não tratar o parceiro sexual, a não ser que a paciente sofresse recidiva da vaginose.

Comentário

A vaginose bacteriana deve ser diferenciada do corrimento vaginal normal, bem como da vaginite por *T. vaginalis* e vulvovaginite por *C. albicans* (ver Quadro 48.5). Essas doenças são muito comuns, ocorrendo em cerca de 20% das mulheres que procuram assistência ginecológica. A maioria das mulheres apresenta pelo menos um episódio de vaginite ou de vaginose durante os anos reprodutivos.

A vaginose bacteriana é assim denominada devido à ausência de células PMN na secreção vaginal, isto é, a doença não constitui um processo inflamatório. Em associação com infecção por *Gardnerella vaginalis* (Cap. 22), verifica-se redução no número de lactobacilos da microbiota vaginal normal, e ocorre elevação do pH vaginal. Concomitantemente, há proliferação excessiva de *G. vaginalis* e bactérias anaeróbias vaginais, produzindo o corrimento que contém uma amina, de odor fétido. Além de *G. vaginalis*, bastonetes gram-negativos curvos do gênero *Mobiluncus* também foram associados à vaginose bacteriana. Essas bactérias curvas podem ser observadas em colorações do corrimento vaginal pelo método de Gram.

O *T. vaginalis* (Cap. 46) é um protozoário flagelado. A **vaginite** por *T. vaginalis* é mais bem diagnosticada por exame a fresco do líquido vaginal mostrando as tricômonas móveis, ligeiramente maiores que as células PMN. Como as tricômonas perdem a motilidade quando resfriadas, é mais apropriado utilizar solução salina, lâminas e lamínulas aquecidas (37°C) quando forem feitas preparações a fresco, que devem

ser examinadas prontamente. Novos métodos de diagnóstico, muito mais sensíveis que as preparações a fresco, como testes de amplificação de ácido nucleico, foram recentemente aprovados, nos EUA.

A **vulvovaginite por *Candida*** ocorre frequentemente após antibioticoterapia para infecção bacteriana. Os antibióticos diminuem a microbiota genital normal, permitindo a proliferação das leveduras, com o surgimento de sintomas. Por conseguinte, a vulvovaginite por *Candida* não é, na verdade, uma doença sexualmente transmissível.

REFERÊNCIAS

- Johnston VJ, Mabey DC: Global epidemiology and control of *Trichomonas vaginalis*. *Curr Opin Infect Dis* 2008;21:56.
- Nyirjesy P: Vulvovaginal candidiasis and bacterial vaginosis. *Infect Dis Clin North Am* 2008;22:637.
- Wendel KA, Workowski KA: Trichomoniasis: Challenges to appropriate management. *Clin Infect Dis* 2007;44 Suppl 3:S123.

CASO 14: ÚLCERAS GENITAIS

Um jovem de 21 anos de idade procurou a clínica com queixa principal de úlcera no pênis. A lesão apareceu há cerca de 3 semanas, em forma de pápula, evoluindo lentamente até formar uma úlcera. Era indolor, e o paciente não percebeu nenhum pus ou secreção da úlcera.

O paciente fora examinado anteriormente devido a uma doença sexualmente transmissível, e houve suspeita de uso de medicamento para melhorar o desempenho sexual.

Manifestações clínicas

A temperatura do paciente era de 37°C; o pulso, de 80/min; a respiração, de 16/min e a pressão arterial, de 110/80 mmHg. Foi

QUADRO 48.5 Vaginite e vaginose bacterianas

	Normal	Vaginose bacteriana	Vaginite por <i>Trichomonas vaginalis</i>	Vulvovaginite por <i>Candida albicans</i>
Sintomas primários	Nenhum	Corrimento, odor fétido, podendo ocorrer coceira	Corrimento, odor fétido, podendo ocorrer coceira	Corrimento; prurido e queimação da pele vulvar
Corrimento vaginal	Discreto, branco, floculento	Abundante, fino, homogêneo, branco, acinzentado, aderente	Abundante, amarelo, esverdeado, espumoso, aderente; petéquias cervicais frequentes	Abundante, branco, coalhado como queijo cottage
pH	< 4,5	> 4,5	> 4,5	≤ 4,5
Odor	Nenhum	Comum, de peixe	Pode estar presente, de peixe	Nenhum
Microscopia	Células epiteliais com lactobacilos	Células indicadoras com bacilos aderentes; ausência de PMN	Tricomonas móveis; muitos PMN	Preparação com KOH que revela presença de leveduras em brotamento e pseudo-hifas
Tratamento	Nenhum	Metronidazol oral ou tópico	Metronidazol oral	Antifúngico azólico tópico

constatada a presença de uma úlcera de 1 cm do lado esquerdo do corpo do pênis, a qual tinha base clara e bordas elevadas, com endurecimento moderado. Houve pouca dor à palpação. Os linfonodos inguinais esquerdos, de 1 a 1,5 cm de diâmetro, estavam palpáveis.

Achados laboratoriais

A lesão peniana foi suavemente limpa com solução salina e gaze. Em seguida, foi obtida uma pequena quantidade de exsudato claro da base da lesão, e a amostra foi colocada em lâmina e examinada à microscopia de campo escuro. Foram observados múltiplos espiroquetas. A prova sorológica de rastreamento com RPR (reagina plasmática rápida) para sífilis foi positiva em uma diluição de 1:8. O teste de anticorpo treponêmico fluorescente absorvido (FTA-ABS) específico para treponema, com objetivo de confirmação, também foi positivo.

Tratamento e acompanhamento

O paciente foi tratado com dose única de penicilina benzatina. Seis meses depois, o teste com RPR tornou-se negativo, porém a persistência do teste FTA-ABS positivo era esperada durante toda a vida do paciente.

O paciente citou cinco parceiras com as quais tivera relação sexual no mês anterior à consulta. Três dessas mulheres foram localizadas pelos investigadores de saúde pública. Duas tiveram provas sorológicas positivas para sífilis e foram tratadas. As duas mulheres que não foram localizadas haviam-se mudado para endereço desconhecido em outras cidades.

Comentário

As três principais doenças com úlceras genitais são a **sífilis**, o **herpes genital** e o **cancroide** (ver Quadro 48.6).

Dois outras doenças ulcerosas genitais muito menos comuns são a lesão inicial do **linfocitoma venéreo**, causado

por *C. trachomatis* (Cap. 27) e o raro **granuloma inguinal** (donovanose), causado por *Klebsiella granulomatis*. O linfocitoma venéreo é uma doença sistêmica com febre, mal-estar e linfadenopatia. Pode-se verificar a presença de bubões inguinais. Em geral, o diagnóstico é estabelecido por testes sorológicos; entretanto, a cultura do pus aspirado de um bubão inguinal pode ser positiva para *C. trachomatis*. Alguns laboratórios de referência desenvolveram semiensaios de PCR multiplex, para detecção simultânea de diferentes patógenos, que causam úlceras genitais, porém não estão plenamente disponíveis.

INFECÇÕES POR MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS

CASO 15: TUBERCULOSE PULMONAR

Um homem de 64 anos de idade foi internado com história de fraqueza progressiva e perda de peso de 13 kg em 5 meses. Além disso, apresentava febre, calafrios e tosse crônica, produzindo escarro amarelado, às vezes, com raias de sangue.

O paciente consumia álcool em grande quantidade e vivia em uma pensão próxima ao bar que ele frequentava. Nos últimos 45 anos, vinha fumando um maço de cigarros por dia.

O paciente não apresentou história clínica de tuberculose nem registro de testes cutâneos anteriores para tuberculose ou radiografias de tórax anormais, não havendo exposição conhecida à tuberculose.

QUADRO 48.6 Principais doenças com úlceras genitais: sífilis, herpes e cancroide

	Sífilis primária	Herpes genital (lesões iniciais)	Cancroide
Agente etiológico ^b	<i>Treponema pallidum</i>	Herpes-vírus simples	<i>Haemophilus ducreyi</i>
Período de incubação	3 semanas (10 a 90 dias)	2 a 7 dias	3 a 5 dias
Manifestação clínica usual	Pápula ligeiramente hipersensível que ulcera no decorrer de 1 a várias semanas	Dor pronunciada na área genital; pápulas que ulceram em 3 a 6 dias; é comum a ocorrência de febre, cefaleia, mal-estar e adenopatia inguinal	Pápula hipersensível que ulcera em 24 h
Testes diagnósticos	Exame do exsudato do cancro em campo escuro; provas sorológicas	Cultivo viral de células e do fluido do cancro; os testes sorológicos apresentam-se positivos em 18 a 48 h; coloração da mesma amostra com anticorpo fluorescente	Cultura de <i>Haemophilus ducreyi</i> em pelo menos dois tipos de meio enriquecidos contendo vancomicina e incubados a 33°C
Sequelas a longo prazo	Sífilis secundária com lesões mucocutâneas; sífilis terciária	Herpes genital recorrente	Bubão inguinal
Tratamento	Penicilina G benzatina; doxiciclina se houver alergia à penicilina	Aciclovir ou fanciclovir ou valaciclovir	Ceftriaxona ou azitromicina ou eritromicina ou ciprofloxacino

^aFonte: Sexually transmitted diseases treatment guidelines. MMWR Morb Mortal Wkly Rep 2006;6:1.

^bO teste de HIV deve ser realizado em pacientes com úlcera genital causada por este patógeno.

Manifestações clínicas

A temperatura era de 39°C; o pulso, de 110/min; a respiração, de 32/min e a pressão arterial, de 120/80 mmHg. Era um homem magro com dentição precária; entretanto, o restante do exame da cabeça e do pescoço mostrou-se normal. No exame de tórax, foram percebidas muitas crepitações nos campos pulmonares superiores. O restante do exame físico foi normal.

Achados laboratoriais e de imagem

O hematócrito foi de 30% (baixo), e a contagem de leucócitos, de 9.600/ μ L. As concentrações de eletrólitos e outros exames do sangue foram normais. O teste para anticorpo contra o HIV-1 foi negativo. A radiografia de tórax revelou infiltrados cavitários extensos em ambos os lobos superiores. O teste tuberculínico foi negativo, assim como testes cutâneos com antígenos do vírus da caxumba e *Candida*, indicando anergia.

Foi obtida imediatamente uma amostra de escarro e efetuada uma coloração acidorresistente antes de se proceder à concentração do escarro. Foram observadas inúmeras bactérias acidorresistentes no esfregaço. A cultura do escarro concentrado e descontaminado foi positiva para bactérias acidorresistentes depois de um período de incubação de 14 dias. Dois dias depois, foi identificada a presença de *M. tuberculosis* por sonda molecular. O antibiograma dos microrganismos revelou susceptibilidade a isoniazida, rifampicina, pirazinamida, etambutol e estreptomina.

Tratamento e evolução hospitalares

O paciente foi tratado com isoniazida, rifampicina, pirazinamida e etambutol durante 2 meses, sendo este esquema seguido da administração de isoniazida e rifampicina 2 vezes/semana durante 7 meses, com observação direta. As culturas de escarro de acompanhamento foram negativas para *M. tuberculosis*.

Durante a hospitalização, o paciente foi isolado e utilizou máscara o tempo todo. Todavia, antes de se proceder ao isolamento e de se fornecer a máscara, um estudante de Medicina e um médico residente foram expostos ao paciente. O médico residente apresentou conversão do teste tuberculínico e recebeu profilaxia com isoniazida durante 9 meses.

Procurou-se encontrar os contatos íntimos do paciente. Ao todo, foram detectadas 34 pessoas com testes tuberculínicos positivos. Os indivíduos de 35 anos de idade ou menos receberam profilaxia com isoniazida durante 1 ano, enquanto aqueles com mais de 35 anos foram submetidos a radiografias de tórax periódicas para acompanhamento. Dois casos de tuberculose ativa também foram diagnosticados e tratados. Os *M. tuberculosis* isolados dos dois pacientes foram idênticos ao microrganismo isolado do paciente por meio de *fingerprinting* do DNA.

CASO 16: TUBERCULOSE MILIAR DISSEMINADA

Uma mulher asiática de 31 anos de idade foi internada com história clínica de 7 semanas de mal-estar crescen-

te, mialgia, tosse improdutiva e dificuldade respiratória. Diariamente, apresentava febre de 38 a 39°C e sofreu recentemente uma perda ponderal de 5 kg. Foi administrada uma cefalosporina oral, sem qualquer efeito.

A história clínica pregressa da paciente revelou que ela emigrou das Filipinas aos 24 anos de idade, tendo uma radiografia de tórax negativa nessa ocasião. A avó da paciente morreu de tuberculose quando ela ainda era criança, e a paciente não soube dizer se teve contato com essa avó. A paciente recebeu vacina BCG quando criança. Atualmente, está vivendo com parentes que mantêm uma pensão para cerca de 30 idosos.

Manifestações clínicas

A temperatura era de 39°C; o pulso, de 100/min; a respiração, de 20/min e a pressão arterial, de 120/80 mmHg. O exame físico mostrou-se totalmente normal. O médico não conseguiu palpar o baço; o fígado apresentou tamanho normal à percussão, e não havia linfadenopatia evidente.

Achados laboratoriais e de imagem

A hemoglobina foi de 8,3 g/dL (normal: 12 a 15,5 g/dL), e o hematócrito, de 27% (normal: 36 a 46%). O esfregaço de sangue periférico revelou a presença de eritrócitos microcíticos hipocrômicos, compatível com infecção crônica ou anemia ferropriva. A contagem de plaquetas foi de 50.000/ μ L (normal: 140.000 a 450.000/ μ L). A contagem de leucócitos foi de 7.000/ μ L (normal), com contagem diferencial normal. Constatou-se um prolongamento moderado do tempo de protrombina, enquanto o tempo de tromboplastina parcial mostrou-se ligeiramente prolongado, sugerindo coagulopatia de doença hepática. As provas de função hepática incluíram níveis de aspartato aminotransferase (AST) de 140 U/L (normal: 10 a 40 U/L), alanina aminotransferase (ALT) de 105 U/L (normal: 5 a 35 U/L), bilirrubina de 2 mg/dL (2 vezes o valor normal) e fosfatase alcalina de 100 U/L (normal: 36 a 122 U/L). O nível sérico de albumina foi de 1,7 g/dL (normal: 3,4 a 5 g/dL). A creatinina, a ureia sanguínea e os eletrólitos mostraram-se normais. O exame de urina revelou alguns eritrócitos e leucócitos. Duas hemoculturas de rotina foram negativas. As culturas de escarro e de urina produziram pequenas quantidades de microbiota normal.

Os testes sorológicos para HIV-1, anticorpo e antígeno do vírus da hepatite B, coccidioidomicose, leptospirose, brucelose, *Mycoplasma*, doença de Lyme e febre Q foram negativos. O teste tuberculínico também foi negativo. Além disso, a radiografia do tórax foi normal e; a TC abdominal, negativa.

Tratamento e evolução hospitalar

Durante os primeiros dias de hospitalização, a paciente apresentou dificuldade respiratória progressiva e angústia respiratória. Uma nova radiografia de tórax revelou infiltrados intersticiais e laterais. Foi estabelecido o diagnóstico de síndrome da angústia respiratória do adulto. O nível de hemoglobina foi de 10,6 g/dL,

e a contagem de leucócitos, de 4.900/ μL . A gasometria arterial revelou pH de 7,38, Po_2 de 50 mm Hg (baixa) e PCO_2 de 32 mm Hg. A paciente recebeu oxigenoterapia e foi intubada (durante 4 dias). Foi efetuado um lavado broncoalveolar (BAL). O líquido do lavado foi negativo na cultura de rotina, e a coloração acidorresistente também foi negativa. Uma segunda TC do abdome revelou fígado de aspecto normal, porém com linfadenopatia periaórtica e esplenomegalia leve. A paciente foi submetida à laparoscopia com biópsia hepática e de medula óssea.

Tanto a biópsia hepática quanto a da medula óssea revelaram a existência de granulomas com células gigantes, verificando-se também bacilos acidorresistentes. (Foram observadas reservas abundantes de ferro, indicando que a anemia era causada por infecção crônica, não por deficiência de ferro.) A paciente recebeu isoniazida, rifampicina, pirazinamida e etambutol. As radiografias de tórax continuaram a revelar infiltrados difusos, porém foi constatada melhora. A febre diminuiu, e a paciente apresentou melhora generalizada.

Entre 19 e 21 dias de incubação, as culturas de amostras das biópsias de fígado e de medula óssea, bem como do líquido do lavado tornaram-se positivas para bacilos acidorresistentes, identificados como *M. tuberculosis* por sonda molecular. As micobactérias mostraram-se suscetíveis a todos os fármacos administrados à paciente. O esquema de quatro fármacos foi mantido durante 2 meses até a obtenção dos resultados dos testes de suscetibilidade. Em seguida, a paciente foi mantida com isoniazida e rifampicina por um período adicional de 10 meses, no total de 1 ano de tratamento.

Todos os parentes e as pessoas idosas que viviam com a paciente foram submetidos a testes cutâneos para tuberculose. Foram também efetuadas radiografias de tórax das pessoas com testes cutâneos positivos e daquelas que apresentavam história recente de tosse ou perda ponderal. Foram encontradas três pessoas com testes tuberculínicos positivos. Nenhuma apresentou tuberculose ativa. Para as pessoas que viviam junto com o paciente, foi oferecido antibioticoterapia profilática com isoniazida.

Suspeitou-se de que a paciente tivera reativação da tuberculose com disseminação hematogênica, acometendo os pulmões, o fígado, os linfonodos e, possivelmente, os rins.

Comentário

Calcula-se que cerca de 33% da população mundial, tenham tuberculose e que, anualmente, cerca de 3 milhões morram da doença. Nos EUA, foi alcançada uma baixa incidência da tuberculose, de 9,4 casos por 100.000 habitantes, em meados da década de 1980. Essa incidência aumentou ligeiramente no final da referida década; todavia, desde 1992 foi constatado um novo declínio. A incidência mais baixa (e mais recentemente registrada) foi de 3,6 casos por 100.000 habitantes (11.182 casos) registrados em 2010. Nos EUA, a tuberculose acomete mais comumente populações de baixa condição socioeconômica: pessoas pobres das regiões urbanas, pessoas desabrigadas, emigrantes camponeses, alcoolistas e usuários de drogas intravenosas. Aproximadamente metade dos casos ocorreu em indivíduos imigrantes. A incidência de tuberculose pode ser muito alta em determinados grupos e regiões geográficas (p. ex., usuários de drogas intravenosas HIV-positivos no leste dos EUA, pacientes haitianos com Aids). A tuberculose em indivíduos idosos geralmente é decorrente de uma reativação

de infecção anterior, enquanto a doença em crianças indica transmissão ativa do *M. tuberculosis*. Cerca de 80% dos casos em crianças ocorrem em minorias étnicas. Entretanto, a tuberculose ativa é mais frequentemente diagnosticada em adultos jovens, frequentemente em associação com a infecção pelo HIV-1. A ocorrência concomitante de tuberculose e infecção pelo HIV-1 é particularmente importante nos países em desenvolvimento; na África, milhões de pessoas apresentam ambas as infecções. Existe muita preocupação quanto à disseminação da tuberculose resistente a múltiplos fármacos na Rússia.

A transmissão da tuberculose de um paciente para outra pessoa ocorre por meio de perdigotos infecciosos produzidos durante a tosse, o espirro ou a fala. Os principais fatores na transmissão da infecção são o grau e a duração do contato, bem como a infecciosidade do paciente. Em geral, menos de 50% dos contatos de casos ativos tornam-se infectados, conforme determinado por conversão dos testes tuberculínicos. Os pacientes geralmente se tornam não infecciosos 2 semanas após o início da terapia. Uma vez infectados, 3 a 4% dos indivíduos desenvolvem tuberculose ativa no primeiro ano e cerca de 10% em uma fase posterior. Os grupos etários em que a infecção tem maior probabilidade de provocar doença ativa são a infância, a faixa etária de 15 a 25 anos e os indivíduos idosos.

O teste tuberculínico é efetuado pela injeção subcutânea de 5 unidades de tuberculina (UT) de derivado proteico purificado (DPP/PPD), utilizando-se uma agulha de número 26 ou 27. Efetua-se a leitura da reação em 48 a 72 h, e a positividade do teste consiste no aparecimento de endurecimento de 10 mm ou mais; a presença de eritema não é considerada um fator determinante de um teste positivo. Entre os indivíduos que desenvolvem endurecimento de 10 mm, 90% apresentam infecção por *M. tuberculosis*, enquanto praticamente todos os indivíduos com endurecimento de mais de 15 mm são infectados. Os resultados falsos-positivos são causados por infecção por micobactérias não tuberculosas (p. ex., *Mycobacterium kansasii*). Os resultados falsos-negativos são decorrentes de doença generalizada em pacientes com tuberculose ou à presença de imunossupressão. Alternativas para o teste de tuberculina são os ensaios de liberação de $\text{IFN-}\gamma$ (ver Cap. 23). Esses ensaios são particularmente úteis no reconhecimento de indivíduos que receberam a vacinação com a BCG. O uso desses ensaios para o diagnóstico da tuberculose, em pacientes imunossuprimidos ou anérgicos, está sob investigação.

A infecção primária por *M. tuberculosis* em crianças caracteriza-se por infiltrados nos campos pulmonares médios ou inferiores e linfadenopatia hilar nas radiografias de tórax. Adolescentes e adultos podem apresentar um quadro semelhante na infecção primária; entretanto, a infecção costuma evoluir rapidamente para a **doença cavitária apical**. No indivíduo idoso, a tuberculose pode manifestar-se de modo inespecífico em forma de pneumonia lobar inferior. A presença de doença cavitária apical sugere fortemente tuberculose (cujo diagnóstico diferencial inclui histoplasmose). Todavia, a tuberculose pode imitar outras doenças quando partes dos pulmões, além dos ápices, estão infectadas. A tuberculose pulmonar crônica pode ser decorrente da reativação de infecção endógena ou reinfeção exógena.

A **tuberculose extrapulmonar**, que ocorre em menos de 20% dos casos, é mais comum em pacientes com Aids, podendo ser muito grave e mesmo potencialmente fatal. O método mais comum de propagação é por disseminação hematogênica

por ocasião da infecção primária ou, com menor frequência, a partir de focos pulmonares crônicos ou outros focos. Pode ocorrer extensão direta da infecção nos espaços pleural, pericárdico ou peritoneal, podendo haver invasão do trato gastrointestinal em consequência da deglutição de secreções infectadas. Em pacientes com Aids, diferentemente de outros pacientes, é comum a ocorrência concomitante de doença pulmonar e extrapulmonar. As principais formas extrapulmonares da tuberculose — por ordem aproximadamente decrescente de frequência — são as seguintes: linfática, pleural, geniturinária, óssea e articular, disseminada (miliar), meníngea e peritoneal. Todavia, qualquer órgão pode ser infectado por *M. tuberculosis*, devendo-se considerar a possibilidade de tuberculose no diagnóstico diferencial de muitas outras doenças.

Os dois principais fármacos utilizados no tratamento da tuberculose são a **isoniazida (INH)** e a **rifampicina (RIF)**. Os outros fármacos de primeira linha são a **pirazinamida (PZA)** e o **etambutol (EMB)**. Existem vários fármacos de segunda linha mais tóxicos, menos eficazes ou ambos, de modo que só deverão ser utilizados quando as circunstâncias exigirem sua prescrição (p. ex., falha do tratamento com fármacos-padrões, resistência a múltiplos fármacos). Existem diversos regimes aprovados para tratamento do *M. tuberculosis* sensível aos antimicrobianos, em crianças e adultos. A maioria dos clínicos prefere os tratamentos de 6 meses. A fase inicial de um tratamento de 6 meses para adultos deve consistir em um período de 2 meses com INH, RIF, PZA e EMB. A terapia ótima é diretamente observada em 5 dias por semana. A fase de continuação do tratamento deve consistir em INH mais RIF administradas por no mínimo 4 meses. A fase de continuação deve ser estendida por mais 3 meses para os pacientes que tenham cavitação na fase inicial ou no acompanhamento por radiografias de pulmão e apresentem culturas positivas durante os 2 meses iniciais de tratamento.

Recomendam-se 9 meses de tratamento se a PZA não puder ser incluída no regime inicial, ou se o isolado for resistente à PZA. Um esquema de tratamento consistindo em INH, RIF e EMB deve ser administrado durante os 2 meses iniciais, seguidos por INH e RIF por 7 meses administrados diariamente ou 2 vezes/semana. A suscetibilidade ou a resistência à INH e à RIF constituem fatores importantes na escolha dos fármacos apropriados e no estabelecimento da duração do tratamento. Nos pacientes que não seguem o esquema, também é importante a observação direta da terapia.

REFERÊNCIAS

- American Thoracic Society, Centers for Disease Control and Prevention, and Infectious Diseases Society of America: Treatment of tuberculosis. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2003;52(RR11):1.
- Centers for Disease Control and Prevention. Recommendations for use of isoniazid-rifampentine regimen with direct observation to treat latent *Mycobacterium tuberculosis* infection. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2011;60:1650.
- Centers for Disease Control and Prevention. Reported tuberculosis in the United States, 2010. <http://www.cdc.gov/tb/statistics/reports/2010/pdf/report2010.pdf>.
- LoBue P: Extensively drug-resistant tuberculosis. *Curr Opin Infect Dis* 2009;22:167.
- Yew WW, Sotgiu G, Migliori GB. Update in tuberculosis and non-tuberculous mycobacterial disease 2010. *Am J Respir Crit Care Med* 2011;184:180.

HIV-1 E AIDS

CASO 17: INFECÇÃO DISSEMINADA PELO COMPLEXO *MYCOBACTERIUM AVIUM* (MAC)

Um homem de 44 anos de idade apresentou história de várias semanas de febre intermitente, acompanhada algumas vezes de calafrios com tremores. Apresentava aumento da frequência das evacuações, sem diarreia franca, porém com cólicas e dor abdominal ocasionais. O paciente não se queixou de cefaleia nem de tosse. Perdera cerca de 5 kg do peso corporal. O restante da história clínica foi negativo.

Dez anos antes da doença atual, o paciente correu risco de adquirir infecção pelo HIV em virtude de suas atividades. Nunca efetuara qualquer teste laboratorial para determinação do HIV.

Manifestações clínicas

A temperatura era de 38°C; o pulso, de 90/min; a respiração, de 18/min e a pressão arterial, de 110/70 mmHg. O paciente não apresentava aspecto agudamente enfermo. A ponta do baço mostrava-se palpável no quadrante abdominal superior esquerdo, 3 cm abaixo das costelas (sugerindo esplenomegalia). Não foi constatada a presença de hepatomegalia e linfadenopatia, nem havia qualquer sinal neurológico ou meníngeo. O restante do exame físico mostrou-se normal.

Achados laboratoriais e de imagem

A contagem de leucócitos do paciente mostrou-se estável em 3.000/ μ L (abaixo do normal). O hematócrito foi de 29% (abaixo do normal). A contagem de células T auxiliares-indutoras CD4 foi de 75 células/ μ L (normal: 425 a 1.650/ μ L).

O painel químico só foi notável com relação ao nível de fosfatase alcalina de 210 U/L (normal: 36 a 122 U/L). A avaliação sobre a etiologia da febre revelou exame de urina normal, hemoculturas de rotina negativas e radiografia de tórax normal. O teste para antígeno criptócico sérico foi negativo. Foram obtidas duas hemoculturas para micobactérias, que se tornaram positivas em 10 a 12 dias. Três dias depois, o microrganismo foi identificado por sonda molecular como complexo *M. avium* (MAC).

O teste Elisa-padrão para anticorpos contra o HIV-1 foi positivo. A análise *Western blot* revelou a presença de anticorpos contra cada um dos principais grupos antigênicos do HIV-1, as proteínas Gag, Pol e Env. O ensaio de DNA de cadeia ramificada para a determinação do RNA do HIV-1 foi positivo com 300.000 cópias/mL.

Tratamento e acompanhamento

Foi instituído um esquema de três fármacos para o MAC: claritromicina, etambutol e ciprofloxacino. O paciente teve uma sensação de bem-estar com acentuada redução da febre e da

sudorese, bem como aumento do apetite. Concomitantemente, recebeu **terapia antirretroviral intensamente ativa** (highly active antiretroviral therapy [HAART]). Três fármacos foram empregados: efavirenz, tenofovir e emtricitabina (todos inibidores não nucleosídeos da transcriptase reversa) formulados em um único comprimido. Durante o acompanhamento de 4 meses após o início da terapia antirretroviral, o ensaio da carga viral de RNA do HIV-1 revelou níveis indetectáveis do vírus, e a contagem de células T CD4 foi de 250 células/ μL .

Comentário sobre a infecção pelo HIV-1 e Aids

O período de incubação entre a exposição e o início da doença aguda pelo HIV-1 é tipicamente de 2 a 4 semanas. A maioria dos indivíduos desenvolve doença aguda de 2 a 6 semanas de duração. Os sinais e sintomas comuns consistem em febre (97%), adenopatia (77%), faringite (73%), erupção cutânea (70%) e mialgia ou artralgia. A erupção, eritematosa e não pruriginosa, consiste em lesões maculopapulares (ligeiramente elevadas) de 5 a 10 mm de diâmetro, geralmente na face ou no tronco. Todavia, o exantema pode ser observado nos membros ou nas palmas e plantas, ou pode ser generalizado. As úlceras na boca constituem uma característica distinta da infecção primária pelo HIV. A doença aguda foi descrita como “semelhante à mononucleose”, embora seja, na verdade, uma síndrome distinta.

Os anticorpos IgM contra o HIV-1 aparecem 2 semanas após a infecção primária e precedem a produção de anticorpos IgG, que se tornam detectáveis em poucas semanas. A detecção do RNA do HIV-1 no início da evolução da infecção é motivo de grande preocupação para os bancos de sangue, a fim de evitar a transfusão de sangue soronegativo HIV-1-positivo.

A Aids constitui a principal complicação da infecção pelo HIV-1. A síndrome é definida pelo desenvolvimento de graves infecções oportunistas, neoplasias ou outras manifestações potencialmente fatais decorrentes da imunossupressão progressiva induzida pelo HIV-1. A Aids constitui a manifestação mais grave de várias doenças clínicas após infecção primária pelo HIV. A primeira definição formal de Aids como síndrome foi estabelecida antes da caracterização do HIV-1. A definição foi modificada em 1987, para incluir evidências de infecção pelo HIV-1, e novamente em 1993, quando foram acrescentados os critérios da contagem de células CD4. Os três critérios da contagem de células CD4 são os seguintes: (1) 500 células/ μL ou mais; (2) 200 a 499/ μL ; e (3) menos de 200/ μL . As três categorias clínicas são as seguintes: (A) infecção aguda pelo HIV-1 — linfadenopatia persistente e doença assintomática; (B) pacientes com condições sintomáticas atribuídas à infecção pelo HIV-1 ou complicadas por ela (candidíase orofaríngea ou vulvovaginal persistente, herpes-zóster recorrente, angiomatose bacilar, etc.); e (C) condições que definem a Aids (ver adiante). O resultado final da atual classificação da infecção pelo HIV-1 consiste na divisão em tipos baseados na diversidade genética dos genes gag e env do HIV-1. Os três tipos são: M (principal), O (atípico) e N (não M e não O). O tipo M é ainda classificado em subtipos definidos por letras de A a D, de F a H, J e K. Este sistema de classificação é útil para os estudos de epidemiologia, transmissibilidade e possibilidade de resposta à terapia antirretroviral. Entretanto, o propósito de ajudar a melhorar as abordagens clínica e terapêutica dos pacientes com Aids ainda é baseado, em grande parte, na contagem de células

CD4. Como as contagens de células CD4 e carga viral estão disponíveis nos países desenvolvidos, mas não são facilmente obtidas em muitas partes do mundo, o valor dessa classificação complexa é limitado em muitas áreas geográficas. A classificação tampouco proporciona uma mudança do estado dos pacientes que podem melhorar de modo radical com a terapia antirretroviral intensamente ativa.

As infecções que definem a Aids (classificação clínica C, ver anteriormente) estão listadas no Quadro 48.7. Os tumores que definem a Aids são o linfoma primário do cérebro, linfoma de Burkitt ou imunoblástico e carcinoma cervical invasivo em mulheres, além do sarcoma de Kaposi. A encefalopatia pelo HIV-1 com comprometimento das funções cognitivas ou motoras e doença debilitante pelo HIV-1 (perda ponderal > 10% e mais de 1 mês de diarreia ou fraqueza e febre) também são condições que definem a Aids.

Os pacientes infectados pelo HIV-1 podem apresentar sinais e sintomas relacionados com um ou mais sistemas orgânicos. No Quadro 48.8, fornecemos uma lista das infecções oportunistas comuns de acordo com seu local anatômico. Tipicamente, a avaliação dos pacientes que podem apresentar infecção pelo HIV-1 ou Aids baseia-se nas histórias clínica e epidemiológica de possível exposição, juntamente com a avaliação diagnóstica da doença manifesta de acordo com o local acometido.

Os conhecimentos acerca da terapia com agentes anti-HIV-1 estão mudando com muita rapidez, de modo que todas as recomendações relativas à terapia com agentes anti-HIV-1 devem ser consideradas provisórias. Por conseguinte, são apresentadas aqui apenas diretrizes gerais. A profilaxia pós-exposição com agentes anti-HIV-1 mostra-se eficaz, e o tratamento da infecção primária pelo HIV-1 também pode ter implicações favoráveis para o prognóstico. Muitos fatores influem na decisão de iniciar o tratamento com agentes anti-HIV-1, inclusive a taxa de redução da contagem de células CD4 e os níveis sanguíneos de RNA do HIV-1. No início da evolução da doença pelo HIV-1, quando a contagem de CD4 é > 500 células/ μL , é conveniente monitorar o estado clínico, sendo a terapia recomendada, caso a carga viral esteja elevada. Já quando a contagem de CD4 cai para valores inferiores a 500 células/ μL , a terapia é necessária. Os fármacos utilizados no tratamento da infecção pelo HIV-1 são discutidos no Capítulo 30. Essa terapia antirretroviral intensamente ativa melhorou sobremaneira a vida e o prognóstico de muitos pacientes com Aids. A resposta ao tratamento deve ser monitorada pelo acompanhamento da carga viral e para testes em relação à resistência quando a resposta clínica for baixa. Quando a contagem de células CD4 cai para menos de 200/ μL , deve-se iniciar profilaxia contra infecção por *P. jirovecii*. A profilaxia para outras infecções oportunistas (Quadro 48.7) também pode ser conveniente.

REFERÊNCIAS

- Drugs for HIV infection. *Med Lett* 2011;9(106):29.
- Peiperl L, Coffey S, Bacon O, Volberding P (editors): HIV In Site Knowledge base [electronic resource], the comprehensive, on-line textbook of HIV disease from the University of California San Francisco and San Francisco General Hospital 2009; <http://hivinsite.ucsf.edu/InSite.jsp?page=KB>.
- Taylor BS, Sobieszczyk ME, McCutchan FE, Hammer SM: The challenge of HIV-subtype diversity. *N Engl J Med* 2008;358:1590.
- Thompson MA, Aberg JA, Cahn P et al.: Antiretroviral treatment of adult HIV infection: 2010 recommendations of the International AIDS Society—USA panel. *JAMA* 2010;304:321.

QUADRO 48.7 Resumo das infecções que definem a Aids, seu tratamento e profilaxia

Infecção que define a Aids	Tipos de infecção	Tratamento	Profilaxia ou manutenção
Vírus			
Citomegalovírus	Retinite, colite, esofagite, pneumonia, viremia	Valganciclovir oral e ganciclovir em implante intraocular (retinite); ganciclovir intravenoso, foscarnete, fanciclovir (oral e genital)	Ganciclovir oral ou intravenoso
Vírus Epstein-Barr	Alto grau de células B, linfomas não Hodgkin	Terapia citotóxica em altas doses seguida de HAART	
Herpes simples	Úlceras cutâneas, de orofaringe ou brônquicas; proctite	Aciclovir, foscarnete	Aciclovir, fanciclovir, valaciclovir
Vírus JC	Leucoencefalopatia multifocal progressiva		
Herpes-vírus humano 8 (herpes-vírus associado ao sarcoma de Kaposi)	Sarcoma de Kaposi		
Bactérias			
Complexo <i>Mycobacterium avium</i>	Disseminada ou extrapulmonar	Em geral, são utilizados dois a quatro fármacos: claritromicina ou azitromicina e etambutol ou rifabutina ou ciprofloxacino ou rifampicina	Claritromicina ou azitromicina
<i>Mycobacterium kansasii</i> , outras micobactérias não tuberculosas	Disseminada ou extrapulmonar	De acordo com os padrões de suscetibilidade estabelecidos	
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	Qualquer local: pulmonar, linfadenite, disseminada	Isoniazida, rifampicina, pirazinamida e etambutol (outros fármacos de acordo com os testes de suscetibilidade) durante 2 meses; manter a isoniazida e a rifampicina durante pelo menos mais 4 meses	Evitar a transmissão mediante boas práticas de controle de infecções; isoniazida para testes cutâneos de tuberculina positivos (≥ 5 mm)
Infecções bacterianas piogênicas recorrentes	≥ 2 episódios em 2 anos e < 13 anos de idade; ≥ 2 episódios de pneumonia em 1 ano e qualquer idade: <i>Streptococcus pneumoniae</i> , <i>S. pyogenes</i> , <i>S. agalactiae</i> , outros estreptococos, <i>Haemophilus influenzae</i> , <i>Staphylococcus aureus</i>	De acordo com a espécie	
Espécies de <i>Salmonella</i>	Bacteriemia	Cefalosporina de terceira geração, ciprofloxacino	Ciprofloxacino
<i>Pneumocystis jirovecii</i>	Pneumonia	Sulfametoxazol-trimetoprima; isetionato de pentamidina; trimetrexato mais leucovorina com ou sem dapsona; clindamicina mais primaquina	Sulfametoxazol-trimetoprima; dapsona com ou sem pirimetamina mais leucovorina; isetionato de pentamidina em aerossol, atovaquona
Fungos			
<i>Candida albicans</i>	Esofagite, traqueobronquite; também de orofaringe, vaginite	Anfotericina B, fluconazol, outros	Fluconazol
<i>Cryptococcus neoformans</i>	Meningite disseminada; também pulmonar	Anfotericina B e flucitosina; fluconazol e flucitosina	Fluconazol
<i>Histoplasma capsulatum</i>	Extrapulmonar; também pulmonar	Anfotericina B, itraconazol	Itraconazol
<i>Coccidioides immitis</i>	Extrapulmonar; também pulmonar	Anfotericina B	Itraconazol ou fluconazol orais

(continua)

QUADRO 48.7 Resumo das infecções que definem a Aids, seu tratamento e profilaxia (*continuação*)

Infecção que define a Aids	Tipos de infecção	Tratamento	Profilaxia ou manutenção
Protozoários			
<i>Toxoplasma gondii</i>	Encefalite, disseminada	Pirimetamina mais sulfadiazina e leucovorina; pirimetamina e clindamicina mais ácido fólico	Sulfametoxazol-trimetoprima ou pirimetamina-dapsona; atovaquona com ou sem pirimetamina mais leucovorina
<i>Cryptosporidium</i>	Diarreia durante ≤ 1 mês	Terapia antirretroviral (ART) eficaz pode resultar em resposta clínica; nitazoxanida, paromomicina	
<i>Espécies de Isospora</i>	Diarreia durante ≤ 1 mês	Sulfametoxazol-trimetoprima	Sulfametoxazol-trimetoprima

QUADRO 48.8 Complicações comuns em pacientes com infecção pelo HIV

Local	Complicação e etiologia	Comentário
Geral	Linfadenopatia generalizada progressiva	Ocorre em 50 a 70% dos indivíduos após infecção primária pelo HIV; deve ser diferenciada de numerosas doenças que podem causar linfadenopatia
Sistema nervoso	Encefalopatia pelo HIV; demência da Aids	Perda da memória de curto prazo; dificuldade de organização das atividades diárias; falta de atenção
	Toxoplasmose cerebral; <i>Toxoplasma gondii</i>	Comprometimento multifocal do cérebro é comum, produzindo amplo espectro de doença clínica: alteração do <i>status</i> mental, convulsões, fraqueza motora, anormalidades sensoriais, disfunção cerebelar, etc.
	Meningite criptocócica; <i>Cryptococcus neoformans</i>	Com frequência, apresenta início insidioso com febre, cefaleia e mal-estar
	Leucoencefalopatia multifocal progressiva; vírus JC	Início de déficits neurológicos focais no decorrer de semanas
	Citomegalovírus	Encefalite, polirradiculopatia, mononeurite múltipla
	Linfoma primário do sistema nervoso central	Início de déficits neurológicos focais no decorrer de semanas
Olhos	Citomegalovírus	Retinite
Pele	Sarcoma de Kaposi: herpes-vírus humano 8 (sarcoma de Kaposi associado ao herpes-vírus)	Nódulos cutâneos firmes e palpáveis de 0,5 a 2 cm de diâmetro; inicialmente podem ser menores e, mais tarde, confluentes, com grandes massas tumorais; são tipicamente violáceos; podem ser hiperpigmentados em pessoas de pele escura; podem afetar muitos sistemas orgânicos
	Foliculite estafilocócica: <i>Staphylococcus aureus</i>	Infecção dos folículos pilosos na região central do tronco, virilha ou rosto
	Herpes-zóster: vírus da varicela-zóster	Vesículas em uma base eritematosa em uma distribuição dermatômica
	Úlceras herpéticas: vírus herpes simples	Vesículas agrupadas sobre uma base eritematosa que evoluem rapidamente para úlceras; geralmente na face, mãos ou áreas genitais
	Angiomatose bacilar: <i>Bartonella henselae</i> , <i>Bartonella quintana</i>	Pápula vermelha que cresce, com eritema circulante; aspecto clínico similar ao do sarcoma de Kaposi mas histologicamente muito diferente
	Molusco contagioso	Pápulas discretas em forma de cúpula, cor da pele, peroladas, sendo frequentemente umbilicadas. Em geral aparecem ao longo da linha da barba. Pode ocorrer infecção grave e prolongada em pacientes com HIV

(continua)

QUADRO 48.8 Complicações comuns em pacientes com infecção pelo HIV (*continuação*)

Local	Complicação e etiologia	Comentário
Boca	Candidíase oral: <i>Candida albicans</i>	Placas vermelhas e lisas no palato mole ou no palato duro; podem formar pseudomembranas
	Leucoplaquia pilosa: provavelmente devida ao vírus Epstein-Barr	Espessamento da mucosa oral, frequentemente com dobras verticais ou corrugações
	Gengivite e periodontite	Gengiva avermelhada; úlceras necrosantes ao redor dos dentes
	Úlceras orais: vírus herpes simples, vírus varicela-zóster, citomegalovírus e muitos outros agentes infecciosos	Podem aparecer em forma de vesículas recorrentes que formam úlceras
	Sarcoma de Kaposi	Lesões purpúreo-avermelhadas mais frequentes no palato
Gastrointestinal	Esofagite: <i>Candida albicans</i> , citomegalovírus, herpes-vírus simples	Manifesta-se em forma de deglutição difícil e dolorosa
	Gastrite: citomegalovírus	Náuseas, vômitos, saciedade precoce, anorexia
	Enterocolite: <i>Salmonella</i> , <i>Cryptosporidium</i> , <i>Isospora</i> , microsporídeos, <i>Giardia</i> , <i>Entamoeba histolytica</i> e muitos outros agentes	Muito comum; diarreia, cólica e dores abdominais
	Proctocolite: <i>Neisseria gonorrhoeae</i> , <i>Chlamydia trachomatis</i> , <i>Treponema pallidum</i> , <i>Campylobacter</i> , herpes simples, citomegalovírus	Dor retal
Pulmões	Pneumonia intersticial ou consolidativa: muitos tumores e inúmeras espécies de bactérias, fungos, vírus e protozoários podem provocar doença pulmonar em pacientes infectados pelo HIV	O início pode ser lento ou rápido, com febre, tosse e dispnéia; o diagnóstico é frequentemente estabelecido por broncoscopia com lavado alveolar brônquico
Trato genital	Candidíase vaginal: <i>Candida albicans</i>	Corrimento anormal semelhante a leite coalhado com vermelhidão e prurido vulvar; comum em mulheres infectadas pelo HIV
	Verrugas genitais: papilomavírus humano	Podem ser graves em pacientes infectados pelo HIV
	Carcinoma cervical invasivo: papilomavírus humano	São comuns células atípicas no esfregaço de Pap, inclusive carcinoma, em mulheres infectadas pelo HIV
	DIP (doença inflamatória pélvica)	Mais comum e mais grave em mulheres infectadas pelo HIV do que em outras mulheres
	Herpes genital: herpes-vírus simples	Frequentemente recorrente e mais grave em indivíduos infectados pelo HIV do que em outras pessoas
	Sífilis: <i>Treponema pallidum</i>	A sífilis é uma doença muito mais progressiva em pacientes infectados pelo HIV do que em outras pessoas; pode estar associada ao desenvolvimento acelerado de neurosífilis

INFECÇÕES EM PACIENTES SUBMETIDOS A TRANSPLANTES**CASO 18: TRANSPLANTE DE FÍGADO**

Um homem de 61 anos de idade foi submetido a transplante de fígado ortotópico em decorrência de uma cirrose causada pelo vírus da hepatite C (HCV). Ele adquiriu o HCV em decorrência de transfusão de sangue durante cirurgia de derivação coronária 10 anos antes da manifestação da hepatopatia. A doença hepática foi diagnos-

ticada 2 anos antes da realização do transplante de fígado ortotópico, quando apresentou sangramento de varizes esofágicas. O sangramento foi finalmente controlado; entretanto, o paciente posteriormente desenvolveu ascite e encefalopatia hepática, controladas apenas em parte com tratamento clínico. Além disso, tinha diabetes dependente de insulina. Na época de sua avaliação inicial, 4 meses antes do transplante, as provas de função hepática revelaram níveis de aspartato-aminotransferase (AST) de 43 U/L (normal: 10 a 40 U/L), alanina-aminotransferase (ALT) de 42 U/L (normal: 36 a 122 U/L), bilirrubina de

2,9 mg/dL (normal: 0,1 a 1,2 mg/dL), albumina de 2,6 g/dL (normal: 3,4 a 5 g/dL) e prolongamento do tempo de protrombina de Relação Normalizada Internacional (RNI) de 1,8. O anti-HCV foi positivo no teste de Elisa. O HCV era de genótipo 1. O paciente não respondeu à terapia com interferon α mais ribavirina após 12 meses de tratamento. As dosagens de carga viral foram superiores a 500.000 UI/mL.

O transplante de fígado ortotópico foi realizado sem qualquer dificuldade. A reconstrução biliar foi feita por coledococostomia (anastomose primária do ducto colédoco do doador com o do receptor) com a colocação de um tubo em T para drenagem externa da bile durante a cicatrização da anastomose. No decorrer do exame do explante, foi descoberto incidentalmente um carcinoma hepatocelular. O paciente recebeu tacrolimo intravenoso (para reduzir a rejeição) em forma de infusão contínua durante 24 h, bem como corticosteroides para imunossupressão (que também ajudam a evitar a rejeição). O tacrolimo passou para via oral no segundo dia. Foi administrado ganciclovir intravenoso do 1º ao 7º dias para profilaxia contra infecção por citomegalovírus (hepatite e pneumonia). Após a interrupção do ganciclovir, foram administradas altas doses de aciclovir por via oral 4 vezes/dia durante 3 meses, como profilaxia contínua contra a infecção por citomegalovírus. Administrou-se, também, sulfametoxazol-trimetoprima VO 2 vezes/semana como profilaxia contra pneumonia por *Pneumocystis*.

A função do aloenxerto foi estabelecida imediatamente após o transplante. No 7º dia, os níveis de AST foram de 40 U/L; de fosfatase alcalina, 138 U/L (normal: 36 a 122 U/L); e de bilirrubina, 6,2 mg/dL. O diagnóstico diferencial da anormalidade da função hepática incluiu lesão durante a preservação do fígado entre a doação e o transplante, trombose da artéria hepática e, raramente, hepatite por herpes simples. A biópsia hepática no 7º dia revelou lesão durante a preservação.

O paciente teve alta no 12º dia com tacrolimo e prednisona VO, para ajudar a evitar rejeição. No 21º dia, uma biópsia hepática não revelou qualquer evidência de rejeição celular, e as provas de função hepática foram excelentes: AST, 18 U/L; fosfatase alcalina, 96 U/L; e bilirrubina, 2 mg/L. O nível sérico de creatinina foi de 2,2 mg/dL (normal: 0,5 a 1,4 mg/dL), e a dose de tacrolimo VO foi reduzida. No 28º dia, houve elevação nos resultados das provas de função hepática: AST, 296 U/L; fosfatase alcalina, 497 U/L, e bilirrubina, 7 mg/dL. O diagnóstico diferencial da anormalidade da função hepática consistiu em rejeição celular aguda e obstrução biliar. Havia também a possibilidade de hepatite por citomegalovírus; todavia, essa condição geralmente ocorre depois do 35º dia, e o paciente havia recebido profilaxia contra citomegalovírus. A biópsia hepática revelou rejeição celular aguda.

O paciente foi tratado com duas doses intravenosas de metilprednisolona, seguida de prednisona VO. O nível sanguíneo de tacrolimo estava dentro da faixa terapêutica. Uma biópsia hepática de acompanhamento, realizada depois de 2 semanas, revelou ligeira alteração gordurosa, porém sem nenhuma rejeição. O nível de AST foi de 15 U/L; de fosfatase alcalina, de 245 U/L; e de bilirrubina, de 1,6 mg/dL.

Um mês depois — ou seja, 2,5 meses após o transplante —, houve nova elevação dos níveis de AST para 155 U/L, porém a fosfatase alcalina permaneceu inalterada em 178 U/L. A biópsia mostrou alteração gordurosa moderada, necrose dos hepatócitos lobulares e discreta inflamação portal compatível com infecção por hepatite C pós-transplante ou resolução da rejeição. O ensaio da reação em cadeia da polimerase para o RNA do HCV não foi efetuado, visto que o resultado seria positivo e teria valor prognóstico limitado. A impressão clínica foi de hepatite C recorrente. O tacrolimo e a prednisona foram mantidos. Nos 6 meses seguintes, houve normalização das provas de função hepática.

No sexto mês após o transplante, o tubo em T foi removido do sistema de drenagem biliar, e o paciente imediatamente apresentou dor abdominal difusa e intensa. A cultura da bile revelou *E. coli* e *Enterococcus faecium resistente à vancomicina*. A impressão clínica foi de drenagem biliar no abdome. O paciente foi tratado com ceftriaxona e linezolida. Foi efetuada uma colangiopancreatografia retrógrada endoscópica (CPRE) com esfínterectomia para melhorar o fluxo biliar. O paciente teve alta 2 dias depois.

Oito meses após o transplante, o paciente apresentou edema subcutâneo generalizado (anasarca) e erupção nos membros inferiores. As provas de função hepática mostraram-se ligeiramente anormais. Tanto o hematócrito quanto a contagem de leucócitos foram normais. O nível sanguíneo de ureia foi de 54 mg/dL (normal: 10 a 24 mg/dL), enquanto a creatinina sérica foi de 2,8 mg/dL (normal: 0,6 a 1,2 mg/dL). O exame de urina revelou a presença de proteínas 4+ e mais de 50 eritrócitos por campo de grande aumento. A biópsia cutânea mostrou vasculite leucocitoclástica. Foi estabelecido o diagnóstico de crioglobulinemia.

Quatro anos após o transplante, as provas de função hepática do paciente permaneceram normais, à exceção de ligeira elevação intermitente dos níveis de AST e ALT. As biópsias hepáticas de acompanhamento revelaram alteração gordurosa moderada grave com inflamação portal leve tendo células mononucleares. O paciente continua apresentando diabetes dependente de insulina. A função renal encontra-se ligeiramente anormal com nível sérico de creatinina de cerca de 1,4 mg/dL. A qualidade de vida do paciente é satisfatória, sendo ele, na atualidade, mantido com tacrolimo e prednisona. Quando comparado com outros receptores de transplante de fígado, o paciente corre maior risco de desenvolver cirrose e sofrer perda do enxerto.

Comentário

Nos pacientes submetidos a transplante, as infecções mais significativas e potencialmente fatais ocorrem nos primeiros meses após o transplante. Os fatores já presentes antes da realização do transplante podem ser importantes. A doença subjacente pode contribuir para suscetibilidade à infecção. O paciente pode não apresentar imunidade específica — por exemplo, pode nunca ter sido exposto ao citomegalovírus —, porém o órgão transplantado pode ser de um doador positivo para o citomegalovírus, ou uma transfusão de sangue pode transmitir o vírus. O paciente pode ter alguma infecção lactente, passível de se tornar ativa durante o período de imunossupressão que ocorre após o transplante. São exemplos as infecções pelo herpes-vírus simples, vírus varicela-zóster, citomegalovírus e outras, inclusive a tuberculose. O paciente pode ter recebido imunossupressores antes de ser submetido ao transplante.

Um fator importante que determina a ocorrência de infecção é o tipo de transplante: fígado, coração, pulmão, rim, etc. A duração e a complexidade do procedimento cirúrgico também são importantes. As infecções tendem a afetar o órgão transplantado ou ocorrer em associação com o órgão. Em pacientes submetidos a transplante de fígado, a cirurgia é complexa, podendo levar muitas horas. O tipo de drenagem biliar estabelecido representa um importante determinante na infecção abdominal. A conexão direta do trato biliar do doador com o intestino delgado do receptor (coledocojunostomia) predispõe mais a infecção das vias biliares do que a conexão do trato biliar do doador com o trato biliar existente do receptor (coledococostomia). Os pacientes submetidos a transplante de fígado cuja cirurgia leva 5 a 10 h apresentam em média um episódio de infecção após o transplante, enquanto aqueles cuja cirurgia dura mais de 25 h apresentam, em média, três episódios. Os pacientes submetidos a transplante de fígado estão sujeitos ao desenvolvimento de hepatite e pneumonia por citomegalovírus. Os receptores de transplante de coração e pulmão são propensos a adquirir pneumonia por citomegalovírus. O ganciclovir, quando administrado no início do período pós-transplante, mostra-se eficaz para reduzir o impacto da doença por citomegalovírus após transplante. Outros fármacos, frequentemente, administrados como profilaxia para infecção pós-transplante são: aciclovir para herpes simples e varicela-zóster; sulfametoxazol-trimetoprima para pneumonia por *Pneumocystis*; anfotericina B ou outro antifúngico para infecções fúngicas, principalmente candidíase e aspergilose; isoniazida para tuberculose; e uma cefalosporina de terceira geração ou outros antibióticos para infecções bacterianas. Os antibióticos são frequentemente administrados antes, no decorrer, ou pouco depois da cirurgia para evitar infecções da ferida e outras infecções diretamente associadas ao procedimento.

A terapia imunossupressora em pacientes submetidos a transplante também predispõe a infecções. Os corticosteroides em altas doses, administrados para ajudar a evitar rejeição ou doença do enxerto *versus* hospedeiro, inibem a proliferação de células T, a imunidade dependente de células T e a expressão dos genes das citocinas, exercendo, portanto, efeitos importantes sobre a imunidade celular, a formação de anticorpos e a inflamação. Os pacientes que recebem altas doses de corticosteroides estão cada vez mais sujeitos a contrair infecções fúngicas e outras infecções. A ciclosporina, um peptídeo, e o tacrolimo, um macrolídeo, atuam sobre a função das células T, impedindo a rejeição. Além disso, são utilizados outros imunossupressores e soro antilinfocítico. Em conjunto, os imunossupressores podem proporcionar o ambiente em que ocorrem infecções em receptores de transplante.

O Caso 19 descreve um paciente com transplante de medula óssea e inclui comentários sobre as infecções que ocorrem nesse contexto.

REFERÊNCIAS

- Fishman JA, Issa NC: Infection in organ transplantation. *Infect Dis Clin North Am* 2010;24:273.
- Freifeld AG, Bow EJ, Sepkowitz KA et al.: Clinical practice guideline for the use of antimicrobial agents in neutropenic patients with cancer:2010 update by the infectious diseases society of America. *Clin Infect Dis* 2011; 52:e56-93

CASO 19: TRANSPLANTE DE MEDULA ÓSSEA

Um homem de 30 anos de idade com leucemia mielógena crônica foi submetido a transplante de medula óssea alogênico de um irmão doador HLA-tipado (*human leukocyte antigen*). Antes do transplante, o paciente recebeu irradiação corporal total e altas doses de ciclofosfamida para destruir permanentemente a leucemia, as células hematopoiéticas e as células linfóides.

A primeira complicação infecciosa surgiu 10 dias após o transplante, antes da pega do enxerto. O paciente apresentou mucosite, enterite e neutropenia grave, com contagem de leucócitos de 100 células/ μL (normal: 3.400 a 10.000 células/ μL). Estava recebendo profilaxia com ceftazidima, fluconazol, aciclovir e sulfametoxazol-trimetoprima. Entretanto, apresentou febre de 39°C e aspecto doente. A impressão clínica foi de provável sepse bacteriana relacionada com a neutropenia, sendo a boca ou o trato gastrointestinal as fontes mais prováveis. Outra possibilidade considerada foi de infecção da via central utilizada para terapia intravenosa. Também se suspeitou de infecção fúngica por *Candida* no sangue ou pneumonia por *Aspergillus*. Todavia, essas infecções geralmente ocorrem mais tarde após o transplante de medula óssea alogênico. Foi iniciada terapia com ciclosporina e pequenas doses de prednisona pouco depois do transplante de medula óssea, a fim de prevenir o desenvolvimento da doença do enxerto *versus* hospedeiro, que predispõe o indivíduo a outras infecções oportunistas; todavia, essas infecções também têm menor probabilidade de ocorrer nas primeiras semanas após o transplante.

Quando a condição do paciente se agravou no décimo dia após o transplante, foi considerada a possibilidade de infecção bacteriana. Foi efetuada uma hemocultura, tendo sido modificada a cobertura antibiótica para microrganismos gram-negativos, sendo a ceftazidima substituída pelo meropenem. Foi adicionada vancomicina enquanto se aguardavam os resultados da hemocultura e o fluconazol foi substituído pelo voriconazol. No 12º dia, a hemocultura tornou-se positiva para estreptococos *viridans*. Houve melhora do paciente. A antibioticoterapia foi mantida até ocorrer uma elevação da contagem de leucócitos superior a 1.000/ μL .

O paciente teve alta para cuidados domiciliares 30 dias após o transplante. Havia ocorrido incorporação do órgão transplantado, e o paciente já não apresentava neutropenia, porém estava recebendo terapia com ciclosporina e prednisona para doença do enxerto *versus* hospedeiro leve.

Sessenta dias após o transplante, o paciente apresentou febre, náuseas, dor epigástrica intensa e diarreia. A suspeita clínica foi de enterite por citomegalovírus ou de agravamento da doença do enxerto *versus* hospedeiro afetando o trato gastrointestinal. Entre o 30º e o 60º dias, a terapia com ciclosporina e prednisona foi gradualmente reduzida devido à estabilidade da doença. No 60º dia, o paciente foi internado e examinado por endoscopia gastrointestinal superior e inferior. Foram observadas lesões da mucosa compatíveis com infecção

por citomegalovírus e feitas biópsias. Ao exame histológico, foi constatada a presença de grandes corpúsculos de inclusão intranucleares, compatíveis com infecção por citomegalovírus. As culturas mostraram-se positivas para citomegalovírus. O paciente foi tratado com ganciclovir e recuperou-se.

O paciente mostrou-se bem até o 120^o dia, quando apresentou anormalidades nas provas de função hepática e diarreia. Foi estabelecido o diagnóstico de agravamento da doença do enxerto *versus* hospedeiro por meio de colonoscopia. As doses de ciclosporina e prednisona foram aumentadas.

Cinco meses após o transplante, o paciente apresentou febre e tosse, sendo detectados múltiplos infiltrados pulmonares. O diagnóstico mais provável foi de pneumonia fúngica, provavelmente causada por espécies de *Aspergillus*, embora houvesse também a possibilidade de pneumonia por *P. jirovecii* e pneumonia viral. O paciente foi submetido a broncoscopia com lavado e biópsia transbrônquica. As culturas do tecido de biópsia resultaram no crescimento de *Aspergillus fumigatus*. O paciente foi tratado com voriconazol. Esse tratamento foi mantido por 2 semanas no hospital e, em seguida, diariamente em base ambulatorial por um período adicional de mais 3 semanas. As doses de ciclosporina e de prednisona também foram reduzidas.

O paciente recuperou-se das infecções oportunistas 300 dias após o transplante. Houve melhora da doença do enxerto *versus* hospedeiro, e as doses de ciclosporina e de prednisona foram gradualmente reduzidas, sendo, por fim, suspensas. A leucemia mielógena crônica permanece em remissão. O paciente retornou ao trabalho 330 dias após o transplante de medula óssea.

Comentário

Os pacientes submetidos a transplante de medula óssea recebem quimioterapia e radioterapia ablativas para destruir o

sistema hematopoiético e o sistema imunológico. Em consequência, ocorrem neutropenia grave e imunidade celular anormal até o enxerto da medula transplantada. Devido à neutropenia, os pacientes submetidos a transplante de medula óssea correm risco particularmente alto de contrair infecções, em comparação com os pacientes que recebem transplantes de órgãos sólidos e não apresentam neutropenia. Os pacientes submetidos a transplante de medula óssea alogênica também correm risco de desenvolver doença do enxerto *versus* hospedeiro, o que não se verifica em indivíduos com transplante de medula óssea autóloga (*i. e.*, que recebem a sua própria medula óssea ou células primordiais coletadas previamente). A terapia imunossupressora utilizada para controlar a doença do enxerto *versus* hospedeiro também contribui para alto risco de infecção nesses pacientes.

As infecções e o momento de sua provável ocorrência estão relacionados na Figura 48.1. Durante o primeiro mês após o transplante, ocorre incorporação do enxerto, e verificam-se neutropenia grave e lesão das superfícies mucosas em decorrência da quimioterapia e da radioterapia administradas antes do transplante. Os pacientes correm maior risco de adquirir infecções causadas por bactérias gram-negativas e gram-positivas, que frequentemente fazem parte da microbiota normal da pele, do trato gastrointestinal e das vias respiratórias. Nessa época, pode ocorrer também infecção recorrente pelo herpes-vírus simples.

Nos segundo e terceiro meses após ter ocorrido incorporação do enxerto, os pacientes apresentam comprometimento persistente da imunidade humoral e da celular, o qual é mais grave e persistente nos pacientes com doença do enxerto *versus* hospedeiro aguda. As principais infecções são pneumonia intersticial (cerca de 50% dos casos provocados por citomegalovírus), pneumonia por *Aspergillus*, bacteriemia, candidemia e infecções virais das vias respiratórias.

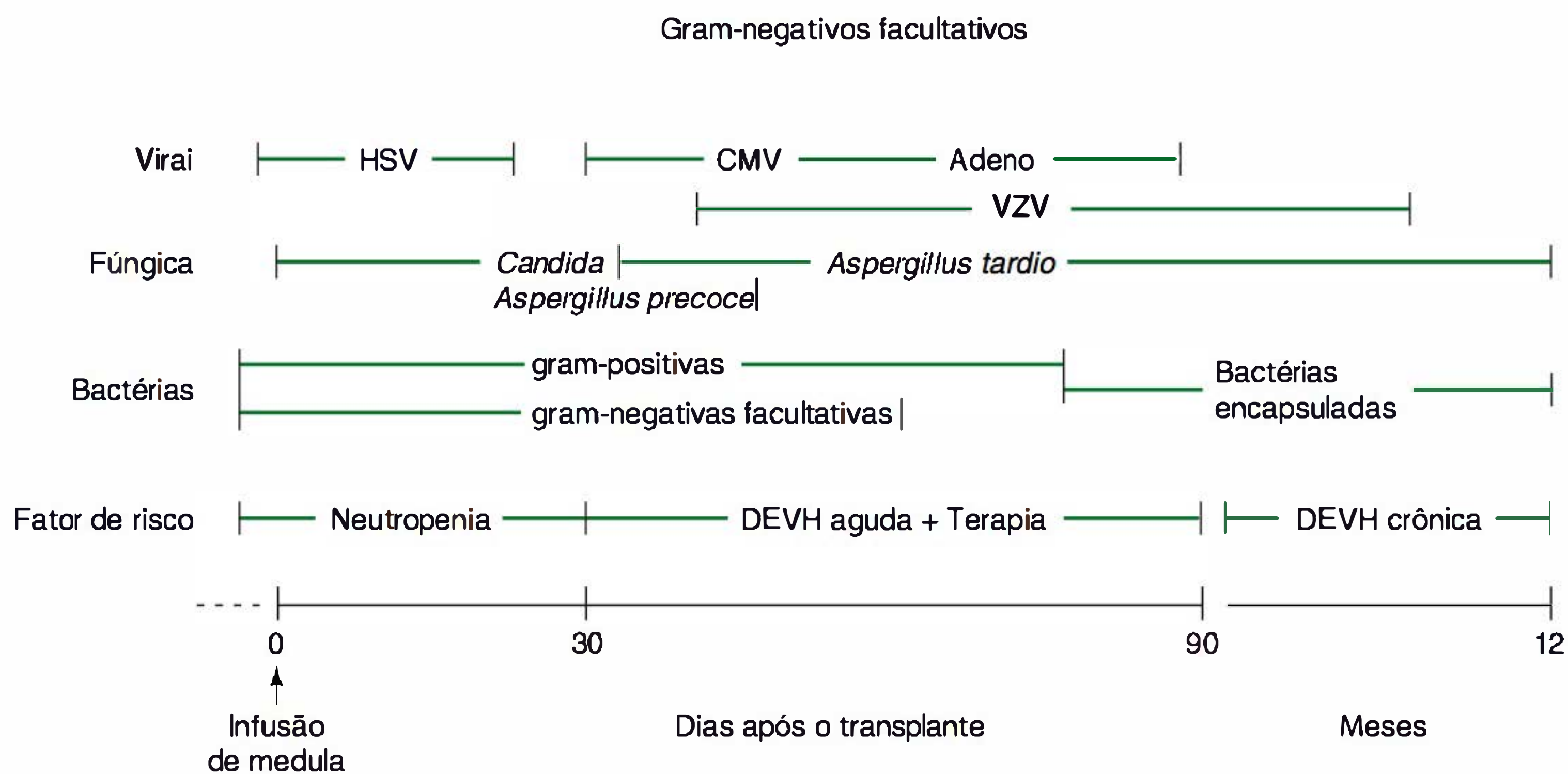


FIGURA 48.1 Fatores de risco predisponentes e alta incidência de infecções por tempo, após transplante de medula óssea no ser humano. (HSV, vírus herpes simples; CMV, citomegalovírus; Adeno, adenovírus; VZV, vírus varicela-zóster; DE VH, doença do enxerto *versus* hospedeiro). (Modificada, com autorização, de Abeloff MD, Armitage JO, Niederhuber JE et al.; *Clinical Oncology*, 4th ed. Copyright Elsevier, 2008.)

Três meses após o transplante, observa-se recuperação gradual da imunidade tanto humoral quanto celular. Essa reconstituição leva 1 a 2 anos, mas pode ser significativamente afetada pela presença da doença do enxerto *versus* hospedeiro crônica. Os pacientes correm risco de infecções pelo vírus varicela-zóster e infecções das vias respiratórias, geralmente causadas por bactérias encapsuladas, como *S. pneumoniae* (Cap. 14) e *H. influenzae* (Cap. 18).

Utiliza-se rotineiramente a terapia antimicrobiana profilática em pacientes submetidos a transplante de medula óssea. Administra-se o combinado sulfametoxazol-trimetoprim durante 6 meses ou no decorrer do período de imunossupressão para evitar a ocorrência de pneumonia por *Pneumocystis*; e aciclovir desde o momento do transplante até o enxerto, para evitar infecção pelo herpes simples vírus. O ganciclovir por via intravenosa é frequentemente administrado logo após o transplante, seguido de aciclovir ou de ganciclovir por via oral para ajudar a evitar doença grave por citomegalovírus. O uso dessa profilaxia varia conforme a presença de evidências de infecção anterior por citomegalovírus no doador, no receptor ou em ambos. As fluoroquinolonas ou as cefalosporinas de terceira geração podem ser administradas durante o período de enxerto para ajudar a evitar a ocorrência de infecções bacterianas. Podem ser utilizados antifúngicos (fluconazol, posaconazol ou voriconazol) como profilaxia contra a doença fúngica. O uso de vancomicina para evitar infecções por bactérias Gram-positivas é controverso, em parte devido à seleção potencial de infecção por enterococos resistentes a este fármaco. Após a normalização da função do sistema imunológico, deve-se considerar a reimunização do paciente com toxoides tetânico e diftérico, vacinas pneumocócicas ou de polissacarídeos de *H. influenzae* e vacinas com vírus mortos (p. ex., poliomielite, *influenza*).

REFERÊNCIAS

- Wingard JR, Hsu J, Hiemenz JW: Hematopoietic stem cell transplantation: An overview of infection risks and epidemiology. *Infect Dis Clin North Am* 2010;24:257.
- Young JH, Weisdorf D: Infections in recipients of hematopoietic stem cell transplantation. In Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (editors). *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*, 7th ed. Churchill Livingstone Elsevier, 2010, p. 3821.

GUERRA BIOLÓGICA E BIOTERRORISMO

O espectro impiedoso da guerra biológica e do bioterrorismo é, lamentavelmente, real. Ninguém, no mundo inteiro, está livre de suas consequências potenciais. Os eventos de bioterrorismo com o antraz nos EUA, ocorridos no outono de 2001, são descritos a seguir. Um caso de praga e surtos de varíola e botulismo, que ocorrem naturalmente, também são descritos. Esses casos e a discussão sobre eles têm o propósito de ajudar o leitor a conscientizar-se da importância e das possíveis consequências da guerra biológica e do bioterrorismo.

CASO 20: BIOTERRORISMO POR ANTRAZ NOS EUA, EM 2001

O caso do sul da Flórida

No dia 2 de outubro de 2001, um homem de 63 anos foi admitido no setor de emergência de um centro clínico do sul da Flórida, por apresentar febre, vômitos e confusão. Quatro dias antes, desenvolvera febre, mialgia e mal-estar sem sintomas focais específicos. O paciente tinha uma história de doença cardíaca branda, mas no momento estava em boas condições de saúde.

Ao exame físico, mostrava-se letárgico e desorientado. A temperatura era de 39°C; a pressão arterial, de 150/80 mmHg; o pulso, de 110/min e 18 respirações/min. A única outra anormalidade potencial ao exame físico foi a presença de um ronco à ausculta dos pulmões. Não se escutaram murmúrios. A nuca não apresentava rigidez, e os sinais de Kernig e Brudzinski não foram positivos. Foram obtidas múltiplas culturas de sangue. O tratamento endovenoso com cefotaxima e vancomicina foi iniciado antes de se fazer punção lombar.

O hematócrito era de 46%, e a contagem de leucócitos, de 9.400/ μ L com 77% de PMN, 15% de linfócitos e 8% de monócitos. Os exames bioquímicos estavam normais. A radiografia de tórax (ver *N Engl J Med* 2001;354:1607) mostrou infiltrados basilares e mediastino aumentado. A punção lombar forneceu líquido cefalorraquiano (LCS) turvo, com glicose de 57 mg/dL, proteína de 666 mg/dL e contagem de leucócitos de 4.750/ μ L, com 81% de PMN e 19% de monócitos. Hemácias também estavam presentes no LCS. A coloração de Gram revelou inúmeros leucócitos PMN e inúmeros bastonetes gram-positivos frequentemente em cadeias. O diagnóstico de antraz foi considerado, e adicionaram-se altas doses de penicilina G intravenosa ao tratamento.

O laboratório identificou *Bacillus anthracis* (Cap. 11) 18 h após o LCS ter sido cultivado. A mesma bactéria também foi identificada nas hemoculturas.

No segundo dia no hospital, o paciente teve um acesso generalizado. O paciente foi entubado, e iniciou-se ventilação assistida, desenvolvendo-se falência renal e queda da pressão sanguínea. O paciente faleceu no terceiro dia de internação.

A necropsia revelou edema tecidual generalizado com excesso de fluido na cavidade peritoneal. Foi identificado colapso parcial dos pulmões sem consolidação do tecido pulmonar. Existiam áreas com hemorragia subpleural e perivascular. Havia sangue bruto no mediastino e linfonodos hemorrágicos estavam presentes. Coração, fígado e baço mostravam-se normais. O cérebro não foi examinado.

O paciente trabalhava como fotoeditor de uma grande empresa jornalística no Condado de Palm Beach, Flórida. No dia 19 de setembro de 2001, havia examinado uma carta que seus colegas descreveram como suspeita, a qual continha um pó, e que nunca foi enviada. O *B. anthracis* (Cap. 11) foi isolado de 20 de 136 amostras do ambiente obtidas nos dias 8 a 10 de outubro de 2001. As culturas positivas incluíam duas das 21 oriundas da área em que o paciente trabalhava. As outras culturas positivas foram obtidas da companhia de correios, do furgão de transporte e do escritório de um portador assintomático, que teve culturas de secreção nasal positivas para *B.*

anthracis. Entre 25 de outubro e 8 de novembro de 2001, outras culturas positivas foram obtidas de outras partes da área de trabalho. Recomendou-se antibioticoterapia para cerca de 1.000 pessoas.

Um segundo paciente que trabalhava em uma empresa de publicidade e que tinha uma exposição intensa com o serviço de correios, manifestou doença no dia 28 de setembro de 2001, tendo sido relatado como um possível caso de inalação de antraz em 4 de outubro. Foi admitido no hospital em 1º de outubro e iniciou antibioticoterapia. Um *swab* nasal foi coletado no dia 5 de outubro, dando resultado positivo para *B. anthracis*, mas as hemoculturas, lavados brônquicos e fluido pleural obtidos após o início da antibioticoterapia deram resultados negativos. Duas amostras de líquido pleural apresentaram resultados positivos para *B. anthracis* por PCR. Dessa forma, o referido paciente foi o segundo caso de inalação de antraz. Sobreviveu e teve alta hospitalar no dia 17 de outubro de 2001.

Região de Washington DC, Nova York, New Jersey e Connecticut

Em 18 de setembro de 2001, uma carta contendo uma grande quantidade de esporos de *B. anthracis* foi enviada pelo serviço de correios de Trenton, New Jersey, endereçada para “Editor, New York Post”. Carta idêntica foi enviada ao mesmo tempo para o jornalista principal (âncora) da rede NBC de televisão. Em 9 de outubro de 2001, duas cartas ligeiramente diferentes foram remetidas de Trenton para o Distrito de Colúmbia, para o gabinete de dois senadores dos EUA. Cada uma dessas cartas continha grande quantidade de esporos de *B. anthracis* altamente purificados. Essas cartas contaminaram o prédio do serviço de correios e equipamentos, caixas postais e escritórios dos quais foram enviadas, bem como provavelmente outras instalações dos correios.

Ocorreu um total de 22 casos de antraz, incluindo os casos da Flórida, como resultado de cartas contaminadas. Houve 11 casos de inalação de antraz confirmados por laboratórios, incluindo 5 mortes. Verificaram-se 11 casos de antraz cutâneo, dos quais 9 foram confirmados por laboratórios e 2 foram suspeitos. Esses casos ocorreram na Flórida (descritos anteriormente), New Jersey, Distrito de Colúmbia, Nova York e Connecticut. A maioria dos casos ocorreu em pessoas que trabalhavam com instalações dos correios em New Jersey e no Distrito de Colúmbia, onde foram usados equipamentos de processamento em alta velocidade, e nas pessoas que tiveram contato com caixas postais onde as cartas foram abertas e manuseadas. Em diversos casos, inclusive os de inalação fatal de antraz em Nova York e Connecticut, os detalhes da exposição não foram obtidos.

Centenas de pessoas na Flórida, Distrito de Colúmbia, New Jersey e Nova York com potencial de exposição ao *B. anthracis* receberam profilaxia antimicrobiana. Uma vacina experimental contra o antraz foi oferecida às pessoas que estiveram expostas. Os locais contaminados foram fechados e descontaminados. Houve um alerta nacional e provavelmente mundial sobre o perigo do antraz, com maior investimento das fontes governamentais e de instituições locais. Todas estas providências acarretaram grandes custos. O estado de alerta para as investigações e a necessidade de investimento provavelmente irão continuar por algum tempo.

REFERÊNCIAS

- Bioterrorism-related anthrax. *Emerg Infect Dis* 2002;8(No. 10). Entire issue (31 articles).
- Bush LM Abrams BH, Beall A, Johnson CC: Index case of fatal inhalation anthrax due to bioterrorism in the United States. *N Engl J Med* 2001;345:1607.
- Kyriacou DN, Adamski A, Khardori N: Anthrax: From antiquity and obscurity to a front-runner in bioterrorism. *Infect Dis Clin North Am* 2006;20:227.

CASO 21: SURTO DE VARÍOLA

O último caso de varíola na Iugoslávia ocorreu em 1927. A Iugoslávia continuou a vacinação da população para proteção contra casos importados. Em 1972, um peregrino que retornava de Meca adoeceu, com doença febril não diagnosticada. Recebeu visita de amigos e parentes de diferentes regiões. Duas semanas mais tarde, 11 pessoas que o haviam visitado adoeceram, apresentando febre elevada e exantema. Os pacientes não tinham conhecimento da doença dos outros, e os médicos que os trataram não conseguiram estabelecer o diagnóstico correto, visto que poucos deles haviam-se deparado anteriormente com um caso de varíola.

Um dos 11 pacientes era um professor de 30 anos de idade, que logo apresentou estado criticamente enfermo com varíola hemorrágica, uma forma não facilmente diagnosticada por especialistas. O paciente recebeu inicialmente penicilina em uma clínica local. Ficou cada vez mais doente e foi encaminhado ao departamento de dermatologia de um hospital da cidade e, em seguida, a um departamento semelhante na capital, bem como, por fim, a uma unidade de tratamento intensivo de emergência devido à ocorrência de sangramento profuso e choque. Faleceu antes que se pudesse estabelecer um diagnóstico definitivo. Foi enterrado 2 dias antes do reconhecimento do primeiro caso de varíola.

Os primeiros casos foram corretamente diagnosticados 4 semanas após o primeiro paciente adoecer; todavia, nessa ocasião 150 pessoas já haviam sido infectadas; entre elas, 38 (inclusive dois médicos, duas enfermeiras e quatro outros membros da equipe do hospital) foram infectadas pelo jovem professor. Os casos ocorreram em regiões amplamente distintas do país. Por ocasião do diagnóstico, os 150 casos secundários já tinham sido fonte de exposição de outra geração de casos. Surgiram indagações quanto ao número de outros casos existentes não detectados.

As autoridades sanitárias iniciaram uma campanha nacional de vacinação. Foram utilizadas clínicas para vacinação em massa, tendo sido estabelecidos pontos de controle nas estradas para examinar os certificados de vacinação. Vinte milhões de pessoas foram vacinadas. Hotéis e apartamentos residenciais foram tomados pelos militares, que colocaram cordões de isolamento, e todos os contatos conhecidos de casos

foram mantidos nesses centros, sob guarda militar. Cerca de 10.000 pessoas permaneceram 2 semanas ou mais em isolamento. Ao mesmo tempo, os países vizinhos fecharam suas fronteiras. Nove semanas após o primeiro paciente adoecer, o surto estava sob controle. Ao todo, 175 pacientes contraíram varíola e 35 morreram.

REFERÊNCIA

Henderson DA: Bioterrorism as a public health threat. *Emerg Infect Dis* 1998;4:488. (<http://www.cdc.gov/ncidod/EID/vol4no3/hendrsn.htm>)

CASO 22: PESTE

No dia 2 de agosto de 1996, um jovem de 18 anos de idade de Flagstaff, Arizona (EUA), foi levado a uma clínica ambulatorial devido a uma história de febre, dor na virilha esquerda e diarreia de 2 dias de duração. O exame revelou estado afebril, frequência do pulso de 126/min, respiração de 20/min e pressão arterial de 130/80 mmHg. Foi constatada a presença de edema e hipersensibilidade da virilha esquerda, sendo estabelecido o diagnóstico de laceração do músculo da virilha, atribuída a uma queda ocorrida 2 dias antes. O paciente foi tratado com anti-inflamatórios não esteroides, orientado a ingerir dieta líquida, e liberado. No dia seguinte, 3 de agosto, sentia-se fraco, com dificuldade respiratória, e sofreu colapso enquanto tomava banho de chuveiro. Foi chamada uma ambulância de emergência, e o paciente sofreu parada cardíaca enquanto os profissionais da emergência estavam no local. Foi transportado para o setor de emergência e declarado morto pouco depois de dar entrada ao hospital.

No dia 8 de agosto, as hemoculturas obtidas no setor de emergência mostraram-se positivas para *Yersinia pestis* por coloração com anticorpo fluorescente, e o microrganismo foi confirmado por lise com bacteriófagos específicos (fagotipagem) no laboratório do Arizona State Health Department. Foi confirmado pelos CDC que os microrganismos isolados de culturas de amostras do cérebro, fígado, pulmão e líquido vítreo após a morte eram *Y. pestis*. Uma investigação epidemiológica efetuada pelas autoridades de saúde pública indicou que o paciente fora mais provavelmente infectado no dia 27 de julho, em consequência de picadas de pulgas infectadas por *Y. pestis* enquanto caminhava em uma área em que se encontrava uma colônia de certa espécie de marmota (*Cynomys gunnisoni*) em Navajo County. Foram encontrados títulos elevados de anticorpos contra *Y. pestis* em dois de quatro filhotes que viviam em casas perto da colônia. Os donos foram alertados sobre o risco de peste e instruídos a prender os filhotes e aplicar-lhes

inseticida periodicamente. As tocas dessa espécie de marmota em uma área de cerca de 1 km de residências foram tratadas com inseticida para controlar as populações de pulgas.

REFERÊNCIAS

Fatal human plague—Arizona and Colorado, 1996. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 1997;46:617.
Stenseth NC, Atshabar BB, Begon M et al.: Plague: Past, present, and future. *PLoS Med* 2008;15:5:e3.

CASO 23: SURTO DE BOTULISMO

Em agosto e outubro de 1993, as autoridades de saúde pública da Itália receberam uma notificação de sete casos de botulismo do tipo B de dois surtos aparentemente não relacionados em diferentes comunidades. Os parágrafos que se seguem trazem um resumo das investigações efetuadas pelo Regional Health Observatory de Campania e pelo Italian National Institute of Health. A doença foi associada à ingestão de berinjelas assadas em óleo vendidas comercialmente.

Surto 1

No dia 14 de agosto, duas garçonetes que trabalhavam em uma lanchonete em Santa Maria di Castellabate foram internadas em um hospital local com disfagia, diplopia e prisão de ventre. Foi estabelecido um diagnóstico clínico de botulismo. No dia 12 de agosto, as garçonetes haviam preparado e comido sanduíches de presunto, queijo e berinjela. Uma terceira garçonete também comeu os sanduíches e apresentou dispepsia, para a qual foram induzidos vômitos; todavia, não apresentou sintomas neurológicos. O dono da lanchonete, que havia provado um pequeno pedaço de berinjela do mesmo frasco no dia 12 de agosto, permaneceu assintomático. O cozinheiro, o primeiro a abrir o vidro de berinjelas assadas e fatiadas em óleo comercialmente preparadas, provara seu conteúdo no dia 11 de agosto, e apresentou diarreia. Tanto o cozinheiro quanto o dono da lanchonete relataram que a berinjela tinha gosto de estragada.

Foi estabelecido o diagnóstico presuntivo de botulismo nas duas pacientes hospitalizadas; ambas foram tratadas com antitoxina botulínica trivalente e melhoraram gradualmente. Não houve amostra de alimento disponível para a realização de testes nem foi detectada toxina botulínica no soro das duas pacientes internadas. Todavia, as culturas de amostras de fezes foram subsequentemente positivas para *Clostridium botulinum* tipo B (Caps. 11 e 21).

Surto 2

Nos dias 5 e 6 de outubro, quatro dos nove membros de uma grande família, que haviam jantado juntos no dia 2 de outubro, foram internados em Nápoles com suspeita de botulismo. A

refeição consistia em azeitonas verdes, *prosciutto*, salada de feijão, salada verde, mussarela, linguiça e berinjela assada em óleo vendida comercialmente. Com base em uma investigação e análise das histórias alimentares, a berinjela foi implicada como provável fonte (risco relativo indefinido; $P < 0,01$). Todos os pacientes foram tratados com antitoxina botulínica trivalente e melhoraram gradualmente. A investigação revelou que, no dia 27 de setembro, outro membro da família havia aberto o vidro suspeito de berinjela e mergulhado um garfo; embora não tivesse ingerido qualquer berinjela, utilizou o mesmo garfo para outro alimento. No dia 28 de setembro, apresentou vômitos, disfagia e diplopia, porém não foi internado; os sintomas desapareceram espontaneamente. No dia 8 de outubro, ele continuava assintomático, porém foi internado e tratado com antitoxina botulínica trivalente após o estabelecimento do diagnóstico de botulismo nos outros membros da família.

Um dos pacientes internados apresentou fraqueza dos músculos respiratórios, exigindo ventilação mecânica. Uma amostra de soro de um paciente foi negativa para toxina botulínica. As culturas de amostras das fezes de três pacientes foram positivas para *C. botulinum* tipo B proteolítico. Não foi obtida amostra da berinjela para a realização de teste.

Investigação de acompanhamento

A berinjela vendida comercialmente, suspeita de ser responsável pelos surtos, era produzida por uma empresa e vendida apenas na Itália. Segundo a referida empresa, a berinjela era preparada da seguinte maneira: cortada em fatias, lavadas e maceradas durante a noite em solução de água, vinagre e sal, assada em forno e, posteriormente, acondicionada em frascos de vidro. Eram acrescentados alho, pimenta, orégano e ácido cítrico. Em seguida, a mistura era recoberta com óleo de girasol e selada com tampas de rosca; uma vez cheios, os frascos de vidro eram mergulhados em água fervente durante 30 min. O pH do produto não era regularmente monitorado. Foram testados 119 frascos de berinjela do mesmo lote que provocara os surtos, não tendo sido detectados esporos de *C. botulinum* nem toxina botulínica. O pH do produto variou de 3,9 a 5,1; o pH foi superior a 4,6 em 24 (20%) dos frascos testados.

REFERÊNCIAS

- Type B botulism associated with roasted eggplant in oil—Italy, 1993. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 1995;44:33.
- Villar RG, Elliott SP, Davenport KM: Botulism: The many faces of botulinum toxin and its potential for bioterrorism. *Infect Dis Clin North Am* 2006;313.

Uma breve história da guerra biológica

No século XVIII, durante a guerra da França e da Índia (1754-1767), houve disseminação da varíola. No dia 24 de junho de 1763, um oficial britânico entregou, a índios nativos do vale do rio Ohio, cobertores que continham fômites de um hospital que tratava de pacientes com varíola; seguiu-se uma epidemia de varíola entre os índios. É possível que a varíola em norte-americanos de origem europeia também tenha contribuído.

Durante a Primeira Guerra Mundial, acredita-se que a Alemanha tenha utilizado *B. anthracis* e *Burkholderia mallei*

(Cap. 16) para contaminar rações de animais e animais de comerciantes neutros dos Aliados.

Entre 1932 e 1945, o Japão teve um programa de desenvolvimento de armas biológicas em Harbin, na China. O programa incluiu 150 construções, 5 acampamentos-satélites e uma equipe de 3.000 cientistas. Pelo menos 11 cidades chinesas foram atacadas. Os microrganismos incluíram *B. anthracis*, *N. meningitidis* (Cap. 20), espécies de *Shigella* (Cap. 15), *Vibrio cholerae* (Cap. 17) e *Y. pestis* (Cap. 19). Alimentos e água foram contaminados. Culturas foram atiradas nas casas. Aerossóis foram lançados de aviões, que também arremessaram pulgas infectadas por peste em número de 15 milhões por ataque. Dez mil prisioneiros morreram de infecções experimentais. As tropas japonesas tiveram 10.000 vítimas e 1.700 mortes. Estima-se que 270.000 pessoas dos vilarejos morreram.

Entre 1942 e 1969, os EUA desenvolveram um programa de armas biológicas em Fort Detrick, Maryland, com locais para testes no Mississippi e em Utah. Os locais de produção foram em Terre Haute, Indiana, e Pine Bluff, Arkansas. Os agentes de guerra biológica armazenados foram o *B. anthracis*, toxina botulínica, *Francisella tularensis* (Cap. 18), *Brucella suis* (Cap. 18), *Coxiella burnetii* (Cap. 26), enterotoxina estafilocócica B e vírus da encefalite equina venezuelana (Cap. 38). A carga de armas biológicas foi destruída entre 1971 e 1973.

Na década de 1940, os Aliados trabalharam para desenvolver uma arma biológica com *B. anthracis*. Em experimentos com bombas, uma pequena ilha — a Ilha Gruinard no Mar do Norte ao largo da Escócia — foi contaminada, tornando-se perigosa. Esporos de *B. anthracis* viáveis permaneceram na ilha, que em 1986, com muito esforço, foi descontaminada com formol e água do mar (Cap. 15).

Em 1984, a seita Rajneeshee utilizou *Salmonella typhimurium* para contaminar saladas em 10 restaurantes no The Dalles, Oregon. Houve 751 casos de enterite e 45 internações.

Na década de 1990, a seita Aum Shinrikyo promoveu, segundo se alega, três ataques biológicos no Japão, utilizando o *B. anthracis* e toxina botulínica, todos sem êxito. Em 1992, enviaram membros ao antigo Zaire a fim de obter o vírus Ebola para o desenvolvimento de armas biológicas. Em março de 1995, lançaram gás sarin no sistema de metrô de Tóquio, matando 12 pessoas.

Em 1996, ocorreu um surto de disenteria por *Shigella dysenteriae* (Cap. 15) tipo 2 em 12 de 45 funcionários de um laboratório hospitalar. A cepa da *Shigella* era idêntica à presente em cultura conservada no freezer do laboratório de microbiologia do hospital. *Donuts* e bolinhos foram contaminados e colocados por um desconhecido na sala de descanso da equipe. Alguém também divulgou a presença dos *donuts* e bolinhos por *e-mail*, usando o computador de um supervisor que estava ausente na ocasião.

A partir do final da década de 1990, houve centenas, possivelmente milhares, de ameaças de transmissão do *B. anthracis* por meio de sistemas de ventilação em prédios ou por serviços dos correios. Todos esses eventos foram investigados pelas agências governamentais, a um grande custo; comprovou-se que se tratava de alarmes falsos (trotes), até os casos ocorridos no outono de 2001.

REFERÊNCIA

- Christopher GW, Cieslak TJ, Pavlin JA, Eitzen EM Jr: Biologic warfare: A historical perspective. *JAMA* 1997;278:412.

O surto de antraz de 1979 em Sverdlovsk

Sverdlovsk (Yekaterinburg) é uma cidade de 1,2 milhões de habitantes situada 1.400 km a leste de Moscou (Rússia). Localiza-se no sopé oriental dos Montes Urais, entre a Europa e a Ásia. Cenário em que o último czar da Rússia e sua família foram mortos a tiros, é hoje o local de grandes fábricas de armas, em sua maioria fechadas. Em 1979, Boris Yeltsin era o oficial superior do Partido Comunista na região.

Em abril de 1979, ocorreu um surto de antraz por inalação em Sverdlovsk. O primeiro caso surgiu em 4 de abril. Durante as 6 semanas subsequentes, houve um total de 77 casos documentados com 66 mortes — posteriormente corrigidos para 79 casos e 68 mortes. A doença acometeu 55 homens com idade média de 42 anos; não houve nenhum homem com menos de 24 anos de idade infectado. Ocorreram 22 casos em mulheres com idade média de 55 anos, e apenas duas mulheres, com 24 e 32 anos de idade, tinham menos de 40 anos. Nenhuma criança foi infectada, o que não é compreensível, uma vez que também foram expostas.

Por ordem de frequência, os sinais e sintomas consistiram em febre, dispneia, tosse, cefaleia, vômitos, calafrios, fraqueza, dor abdominal e dor torácica.

Inicialmente, os pacientes foram internados em hospitais ou clínicas locais. A partir do dia 12 de abril de 1979, os pacientes com febre alta ou outras indicações de possível antraz foram levados ao hospital da cidade Número 40.

Na região da cidade em que a maioria dos pacientes residia, a parte externa das construções e as árvores foram lavadas pelo corpo de bombeiros; os cães de rua, foram sacrificados; algumas ruas não pavimentadas receberam asfalto. Cartazes e jornais advertiram contra o consumo de carne não inspecionada. (Em princípio, foi declarado que o surto era de antraz gastrointestinal em decorrência da ingestão de carne infectada.)

Em meados de abril, foi implementado um programa de imunização voluntária para pessoas saudáveis de 18 a 55 anos de idade. Foi utilizada uma vacina com esporos não encapsulados. Houve 59.000 pessoas elegíveis, e 80% foram imunizados pelo menos uma vez.

A maioria dos 77 pacientes vivia e trabalhava na parte sul da cidade. Alguns trabalhavam como reservistas militares ou apresentaram outros motivos para estar na região. Outras pessoas tinham ocupações que as haviam levado para aquela região da cidade. Sessenta dos 66 casos mapeados encontravam-se em uma estreita zona de aproximadamente 4 km de extensão ao sul do departamento de microbiologia militar no limite sul da cidade.

Em uma área de até 50 km ao sul de Sverdlovsk, houve mortes ou sacrifícios de carneiros e vacas. Os animais encontravam-se em 6 aldeias, todas ao sul do departamento de microbiologia militar. O antraz animal já era enzoótico na região de Sverdlovsk antes da Revolução Russa, porém os casos registrados de animais em 1979 restringiram-se à região situada a favor do vento ao sul do referido departamento.

Os registros meteorológicos do aeroporto, situado 10 km a leste da cidade, mostraram que apenas no dia 2 de abril de 1979 os ventos estavam soprando do norte. Tudo isso sugere que os casos de antraz em animais e seres humanos resultaram da liberação de *B. anthracis* pelo departamento de microbiologia militar em 2 de abril de 1979.

Uma importante conclusão, feita a partir dessas observações, é que o período de incubação do antraz por inalação é de 2 a 43 dias, com moda de 9 a 10 dias.

Foram efetuadas necropsias em 42 dos indivíduos que vieram a falecer, constatando-se a presença de necrose hemorrágica dos linfonodos torácicos e mediastinite hemorrágica.

Em 1992, Boris Yeltsin, então presidente da Rússia, declarou que os filtros de ar, no departamento de microbiologia militar, não haviam sido ativados na manhã do dia 3 de abril de 1979, resultando em liberação não intencional de esporos de *B. anthracis* no ambiente. Até hoje, não se sabe se a contaminação ocorreu no dia 2 de abril, conforme indicaram os registros de direção dos ventos, ou no dia 3 de abril, como declarou o Presidente Yeltsin.

Subsequentemente, foi efetuada uma análise com PCR em amostras de tecido de necropsia. Foram utilizados *primers* para detectar a região variável do gene *vrrA* do cromossomo do *B. anthracis*. Tal gene desempenha uma função desconhecida, e apresenta cinco categorias de número variável de repetições em série (VNTR). Apenas uma categoria de VNTR é encontrada em cada cepa de *B. anthracis*. Os resultados da análise com PCR mostraram que pelo menos quatro das cinco categorias de cepas conhecidas estavam presentes nas amostras de tecido.

REFERÊNCIAS

- Abramova FA, Grinberg LM, Yampolskaya OV, Walker DH: Pathology of inhalation anthrax in 42 cases from the Sverdlovsk outbreak of 1979. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1993;90:2291.
- Jackson PJ, Hugh-Jones ME, Adair DM et al.: PCR analysis of tissue samples from the 1979 Sverdlovsk anthrax victims: The presence of multiple *Bacillus anthracis* strains in different victims. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1998;95:1224.
- Meselson M, Guillemin J, Hugh-Jones M et al.: The Sverdlovsk anthrax outbreak of 1979. *Science* 1994;266:1202.

Comentário

Muitos agentes foram sugeridos para uso ou empregados em atos de bioterrorismo ou guerra biológica. Quatro agentes ocupam os primeiros lugares de muitas listas: *B. anthracis*, do antraz; varíola; *Y. pestis*, da peste; e a toxina botulínica. Em geral, a peste requer um vetor — a pulga —, e a disseminação da toxina botulínica pode ser difícil. Já o antraz e a varíola aparecem como grandes problemas potenciais, como ilustram a liberação acidental de antraz aerossolizado de um departamento de microbiologia militar da antiga União Soviética em 1979, os 22 casos de bioterrorismo por antraz nos EUA em 2001, e o surto de varíola na Iugoslávia em 1972.

A Organização Mundial de Saúde estimou o número de vítimas produzido por um hipotético ataque de guerra biológica, supondo a liberação de 50 kg de um agente de uma aeronave em uma extensão de 2 km contra o vento sobre um centro com uma população de 500.000 habitantes. Foi estimado que o antraz poderia espalhar-se por 20 km a favor do vento e vitimar 125.000 pessoas, incluindo 95.000 mortes.

Em 2001, nos EUA foram enviados esforços para tratar de possíveis incidentes envolvendo agentes biológicos. Tornou-se facilmente perceptível que uma resposta seria o presente, e no futuro seriam necessários recursos significativos dos governos

federal, estaduais e locais. A preparação da comunidade médica é essencial, assim como a orientação do público e das pessoas que fazem planos de ação.

É importante criar um consenso internacional condenando o uso de armas biológicas como agentes de terrorismo ou de guerra.

REFERÊNCIAS

- Biological agents as weapons. *JAMA* 1997;278(5):347. [Entire issue.]
Cieslak TJ, Christopher GW, Kortepeter MG et al.: Immunization against potential biologic agents. *Clin Infect Dis* 2000;30:843.
National symposium on medical and public health response to bioterrorism. *Emerg Infect Dis* 1999;5(4):491. [Entire issue.]

Índice

A

- Abiotrofia, 218, 224q
- Abscesso, 767
- abdominal, 773, 795–796
 - bacteroides em, 296, 300, 301q, 795
 - testes diagnósticos em, 757q, 795
 - cerebral, 301q, 756q, 787–789
 - estafilocócico, 203, 204
 - hepático, 757q
 - amebiano, 720–722
 - pélvico, 301q, 773
 - perioral, 756q
 - retal, testes diagnósticos para, 757q
 - tubo-ovariano, 301q, 344
 - vulvar, 301q
- Absorção de fármacos, como fator afetando a atividade antimicrobiana, 380
- Acanthamoeba*, 2, 717q
- Acanthamoeba castellanii*, 727
- Ácaros, riquetsioses associadas com, 350q, 352, 353
- Aceptor de hidrogênio, oxigênio como, 71
- Aceptores de elétrons e doadores na respiração, 68, 94–95
- movimento para, 36
- Acetaldeído na via de Embden-Meyerhof, 94f
- Acetato, 80–81, 83f
- Acetilcoenzima A
- e formação de α -cetogluturato, 80, 83f
 - e metabolismo de acetato, 80–81, 83f
 - fontes bioquímicas de, 83f
 - no ciclo de glioxilato, 85f
 - no ciclo do ácido tricarbóxílico, 84f
- Acetilfosfato, 92, 94f
- Achromobacter*, 250
- Aciclovir, 443q, 475, 479
- Acidentes com instrumentos perfurocortantes
- prevenção dos, 522
 - transmissão do vírus HIV nos, 664
- Ácido 6-aminopenicilânico, 389f
- Ácido aracdônico, 127, 141
- Ácido benzóico, ação antimicrobiana do, 61q, 64
- Ácido cetodesoxioctanoico nas paredes de células gram-negativas, 29, 29f
- α -cetogluturato, 80, 83f
 - e assimilação de nitrogênio, 87–88, 88f
 - no ciclo do ácido tricarbóxílico, 84f
 - produtos finais biossintéticos do, 80f
- Ácido diaminopimélico, 24, 89, 89f
- Ácido di-hidropicolínico, 89f
- Ácido dipicolínico, 89, 89f
- Ácido etilenodiaminotetracético (EDTA), 31
- Ácido fosfonofórmico (foscarnete), 443q, 444
- Ácido hipocloroso, ação antimicrobiana do, 64
- Ácido láctico, 68
- na via Embden-Meyerhof, 96q
 - produção de, 67
- Ácido lipoteicoico, 24, 26f
- e aderência dos estreptococos, 154, 211
- Ácido N-acetilglicosamina na síntese de peptidoglicano da parede celular, 371
- Ácido N-acetilmurâmico na síntese de peptidoglicano da parede celular, 89, 90f, 371
- de *Neisseria gonorrhoeae*, 287
- Ácido nalidíxico, 399, 400f
- como antisséptico urinário, 402
 - mecanismo de ação, 373
- Ácido nucleico, 407, 408, 635
- bacteriano
 - agentes antimicrobianos afetando, 62, 72, 375
 - no diagnóstico molecular, 763–765
 - técnicas de amplificação, 120, 329, 334, 343, 363–364, 366, 763–765, 780
 - viral, 2, 409q, 415–416, 421, 441, 442f, 780
 - amplificação e detecção do, 780
 - no ciclo de replicação, 424q
 - recombinação do, 426
 - sistemas de identificação baseados no, 408, 409q
- Ácido oxolínico, 399
- Ácido p-aminobenzoico e sulfonamidas, 375, 378, 401, 402
- Ácido periacético, ação antimicrobiana do, 61q, 64
- Ácido periódico de Schiff (PAS), 755
- Ácido propiônico, 298
- ação antimicrobiana do, 61q, 64
- Ácido ribonucleico. Ver RNA
- Ácido teicóico, 26–27, 26f
- estafilocócico, 201
 - estreptocócico, 209
- Ácido teicurônico na parede celular das bactérias gram positivas, 26–27
- Ácido tetraidropicolínico, 89f
- Ácido undecilênico, 709
- Ácido β -hidroximirístico, 29
- Acidófilos, 70
- Ácidos micólicos, 30
- nas micobactérias, 30, 315, 319, 320
- Ácidos orgânicos, ação antimicrobiana dos, 61q, 64
- Acidovorax, 246q
- Acinetobacter baumannii*, 249–250
- Acinetobacter haemolyticus*, 249
- Acinetobacter johnsonii*, 249–250
- Acinetobacter lwoffi*, 249
- Acne
- acnes da *Propionibacterium* em, 298
 - estafilococos em, 204
- Aconitato, 84f, 85f
- Aconselhamento genético, 120
- Acremonium falcatiforme*, 685
- Actina, 14, 17
- Actinobacillus actinomycetemcomitans*, 250, 268
- Actinomadura madurae*, 195
- Actinomadura*, 194
- Actinomicetoma, 195, 297
- diagnóstico, 298
 - terapia medicamentosa, 298
- Actinomicetos, 194, 684
- Actinomyces gerencseriae*, 297
- Actinomyces israelii*, 297
- Actinomyces naeslundii*, 298f
- Adenina na estrutura do DNA, 103f
- Adenovírus, 457–464, 647–648
- classificação e características dos, 409q, 411, 457–459, 469q
 - efeitos citopáticos dos, 460, 461f
 - epidemiologia dos, 463–464, 547q, 597f
 - estrutura e composição do, 410f, 457, 458f, 550f, 647–648
 - gastrenterites por, 462, 463, 547q
 - gene L tardio na replicação do, 460
 - infecções respiratórias, 583q, 597f, 776q
 - latência infecções persistentes, 438f, 461, 463
 - na terapia gênica, 461
 - na terapia oncolítica, 461
 - parvovírus associados a, 409, 451
 - replicação de, 423, 423q, 424q, 459–461, 647–648
 - curso do tempo na, 459f
 - resposta imune a, 462–463, 634
 - simetria no, 414, 457, 458f
 - sorotipos de, 461–462, 463, 469q
 - testes diagnósticos para, 463, 776q, 778q
 - transformação gênica, 461
 - tumores associados com, 411, 461, 468q, 642f, 647–648
 - vacinação contra, 447q, 462
 - vias de entrada, 433q
- Aderência e ligação
- de bactérias, 124, 149, 151–152, 154, 155, 169, 269, 343

- de vírus, 421–422, 459, 468–469, 469f, 495, 581, 582f, 593–594, 613
- fatores de colonização na, 234
- glicocálice em, 32
- na cárie, 32
- pelos em, 36
- Adesinas, 36, 155
- clamidiais, 359
- estafilocócicas, 201
- Adjuvante, 129
- Aedes*, mosquitos, infecções transmitidas por, 557q
- buniavírus, 566
- febre amarela, 563, 564f
- febre do Vale Rift, 566–567
- vírus da dengue, 564f, 565–566
- Aedes aegypti*, 563, 565–566
- Aedes albopictus*, 566
- Aedes triseriatus*, 566
- Aeração como fator que afeta o crescimento microbiano, 71–72, 72f, 73
- Aeromonas*, 255, 259, 262
- Aerococcus*, 224, 224q
- Aeromonas caviae*, 259
- Aeromonas hydrophila*, 259, 299
- Aeromonas veronii biovar sobria*, 259
- Aerotaxia, 36
- Aflatoxinas, 649, 704
- África
- doença equina na, 554q, 567
- febres hemorrágicas na, 413, 571–573
- histoplasmose na, 691
- tifo do carrapato na, 350q, 353
- tripanossomíase na, 724–725
- vírus da febre de Lassa na, 412
- vírus tipo febre suína na, 410f
- Aftas nas infecções pelo vírus herpes simples, 472q, 473
- Aftovírus
- classificação de, 528, 529
- doença do pé e boca por, 539–540
- estrutura e composição dos, 529f, 530f
- genoma dos, 527, 530f
- Agalactia em infecções por micoplasma, 342
- Ágar, 73–74, 760
- de Sabouraud, 676, 680, 682, 760
- para *Mycobacterium tuberculosis*, 313, 318
- para *Vibrio cholerae*, 255
- Ágar chocolate, 755
- Ágar eosina azul de metileno, 755
- Ágar MacConkey, 755
- Ágar Mueller-Hinton, para *Pseudomonas aeruginosa*, 246f
- Ágar sangue, 760
- Ágar tiosulfato-citrato-bile-sacarose para cultura de *Vibrio cholerae*, 255
- Agente Delta, 2, 426, 512. *Ver também Hepatite D vírus*
- Agentes antifúngicos com azol, 706–709, 707f
- tópico, 709–710
- Agentes antifúngicos, 709–710
- Agentes antimicrobianos, 60–64, 371–403
- agentes físicos como, 64
- agentes químicos como, 60, 61q–62q, 62, 64
- atividade metabólica afetando, 379–380
- combinação de, 382–383
- concentração de, 60, 60f, 380
- bactericida mínimo, 766
- inibitório mínimo, 766
- definições relacionadas com, 60, 62
- diarreia associada a, 183, 396
- distribuição e atividade de, 380
- e funções da membrana celular, 62–63, 373
- e funções da parede celular, 63
- e relações fármaco-patógeno, 379–380
- e relações hospedeiro-patógeno, 380–381
- e síntese da parede celular, 89–91, 90f, 371–373
- e síntese de ácido nucleico, 62, 375
- e síntese de proteína, 49q, 373–375
- em endocardites, 788–789
- em rações para animais, 378
- estabilidade de, 378
- fatores ambientais afetando, 378–379, 379–380
- inativação de, 63
- localização de microrganismos afetando, 380
- mecanismos de ação, 60–64, 371–375
- mensuração de atividade, 379, 766
- na atividade *in vitro* de, 378–379
- na atividade *in vivo* de, 379–381
- nas infecções fúngicas, 709–710
- nas infecções virais, 441–449
- remoção de, 63
- resistência a, 63, 375–378
- reversão de, 63
- seleção de, 381
- sinergismo de, 382–383
- substâncias interferentes afetando, 380
- teste de suscetibilidade, 379, 381
- tolerância a, 373
- toxicidade seletiva, 371
- uso indiscriminado de, 381–382
- uso profilático de, 383–384
- Agentes antissépticos, 61q–62q, 62, 384
- urinários, 401
- Agentes bactericidas, 60, 766, 779
- Agentes bacteriostáticos, 60, 63
- Agentes físicos
- com ação antimicrobiana, 64, 71, 419–420
- com mutagênicos, 111
- Agentes liberadores de halogênio, ação antimicrobiana de, 61q, 64
- Agentes oxidantes, ação antimicrobiana dos, 63, 64
- Agentes químicos
- ação antimicrobianas dos, 60, 61q–62q, 62, 64, 420
- como mutagênico, 111
- Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, 250
- Aggregatibacter aphrophilus*, 268
- Agitação e motilidade bacteriana, 36
- agr* (gene regulador acessório) e virulência estafilocócica, 202–203
- Agrobacterium tumefaciens*, vias de secreção de proteínas em, 23
- Aids. *Ver* Infecção por HIV e Aids
- Ajellomyces capsulatus*, 689
- Alcaligenes*, 105q, 250
- Alcalófilas, 70
- Alcoóis, ação antimicrobiana de, 61q, 64, 420
- Aldeídos, ação antimicrobiana de, 61q, 64
- Aldolase
- na derivação de hexose monofosfato, 79f
- na via de Embden-Meyerhof, 92, 93f
- no ciclo de Calvin, 86f
- no metabolismo de carboidrato, 78, 81f
- Alelos, 109, 146
- Algas, 2, 6–7
- Alginato, 245
- Allodermanyssus sanguineus*, 352
- Aloprogina, 709
- Alozimas, 51
- Alphavírus, 554q, 555–556
- encefalite por, 555–556, 557q
- estrutura e composição de, 555–556, 555f
- genoma de, 558f
- propriedades antigênica de, 558
- replicação de, 557
- teste diagnóstico para, 559
- Alterações nas células de Kupffer na hepatite, 512
- Alternaria*, 684, 703
- Alveolite alérgica extrínseca, 700
- Alysiella*, 285
- Amantadina, 443q, 444
- Amastigotas, 725f
- Leishmania*, 726
- Ambiente
- aeração no, 71–72
- desinfecção do, 384, 385q
- e atividade de agentes antimicrobianos, 378, 379–380
- na cultura de enriquecimento, 73
- na expressão de fatores de virulência, 153–154
- no cultivo de microrganismos, 69–72
- no pH, 70, 73, 153–154, 378
- preocupações públicas das cepas recombinantes no, 121
- sobrevivência dos microrganismos no, 55
- temperatura no, 70–71, 74, 153–154
- Amblyomma americanum*, 354
- Amebas, 715
- classificação de, 715
- de tecidos, 720–722
- de vida livre, 727
- intestinais, 720–722
- Amebíase, intestinal, 721
- Ameboma, 727
- Aminoácidos
- desaminação de, 68
- fermentação de, 94
- na expressão gênica, 112
- Amônia
- assimilação de, 87f, 88f
- como fonte de nitrogênio, 68, 87
- na infecção por *Helicobacter pylori*, 261
- Amonificação, 68
- Amoxicilina, 383, 385, 389f, 390
- ampC, 235
- Ampicilina, 385
- estrutura da, 389f
- na terapia de combinação, 382
- resistência a, 377
- uso profilático da, 383
- Ampliação baseada em ácido nucleico (NASBA), 764
- Amplificação isotérmica de ácidos nucleicos (LAMP), 764
- Anabolismo, 77, 78f
- Anaerococcus*, 299
- Anafilatoxinas, 139, 146
- Análise de multilocus VNTR, 53
- Análise de *Northern blot*, 119
- Análise do espécime retal, 772
- Análise do líquido cefalorraquiano, 770
- na meningite, 770, 785, 786, 787q
- pressão na, 787q

- Análise por *Western blot*, 119–120, 144, 760, 763
 para *Borrelia burgdorferi*, 334
 para infecções pelo vírus HIV, 662, 782
- Análise *Southern blot*, 119
 na subtipagem bacteriana, 51, 52f
- Análogos nucleosídeos nas infecções virais, 443, 443q
- Anamorfo, 672, 675
- Anaplasma phagocytophilum*, 350q, 353
- Anaplasmoses granulocítica humana (HGE), 350q, 353
- Anaplasmoses, 350q, 353
- Ancilostomídeos, 739–740
- Ancylostoma caninum*, 745
- Ancylostoma duodenale*, 733, 735q, 736q, 739–740, 740f
- Andes vírus, 568
- Anellovírus, 409q, 411
- Anemia
 na malária, 729
 nas infecções por tênia, 742
- Anergia, 137
- Anfotericina B, 693, 704–706, 705q
- Anfotericina, 383
- Angiomatose bacilar, 309–310
 nas infecções por HIV e Aids, 309, 812q
- Anidulafungina, 705q, 709
- Anisakis simplex*, 736q
- Anisiquiase, 736q, 745
- Anisomicina e síntese de proteína, 49q
 e febre do Nilo Ocidental, 557q
 e malária, 717q, 718q, 728, 731
 mosquitos *Anopheles*
- Antagonismo antimicrobiano, 383
- Antagonismo químico, 63
 na terapia antimicrobiana, 383
- Antibióticos aminoglicosídicos, 398–399
 de enterococos, 222–223
 mecanismo de ação, 374, 398
 resistência a, 374, 375, 376, 398
- Antibióticos cetolídeos, 396
 mecanismos de ação, 374
- Antibióticos com azalídeos, mecanismo de ação, 374
- Antibióticos em rações para animais, 240, 378
- Antibióticos glicopeptídicos, 396–397
- Antibióticos lipopeptídicos, 396–397
- Antibióticos quinolonas, 399–401, 399q, 400q
 efeitos colaterais dos, 401
 espectro de ação, 399–400, 400q
 farmacocinética dos, 400
 mecanismos de ação, 375, 399–400
 resistência a, 377, 400
- Antibióticos, ações antimicrobianas dos, 62
- Anticódon, 112, 113f
- Anticorpos, 123, 132–136, 146
 antiestreptocócicos, 380–381
 e imunidade humoral, 136f
 ensaios de avaliação dos, 143–144
 estrutura e função dos, 132–135
 formação dos, 132
 funções dos, 145
 funções protetoras de, 136–137
 monoclonal, 115, 132, 147, 755
 definição de, 147
 para *Brucella*, bloqueio, 273
 policlonal, 132, 755
 produção de, 145
 receptores de célula T comparados a, 129
- Antiestreptolisina O, 213
- Antígeno, 123, 128–129, 146
 e superantígeno, 131f, 132, 150
 processamento e apresentação de, 131–132
 resposta primária a, 136, 136f
 resposta secundária a, 136
 sistema de reconhecimento, 129
 transplante, 129
- Antígeno da hepatite D, 508q, 512, 517, 518f
- Antígeno de Frossman, 26
- Antígeno de superfície do vírus da hepatite B, 508q, 509f, 510, 510f, 515, 516f, 521
 anticorpos para, 508q, 515
 e antígenos da hepatite D, 512
 estabilidade do, 511
 fenótipo do, 510
 portadores do, 512–513
- Antígeno do núcleo do vírus da hepatite B, 508q, 509f, 510, 510f
 anticorpos para, 508f, 515, 516f
- Antígeno O, 29–30
 in *Vibrio cholerae*, 255–258
 na *Salmonella*, 238, 240
 na *Shigella*, 236
 nas Enterobacteriaceae, 231f, 232, 233
- Antígeno protetor PA na toxina do antraz, 176, 177
- Antígeno V
Yersinia pestis, 279
- Antígeno Vi de salmonela, 238, 240
- Antígeno W de *Yersinia pestis*, 279
- Antígenos de invasão dos plasmídeos, 155
- Antígenos de leucócitos humanos (HLA), 129.
Ver também Complexo principal de histocompatibilidade
- Antígenos de transplante, 129
- Antígenos H, 33–34
 em *Vibrio cholerae*, 255
 nas Enterobacteriaceae, 231f, 232, 234
 em salmonela, 238
- Antígenos K de Enterobacteriaceae, 231f, 232, 233
- Antígenos nucleares do vírus Epstein-Barr (ANEBs), 486, 487, 648
 anticorpos para, 486f, 487
- Antiparalelo, fitas de DNA, 101
- Antiportadores, 20, 21f
- Antitoxina
 em infecções clostrídicas, 182
 botulismo, 180, 299
 tétano, 181
 na difteria, 190
- Antraz, 175–179
 bioterrorismo, 53, 176, 817–818, 820, 821
 inalação, 176, 177, 818, 821
 surto Sverdlovsk, 821
 terapia com fármacos, 177, 387q
 toxina de, 175–176
 vacina para, 177
- Aparelho de Golgi, 13, 131
- Aparência de “cruz-de-malta” na babesiose, 732
- Aparência de cabeça de medusa na colônia de *Bacillus anthracis*, 177
- Aplasia de hemácias, 454
- Aplasia
 crise transitória, 454, 455
 hemácia pura, 454
- Apoptose, mecanismos induzidos por vírus na, 425
- Arachnia, 296q, 298–299
- Arbovírus, 553–573
 classificação e característica dos, 412, 556–557
 dengue por, 564–566
 encefalite por bunivírus, 566
 encefalites por togavírus e flavivírus, 558–559
 epidemiologia dos, 553–555, 557, 559–561, 561–562, 563, 565–566
 espalhado pelo corpo, 434f
 estrutura e composição dos, 555f
 febre amarela por, 562–564
 febre do carrapato de Colorado por, 567
 febre do mosquito-pólvora por, 566
 febre do Vale do Rift por, 566–567
 imunidade para, 559, 563, 565
overwintering (hibernação) de, 562, 562f, 563f
 patogênese e patologia, 562–563
 replicação dos, 557
 taxa de mortalidade por, 557q, 559
 testes diagnósticos para, 559, 563, 565, 777q
 transmissão dos, 553–555, 559, 561f
- Arcanobacterium*, 187, 191, 193
- Arcanobacterium haemolyticum*, 191, 193
- Arcanobacterium pyogenes*, 193
- Archaeoglobus fulgidus*, 104q
- Arcobacter*, 259, 261
- Arenavírus, 409q, 554q, 569–571
 classificação dos, 409q, 410f, 412, 569
 estrutura e composição dos, 555f, 569
 replicação dos, 570f
 transmissão dos, 569
- Arginina, 88, 88f, 94
- arISR* e virulência estafilocócica, 203
- Arqueobactérias, 6, 50
 classificação das, 49q, 50
 eubactérias comparadas as, 50
 eucariotos comparados a, 48, 49q
 genoma das, 104q
 membrana celular das, 18
 metabolismo respiratório nas, 95–96
 parede celular das, 30, 50
 RNA ribossomal nas, 48, 50
- Arteriviridae, 410f
- Arthroderma*, 678
- Artrite
 gonocócica, 289
 na doença de Lyme, 334, 335
 na rubéola, 608
 testes diagnósticos para, 759q
- Arthroconídio, 672, 673f, 675, 677, 680, 688f
 na coccidioidomicose, 686, 688f
- Arthrosporos, 672, 680
 na coccidioidomicose, 686
- Ascaris lumbricoides*, 733, 735q, 738, 740f
- Asco, 672
- Ascomycota (ascomycetos), 7, 675–676
- Ascosporos, 672
- Asparagina, 88, 89f
- Aspartato semialdeído, 89, 89f
- Aspartato, 88–89, 89f
- Aspergillus flavus*, 699, 701, 704
- Aspergillus fumigatus*, 673q, 675f, 699, 701, 761q
- Aspergillus lentulus*, 699, 701
- Aspergillus niger*, 699
- Aspergillus terreus*, 699, 701, 706
- Aspergiloma, 700

- Aspergilose invasiva, 700, 700f
 Aspergilose, 673q, 699–701, 703, 707
 broncopulmonar alérgica, 700
 diagnóstico da, 700, 761q
 epidemiologia da, 701
 morfologia e identificação da, 699
 no transplante de medula óssea, 816, 816f
 tratamento da, 701
 Asséptico, ações antimicrobianas de, 62
 Assistência médica
 hepatite na, 521
 Astroviridae, 551
 Astrovírus, 409q, 412, 547q, 550f, 551
 Aterosclerose
 Chlamydia pneumoniae na, 366
 citomegalovírus na, 483
 Atividade oxidase
 Legionella, 305
 Neisseria, 285
 Plesiomonas, 259
 Pseudomonas aeruginosa, 245
 Vibrio, 255
 Atrofia muscular na pós-poliomielite, 532
 Autoindutores em *quorum sensing*, 5
 Autolisinas, 31
 Autorreinfecção
 na estrogiloidíase, 740
 nas infecções por *Tênia*, 742
 Autotrófos, 68, 84
 AVA BioThrax, 177
 Aves
 Chlamydia psittaci em, 366–367
 Cryptococcus neoformans fezes de, 699
 poxvírus em, 494
 vírus *influenza* em, 586–587, 587f
 vírus *parainfluenza* em, 592, 597
 Avulavírus, 592
 Azitromicina, 395–396
 e inibição da síntese proteica, 374, 395–396
Azotobacter, 73, 74q
 AZT (zidovudina), 443q, 665
 Aztreonam, 393
- B**
- Babesia microti*, 718q, 731–732
 Babesiose, 718q, 732
Bacillus anthracis, 175–178
 cápsula de, 33f, 176, 177
 composição do polímero extracelular no, 33q
 cultura de, 176f, 177
 fármacos de escolha para, 193, 387q
 no bioterrorismo, 53, 176, 817–818, 821
 surto Sverdlovsk, 821
 tamanho do genoma do, 104q
 transmissão do, 151
 vacina, 177
 virulência do, 153q, 177
Bacillus atrophaeus, 38
Bacillus cereus, 175, 178
 esporos de, 37f, 178
 fármaco de escolha para, 387q
 gastrenterite por, 796, 797q
 nucleoides de, 16f
 toxina de, 178
Bacillus larvae, 178
Bacillus lentimorbus, 178
Bacillus megaterium, 18f, 23f, 37f
Bacillus popilliae, 178
Bacillus sphaericus, 178
Bacillus stearothermophilus, 105q
Bacillus subtilis, 175, 397
 esporulação e diferenciação do, 37
 fármacos de escolha para, 387q
 parede celular de, 31, 31f
 transferência de DNA no, 110
Bacillus thuringiensis, 178
 Bacilo de Koch-Weeks, 267–268
 Bacitracina, 90f, 397
 Bactérias
 aderência de, 149, 152, 154, 155
 biofilme de, 58, 160, 170f
 cápsula de, 32, 33f
 coloração de, 33f, 39–40
 polissacarídeos em, 32, 33q, 209, 219
 cepas mutantes, 111
 classificação, 5–6, 43–53, 151
 antígenos em, 159
 categoria e grupos na, 47q, 48–50, 49f
 chaves em, 45–46
 critérios na, 5–6, 44–45
 das Enterobacteriaceae, 229–233
 dos *Streptococcus*, 209
 espécies de *Salmonella*, 238
 filogenética, 6, 46–48, 47q
 métodos de identificação sem cultura na, 53
 micobactérias na, 319, 319q
 numérica, 46
 RNA ribossomal, 48, 48f
 subtipagem em, 50–51
 coloração de, 23–24, 39–40, 754–755, 755q
 crescimento de, 40
 e crescimento retardado no efeito pós-antibiótico, 380
 fases da curva de crescimento no, 57–58, 57f
 parede celular no, 32
 requerimento de ferro no, 21, 69, 160
 diagnóstico de infecções, 150–151, 754–775
 para escolha de antibióticos, 381, 763–765
 métodos de coloração no, 23–24, 39–40, 754–755, 755q
 diversidade de, 4–5
 DNA em. *Ver* DNA, bacteriano
 e sistemas de secreção, 21–23, 159–160, 161, 161q
 enzimas produzidas por, 158–159
 estrutura celular de, 15–39
 evasão da resposta imune, 124, 159
 fatores antifagocíticos na, 159
 formação de biofilme na, 160
 fármacos antimicrobianos afetando, 371–403
 fatores antifagocíticos de, 159
 formação de esporos, 36–39, 37f, 38f
 de bactérias gram-positivas, 36, 175–183
 genoma das, 104–105
 heterogeneidade antigênica de, 36, 159
 invasão das células e tecidos do hospedeiro, 154–155
 lisogênico, 106
 membrana celular de, 18. *Ver também* Membrana celular, de bactérias
 métodos de identificação, 43, 150–151
 motilidade de, 154, 250
 contração na, 36
 flagelos na, 35–36
 pelos na, 36
 na microbiota normal, 165–173. *Ver também* Microbiota normal
 na urina, 769–770, 800, 801
 nas espécimes do trato gastrointestinal, 772
 nas infecções cutâneas e de tecidos moles, 767, 773
 nas infecções do sistema nervoso central, 770, 773
 natureza clonal de, 5, 50–51, 152
 no sangue, 767–768. *Ver também* Bacteremia
 no trato respiratório, 771, 773, 789
 nomenclatura de, 43
 parede celular de, 23–32. *Ver também* Parede celular de, bactéria
 patogênese das infecções, 149–161
 postulados de Koch em, 150–151, 150q
 requerimento de ferro, 21, 69, 160
 RNA em. *Ver* RNA, bacteriano
 síntese proteica nos agentes antimicrobianos afetando, 49q, 373–375
 sistemas de cultura para, 755, 756q–759q, 760
 tamanho de, comparado ao tamanho de vírus, 415
 taxonomia de, 43, 43q, 46
 toxinas de, 155–158, 161
 transmissão de, 151–152
 virulência de, 152, 153–161
 Bactérias acidorresistentes, 194–195, 755
 coloração de, 30, 39, 313, 315f, 755, 755q
 fármacos para, 388q
 micobactéria como, 313, 321, 755
 parede celular de, 30, 315–316
 Bactérias aeróbias, 4, 49, 71
 aeração de culturas, 71
 culturas de enriquecimento para, 74q
 definição de, 295
 e fixação de nitrogênio, 86–87
 Bactérias anaeróbias, 5, 49, 71–72, 295–302
 aerotolerantes, 71–72, 297
 definição de, 295
 diagnóstico de, 301
 facultativas, 49, 71, 295, 296, 300–301
 infecções associadas com, 300–301
 fisiologia e condições de cultivo para, 295–297
 em culturas de enriquecimento, 74q
 gram-negativas, 296–297
 gram-positivas, 297–299
 imunidade a, 300
 obrigatórias, 71–72, 295
 osteomielites por, 802
 testes diagnósticos para, 773
 tratamento de infecções, 301, 400q
 Bactérias capnofílicas, 251, 295
 Bactérias fototróficas, 49
 Bactérias gram-negativas, 23–24
 anaeróbias, 296–297
 bastonetes, na microbiota normal, 166q
 categorias e grupos das, 47q, 48–49
 entéricas, 229–241
 envolpe celular nas, 23–24, 24f, 91, 91f
 fármacos para, 386q–387q
 quinolonas, 400q
 flagelos nas, 34, 34f
 lipopolissacarídeo nas, 27, 29–30, 157
 características do, 156q
 efeitos fisiopatológicos do, 157
 estrutura molecular do, 29f
 síntese do, 91, 91f

- parede celular nas, 24, 27–30, 48–49
 espaço periplasmático nas, 30
 lipopolissacarídeo nas, 27, 29–30, 157–158
 lipoproteína nas, 30
 membrana externa das, 27–29
 peptidoglicano das, 24, 28–29, 158, 372
 pelos nas, 36
 procedimento de coloração, 39, 754
 resistência a fármacos das, 27, 378
 secreção de proteínas na, 21–22
- Bactérias gram-positivas, 23, 175–183
 anaeróbias, 297–299
 categorias e grupos das, 47q, 49
 envelope celular das, 24, 24f
 fármacos para, 386q–387q
 flagelos em, 34
 formação de esporos, 36, 175–183
 parede celular das, 23f, 26–27, 26f, 49
 peptidoglicano nas, 24, 158, 372
 pelos em, 36
 procedimento de secreção, 39, 754
 quinolonas, 400q
 secreção de proteínas nas, 21–22
- Bactérias lisogênicas, 106
- Bactérias microaerófilas, 49
- Bactérias não fototróficas, 49
- Bacteriemia, 152
Acinetobacter, 250
Bacteroides, 300
Brucella, 271–273
Campylobacter fetus, 261
 complexo *Mycobacterium avium*, 322
Erysipelothrix rhusiopathiae, 193
Escherichia coli e, 233
 estreptocócica, 214, 217, 221
Listeria monocytogenes, 193
Neisseria gonorrhoeae, 289
Neisseria meningitidis, 291
Pasteurella, 282
 por bactérias anaeróbias, 301q
 por *Clostridium*, 182, 299
Proteus, 235
Pseudomonas aeruginosa, 247
Salmonella, 239, 240, 387q
 testes diagnósticos para, 767–768
Vibrio vulnificus, 258
- Bacteriocinas, 233, 246
- Bacteriófago Lambda, genoma do, 104q
- Bacteriófagos, 105–107, 105f
 DNA de fita simples nos, 105, 118–119
 e classificação bacteriana, 45
 e fatores de virulência bacteriana, 152, 153q
 filamentosos, 106
 genética dos, 104q, 110, 422–423
 replicação dos, 106–107, 110
 RNA de fita simples nos, 105, 106
 tamanho dos, 415
- Bacteriófagos líticos, 106
 na transferência do DNA, 110
 replicação dos, 106
 na transferência do DNA, 110
- Bacteriófagos temperados, 106
 replicação dos, 106–107
- Bacteriúria, 800, 801
- Bacteroides distasonis*, 296
- Bacteroides fragilis*, 295, 296, 296q, 301q, 302
 imunidade para, 300
 patogênese das infecções, 300
 peritonite e abscesso abdominal, 795
 testes diagnósticos para, 757q
 tratamento das infecções, 301
- Bacteroides ovatus*, 296
- Bacteroides thetaiotaomicron*, 296
- Bacteroides vulgatus*, 296
- Balamuthia mandrillaris*, 727
- Balamuthia*, 717q
- Balantidium coli*, 715
- Barreira hematoencefálica nas infecções virais, 440, 559
- Bartonella alsatica*, 308
- Bartonella bacilliformis*, 308–309, 310
- Bartonella elizabethae*, 308
- Bartonella henselae*, 53, 151, 308, 309–310, 812q
- Bartonella koehlerae*, 308
- Bartonella quintana*, 308, 309–310, 309–310, 812q
- Bartonella vinsonii*, 308
- Bases complementares, 101
 no DNA, 101, 103f
 no RNA, 101–102
- Basídio, 672, 676
- Basidiomycota (basidiomicetos), 7, 676
- Basidiósporos, 672, 676
- Basófilo, 125
- Baylisascaris procyonis*, 737q
- Bdellovibrio bacteriovorus*, 31
- Bebê flácido no botulismo infantil, 180
- Bejel, 327, 331
- Biblioteca de plasmídeos recombinantes, 116
- Bifidobactérias, 296q, 298–299
- Biguanidas, ação antimicrobiana do, 61q, 64
- Biocidas, 60, 61q–62q, 64
- Biofilmes, bacterianos, 58, 160
 estafilocócicos, 205
 na microbiota normal, 170f
Pseudomonas aeruginosa, 160, 245
- Biologia molecular, 1
- Biópsia
 do pulmão, 771
 no estômago em *Helicobacter pylori*, infecções, 262
- Bioquímica na análise de microrganismos, 1
- Biosegurança em laboratório. Ver Preocupações de biosegurança em laboratório
- Biossíntese microbiana, 23, 77, 88–91
- Biossíntese da isoleucina, 97, 97f
- Biossíntese da valina, 97f
- Biossíntese direcionada por modelo, 77
- Biossíntese do triptofano, genes associados a, 112–113
- Bioterrorismo, 428, 817–821
Bacillus anthracis em, 53, 176, 817–818, 820, 821
Clostridium botulinum em, 180, 819–820
Francisella tularensis em, 274
 histórico, 820–821
 microbiologia forense em, 53
 peste em, 819
 varíola em, 818–819, 820
- Biotipos, bacteriano, 46
- Bipolaris spicifera*, 684
- Bipolaris*, 673q, 675f, 684, 703
- Birnaviridae, 410f
- Bisfenóis, ação antimicrobiana dos, 61q, 64
- Blastoconídia, 672, 683, 683f, 695f
- Blastomicina, 692
- Blastomicose, 673q, 685–686, 686q, 692–693, 692f
 diagnóstico da, 690q, 692, 761q
 epidemiologia da, 693
 morfologia e identificação da, 692
 tratamento da, 693
- Blastomyces dermatitidis*, 673q, 686q, 692–693, 761q
- Blastósporos, 672
- Boca
 abscesso da, 756q
 candidíase da, 709
 gengivite nas infecções pelo vírus HIV e Aids, 813q
 infecções pelo vírus herpes simples na, 438, 470, 472q, 473, 473f, 474, 583q
 microbiota normal da, 167, 169–172
 micoplasmas na, 342
- Bocavírus humano, 454–455
- Bolhas de febre nas infecções do vírus da herpes simples, 470, 472q, 473
- Bolores limosos, 2, 7–8, 8f
 ciclo de vida, 7
- Bolores, 7, 672
 mixomiceto, 2, 7–8
 síndrome dos prédios doentes por, 703–704
- Bordetella avium*, 268
- Bordetella bronchicanis*, 268
- Bordetella bronchiseptica*, 268, 270–271
- Bordetella hinzii*, 268
- Bordetella holmseii*, 268
- Bordetella parapertussis*, 268, 270
- Bordetella pertussis*, 268–270
Bordetella trematum, 268
 fatores de virulência, 153, 269
 testes diagnósticos para, 269–270, 755, 757q, 760, 764
 toxinas de, 269
 vacinação, 191, 271
 vias de secreção proteica em, 23, 269
- Bornavírus, 409q, 410f, 413, 626
- Borrelia afzelii*, 333
- Borrelia buccalis*, 337
- Borrelia burgdorferi*, 333–335
Borrelia garinii, 333
Borrelia hermsii, 332
Borrelia recurrentis, 331–332
Borrelia refringens, 338
 estrutura celular de, 16, 333
 fármacos de escolha para, 333, 388q
 fármacos de escolha para, 335, 388q
 genoma de, 104q, 333
 troca antigênica em, 159, 332
- Borrelia*, 331–335, 332f
- Botulismo, 156, 175, 178, 179–180, 299
 associado a berinjela assada em óleo, 819, 820
 infantil, 179, 299
 surto de, 819–820
- Bracheola vesicularum*, 733
- Bradizoítos
Sarcocystis, 719, 732
Toxoplasma, 732
- Brevibacterium*, 187
- Brevundimonas*, 246q
- Bronquiolite, viral, 439q, 583q
 vírus *parainfluenza*, 595
 vírus sincicial respiratório, 583q, 598, 599, 600
- Brucella abortus*, 271
- Brucella canis*, 271, 272
- Brucella melitensis*, 271, 272

- estrutura celular de, 16
 tamanho do genoma de, 104q
Brucella produtora, 272
 Helicobacter pylori produtora, 261
 Nocardia produtora, 194
Brucella suis, 271, 272
 Brucelose, 271–273, 386q
Brugia malayi, 736q, 743
 Bunivírus, 409q, 410f, 413, 424q, 566
Bunyaviridae, 553, 566
Burkholderia cepacia, 246q, 248–249
Burkholderia gladioli, 248–249
Burkholderia mallei, 246q, 248
 em bioterrorismo, 821
 fármacos de escolha para, 248, 387q
Burkholderia pseudomallei, 246q, 248
 fármacos de escolha para, 248, 387q
 tamanho do genoma de, 104q
 Butoconazol, 709
- C**
- Cabras
 lenti-vírus em, 656q, 657
 poxvírus em, 494
 Cadeia invariante (Ii), 132
 Cadeias leves da imunoglobulina, 133, 134f, 135–136
 e mecanismos de rearranjo gênico, 135–136
 regiões constantes e variadas das, 133
 Cadeias pesadas (H), 134
 Cadeias pesadas da imunoglobulina, 133, 133f, 136
 e mecanismos de recombinação gênica, 136
 regiões variáveis e constantes das, 134, 136
 Calazar, 717q, 726
 Cálcio, requerimento de, 69
Caliciviridae, 548
 Calicivírus, 543, 547q, 548–551
 classificação e características dos, 409q, 412, 548–549
 epidemiologia dos, 547q, 549
 estrutura e composição dos, 410f, 548–549, 549f, 550f
 testes diagnósticos para, 549, 777q
 vias de entrada, 433q
Calomys callosus, 570
Calomys musculus, 570
 Calor, ação antimicrobiana do, 64, 71
 para vírus, 420, 495
 Camada limosa em células bacterianas, 32
 Camada S da parede celular bacteriana, 30–31
 Camadas cristalinas de superfície das paredes celulares bacterianas, 30–31
 Campo de isolamento, viral, 425
Campylobacter coli, 259–260
Campylobacter enteritis, 260
Campylobacter fetus, 260, 261, 262
Campylobacter jejuni, 255, 259–260, 260f, 262
 fármacos de escolha para, 260, 386q
 gastrenterites por, 796, 799q
 testes diagnósticos para, 260, 758q
Campylobacter lari, 261
Campylobacter upsaliensis, 261
 Camundongo *Mus musculus*, vírus da coriomeningite linfocítica no, 570
 Canamicina, 398
 Câncer anal, papilomavírus em, 646
 Câncer cervical, papilomavírus no, 438f, 646, 647f
 Cancro na sífilis, 328
 Cancroide, 268, 759q
 diagnóstico de, 773, 806, 806q
 diagnóstico diferencial no, 806q
Candida albicans, 673q, 694, 695f, 794
 morfologia e identificação das, 694
 na microbiota normal, 166q
 nas infecções por HIV e Aids, 811q, 813q
 testes diagnósticos para, 762q
 vulvovaginites por, 794, 805q
Candida dubliniensis, 694
Candida glabrata, 694
Candida guilliermondii, 694
Candida kefyr, 694
Candida krusei, 694
Candida lusitanae, 694
Candida parapsilosis, 694
Candida tropicalis, 694
 Candidemia, 696
 Candidíase, 673q, 694–697
 como infecção oportunista, 703
 diagnóstico da, 696, 762q
 epidemiologia e controle da, 697
 nas infecções pelo HIV e Aids, 694, 696, 811q, 813q
 tratamento da, 385q, 697, 706
 vulvovaginite na, 696, 805, 805q
Capnocytophaga canimorsus, 250
Capnocytophaga cynodegmi, 250
Capnocytophaga gingivalis, 250
Capnocytophaga ochracea, 250
Capnocytophaga sputigena, 250
 Capsídeo, 407, 407f, 408, 409q
 Capsômero, 407f, 408, 409q
 Cápsula, bacteriana, 32, 33f
 coloração de, 33f, 40
 e invasão de patógenos, 32
 e polímeros capsulares extracelulares, 32, 33q, 91
 polissacarídica em, 32, 33q, 209, 219
 Carbapenemas, 393–394
 Carbenicilina, 390
 Carbono
 acetato, 80–81
 assimilação do, 82, 84, 86f
 benzoato, 87f
 como requerimento para o crescimento microbiano, 68, 70
 dióxido de carbono, 68, 82, 84, 86f
 em culturas de enriquecimento, 74q
 fontes de, 68, 74q
 Carboxissomas, 17
 Carcinogênese, viral, 633–635, 634q
 Carcinoma hepatocelular
 associado ao vírus da hepatite B, 509, 513, 521, 633q, 648–649
 associado ao vírus da hepatite C, 512, 513, 514, 517f, 633q, 648–649
Cardiobacterium hominis, 250
 Cardiovírus, 528, 529, 529f, 530f
 Cárie dental, 32, 169, 171, 218
 Carneiro
 infecções por príons no, 2, 3, 627q, 628
 lenti-vírus no, 656q, 657
 poxvírus no, 494, 494q, 501, 502f
 trematódeo hepático no, 745
 Carrapatos *Amblyomma*, ehrlichiose associada a, 354
 Carrapatos *Dermacentor*, infecções associadas a, 352, 557q, 567
 Carrapatos Ixodes, infecções associadas com doença de Lyme, 335
 encefalite por flavivírus, 561
 Cascado do complemento, 158
 Caspofungina, 705q, 708f, 709
 Cassete cromossômico estafilocócico *MEC* (*SCCmec*), 200
 Catabolismo, 77, 78f
 Catalase, 14, 72, 295
 estafilococos produtores de, 201, 204
 Catalase-peroxidase *katG* na resistência a isoniazida, 320
 Catapora, 470–471, 476–480, 583q
 Catecol, 69, 87f
 Cateterização, urinária, coleta de espécime em, 769
 Cavalos
 e encefalite equina
 oriental, 554q, 557–558, 557q, 560
 venezuelana, 554q, 557q, 558, 561
 ocidental, 554q, 557–558, 557q, 560
 soro antirrábico dos, 624
 vacina do Nilo Ocidental nos, 562
 vírus da anemia infecciosa nos, 656q, 657
 vírus Hendra nos, 607
 vírus *influenza*, 586
 CCR5 nas infecções pelo HIV e Aids, 657, 659
 CD28, 138
 CD3, 138
 CD46, e herpes-vírus-6, 487
 CD80 (B7-1), 138
 CD86 (B7-2), 138
Cedecea, 232
 Cefaclor, 392q
 Cefadroxila, 392, 392q
 Cefalexina, 391f, 392, 392q
 Cefalosporinas, 390–393
 efeitos adverso das, 393
 mecanismo de ação das, 372, 373, 392
 na combinação terapêutica, 383
 resistência às, 376, 377
 Cefalotina, 392, 392q
 Cefamandol, 392q, 393
 Cefapirina, 392, 392q
 Cefazolina, 391f, 392, 392q
 Cefdinir, 392q
 Cefditoreno, 393
 Cefepima, 391f, 392q, 393
 Cefixima, 392q
 Cefmetazol, 392q, 393
 Cefonicida, 392q
 Cefoperazona, 391f, 392q, 393
 Ceforanida, 392q
 Cefotaxima, 391f, 392q, 393
 Cefotetana, 392, 392q, 393
 Cefoxitina, 391f, 392, 392q
 Cefpiroma, 393
 Cefpodoxima proxetila, 392q
 Cefprozila, 392q
 Cefradina, 391f, 392, 392q
 Ceftarolina, 392q, 393
 Ceftazidima, 391f, 392, 392q
 Ceftributeno, 392q
 Ceftizoxima, 392q, 393

- Ceftobiprol, 392q, 393
 Ceftriaxona, 391f, 392q, 393
 Cefuroxima, 392q
 Cegueira do rio, 743–744
 Células apresentadoras de antígeno, 128f, 131, 132
 Células B, 127, 128f, 133
 anticorpos e, 133–135
 definição de, 146
 expansão clonal, 133
 imortalizada pelo vírus Epstein-Barr, 484
 na imunidade humoral, 127
 Células de memória, 136
 nas infecções pelo vírus HIV e Aids, 657–659
 Células dendríticas, 125
 Células diplóides
 bacterianas, parcial, 109
 em cultura de vírus, 417
 eucariontes, 6, 103
 Células gigantes, multinucleadas
 Giardia duodenalis, 716q, 719
 Giardia intestinalis, 719
 nas infecções pelo vírus herpes simples, 471, 475
 nas infecções pelo vírus varicela-zóster, 477f, 478
 Células haploides
 eucariontes, 103
 gametas, 6
 procariontes, 16
 Células HeLa, 155
 Células indicadoras, 297
 Células matadoras naturais (NK), 125–126, 146
 Células não permissíveis a infecções virais, 421, 425
 Células permissivas a infecções virais, 421, 425, 635
 Células polimorfonucleares, 147
 no líquido cerebrospinal, 787q
 Células T, 127–128, 128f, 130–131, 137–138
 ativação das, 138
 auxiliares, 128
 CD4, 127, 131, 137, 138
 e herpes-vírus-6, 487
 e interações com MHC classe II, 127, 138
 monitoramento de, 782
 nas infecções pelo HIV e Aids, 143, 657–659, 658f, 659, 660, 810
 CD8, 127, 131, 138
 e interações com MHC classe I, 127, 131, 138
 citotóxica, 128, 138, 146
 definição de, 147
 desenvolvimentos das, 137
 e herpes-vírus-6, 487
 e herpes-vírus-7, 487
 e imunidade mediada por anticorpos, 127
 e interações com o complexo principal de histocompatibilidade, 127, 130–131, 131–132, 138
 e resposta imune adaptativa, 127
 efetoras, 138
 funções das, 145
 funções efetoras, 138
 na imunidade de base celular, 127
 na imunidade humoral, 127
 nas infecções virais, 438f
 nas reações de hipersensibilidades tardias, 142
 no processamento e apresentação antigênica, 131–132
 proliferação e diferenciação das, 138
 reconhecimento antigênico, 129
 Células Vero, 234
 Celulite, 213, 756q
 Cenócito, 7
 Centrifugação
 cultura enriquecida, 780
 da urina, 769
 do material contendo vírus, 779
 e taxa de sedimentação ultracentrifugação, 415
 para purificação, 419
 Cepa Asibi do vírus da febre amarela, 564
 Ceras na parede celular das bactérias álcool-ácido resistentes, 30
 Ceratite, herpes simples, 472q
 Ceratoconjuntivite
 adenovírus, 462, 464
 clamidial, tracoma na, 362
 herpes simples, 472q, 473
 Cercárias, trematódeo, 746
Cercopithecus aethiops, 571
 Cervicite, 803–804
 clamidial, 363, 804
 diagnóstico diferencial na, 804
 Neisseria gonorrhoeae, 289, 804
 testes diagnósticos na, 758q
 Cestoda, 719
 Cestódeos, 741–742, 743
 Cetoconazol, 693, 705q, 706–707, 706–709, 707f
 Cetrimida, ação antimicrobica da, 62q
 Chaperona, 22
 Chaves na classificação de bactérias, 45–46
Chlamydia pneumoniae, 344, 359, 365–366
 características de, 361q, 362, 366–367
 Chlamydia psittaci, 359, 366–368
 crescimento e metabolismo, 361
 epidemiologia de, 366
 epidemiologia e controle de, 368
 fármacos de escolha para, 367, 388q
 pneumonia por, 365–366, 792q
 propriedades de coloração de, 360, 367, 774
 sorotipos de, 361
 tamanho do genoma de, 104q
 testes diagnósticos para, 366, 773–775
Chlamydia trachomatis, 70, 359, 804
 características de, 361, 361q
 ciclo de desenvolvimento de, 359
 conjuntivite por, 363–364
 crescimento e metabolismo, 361
 em infecções pelo vírus HIV e Aids, 813q
 epidemiologia e controle de, 362–363, 364, 365
 fármacos de escolha para, 362, 364, 365, 388q
 infecções do trato urinário, 801
 infecções genitais, 363–364, 804
 infecções respiratórias, 364
 linfogranuloma venéreo por, 365
 propriedades de coloração de, 360, 360f, 774
 sexualmente transmitida, 804
 sorotipos de, 360, 362, 365
 tamanho do genoma de, 104q
 testes diagnósticos para, 362, 363–364, 365, 758q, 759, 759q, 764, 773–775
 tracoma por, 362–363
Chlamydomonas pneumoniae, 359, 774, 792q
Chlamydomonas psittaci, 359, 774
 Choque térmico em bactérias, 71
 Choque, síndrome da dengue, 565
Chromobacterium violaceum, 250–251
Chryseobacterium meningosepticum, 251
 Chytridiomycota, 7
 Cianobactérias, 4, 16, 18f
 culturas de enriquecimento para, 74q
 fotossíntese em, 96
 vesículas gasosas em, 19f
 Ciclo artrópode-artrópode, 427
 Ciclo de Calvin, 82, 84, 86f
 Ciclo do ácido tricarbóxico, 80–81, 84f
 Ciclo do glicolato, 85f
 Ciclopirox, 709
 Cicloserina e síntese de peptidoglicano na parede celular, 90f
 Cidofovir, 443q
 Cilastatina, 393
 Cílios, eucarióticos, 15, 15f
 Cinetoplasto
 Leishmania, 726
 Cinoxacina, 399
 Ciprofloxacina, 399, 400f
Circoviridae, 410f
 Cirurgia, quimioprofilaxia antimicrobiana na, 384
 Cisticercoides, 741–742
 Cisticercos, 741–742
 Cisticercose, 737q, 741–742
 Cistite, 801
 adenovírus, 462
 hemorrágica, 462, 644
 quimioprofilaxia antimicrobiana na, 384
 vírus BK, 644
 Cistite hemorrágica, 462, 644
 Cisto hidático, 746, 748
 Cistos
 Entamoeba histolytica, 721f
 Entamoeba, 720–721
 Giardia lamblia, 720f
 hidático, 746, 748
 Toxoplasma, 732
 Citidina 5'-monofosfo-ácido-N-acetilneuramínico (CMP-NANA), 30, 287
 Citocinas, 126–127, 128f, 134q, 140–141, 145, 146
 aplicações clínicas, 141
 classificação e funções, 140
 Citoesqueleto
 nos eucariontes, 14
 nos procariontes, 17
 Citólise, 139, 146
 Citolisinas, bactérias produtoras, 158
 Citomegalovírus, 468, 471, 480–484
 classificação do, 468, 468q
 clínica, características imunológicas e virológicas das infecções, 81f
 disseminação pelo corpo, 434f
 efeitos citopáticos do, 470f, 480
 em transplantados, 483, 484, 814, 816
 estrutura e composição do, 480, 484
 infecções congênitas, 440, 471, 480, 778q
 infecções perinatais, 441q, 482, 482f, 483, 484
 latência e infecções persistentes, 437, 480, 482
 mononucleose por, 483
 nas infecções pelo vírus HIV e Aids, 482, 483, 811q, 812q
 replicação do, 480
 resposta imune para, 483, 634
 tamanho do genoma do, 104q, 480
 testes diagnósticos para, 483, 777q, 778q
 tratamento e controle das infecções, 484

- Citometria de fluxo, 144
- Citosina, 46
na estrutura do DNA, 103f
- Citotoxicidade celular dependente de anticorpo (ADCC), 125, 137
- Citotoxina traqueal de *Bordetella pertussis*, 269
- Citrato
e formação de α -cetogluturato, 80, 83f
no ciclo de glioxilato, 85f
no ciclo do ácido tricarbóxico, 84f
- Citrobacter freundii*, 230q
- Cladophialophora bantiana*, 684
- Cladophialophora carrionii*, 683
- Cladosporium, 683, 703
- Clamidoconídios, 672
- Clamidósporos, 672, 675
- Claritromicina, 374, 395–396
- Classificação de Lancefield dos estreptococos, 209, 210q
- Classificação de Runyon para micobactérias, 319q
- Classificação e características das, 409q, 554q
encefalites por, 566
estrutura e composição dos, 555f
febres hemorrágicas por, 566, 567–569
transmissão dos, 566, 567
- Classificação filogenética das bactérias, 6, 46–48, 47q
- Clindamicina, 374, 396
- Clones
célula B, 133
e anticorpos monoclonais, 133
e anticorpos policlonais, 133
e técnicas de sonda, 118f, 120
em comunidades procarióticas
evolução e seleção natural em, 5
subtipagem de, 50–51
surto de infecção com, 50–51, 152
na engenharia genética, 115, 118–121
viral, 425
- Clonorchiose, 737q
- Clonorchis sinensis*, 737q, 745
- Cloranfenicol, 49q, 395
e síntese proteica, 49q, 374, 395
resistência a, 374, 395
- Cloreto de benzalcônio, ação antimicrobiana do, 62q
- Clorexidina, ação antimicrobiana de, 61q, 64
- Clorofila, 14
- Cloroplastos, 5, 14, 104
- Clorossomas, 16
- Clostridium baratii*, 179
- Clostridium botulinum*, 175, 179–180, 299, 302
associado a berinjela assada em óleo, 819, 820
botulismo por. Ver Botulismo
fatores de virulência, 153q
gastrenterite por, 797q
toxina de, 156, 179, 299, 819–820
transmissão de, 151
- Clostridium butyricum*, 179
- Clostridium difficile*, 175, 183, 299
e colite pseudomembranosa, 183
e diarreia associada a antibióticos, 183, 396
gastrenterite por, 796, 799q
- Clostridium histolyticum*, 182
- Clostridium novyi*, 182
- Clostridium perfringens*, 175, 179, 181–182, 181f, 299, 302
enzimas degradantes dos tecidos de, 158
gangrena gasosa por, 803. Ver também
Gangrena gasosa, clostrídica
gastrenterite por, 797q
toxinas de, 156–157, 181–182, 299
transmissão de, 151
- Clostridium septicum*, 182
- Clostridium sordellii*, 182
- Clostridium tetani*, 175, 179, 180–181, 299, 302
fármacos de escolha para, 181, 387q
toxina de, 156, 180–181, 299
transmissão de, 151
- Clotrimazol, 707f, 709
- Cloxacilina, 385, 390
- Coaglutinação, 201
- Coagulação intravascular disseminada (CID), 158
lipopolissacarídeos causando, 158
- Coagulase, 158
estafilocócica, 158, 201, 202
teste laboratorial para, 204
Yersinia pestis, 279
- Coccidioides immitis*, 673q, 686, 686q
epidemiologia do, 689
morfologia e identificação do, 686
nas infecções pelo vírus HIV e Aids, 812q
patogênese do, 687
testes diagnósticos para, 687–688, 755, 761q, 763
- Coccidioides posadasii*, 673q, 686, 686q
- Coccidioidina, 687, 688, 690q, 693
- Coccidioidomicose, 673q, 686–689, 690q
diagnóstico da, 687–688, 690q, 755, 761q
nas infecções pelo vírus HIV e Aids, 687, 688, 812q
- Cocos anaeróbios, 166q
- Códon na expressão gênica, 112, 113f
- Coelhos
doença hemorrágica nos, 548, 549
infecções por poxvírus nos, 494, 497
sífilis nos, 329
- Colagenase, 158
- Colecistite, testes diagnósticos em, 757q
- Cólera, 255–258
epidêmica, 50, 110, 257–258
exotoxina na, 157
fármaco de escolha para, 257, 387q
fatores de virulência na, 153, 153q
processo infeccioso na, 152, 158, 256
sorogrupos e sorotipos na, 50, 157, 159, 255–256
- Coleta de espécime e processamento, 754
da urina, 769
das secreções respiratórias, 770–771
do líquido cefalorraquiano, 770
do sangue, 767–768
do trato gastrointestinal, 772
em abscessos e infecções de ferida, 767
identificação do, 753
nas infecções clamidiais, 774
nas infecções estreptocócicas, 215, 771, 772
nas infecções virais, 774, 776q–778q
- Colicinas (bacteriocinas) produzidas por, 233
doenças causadas por, 233–236
epidemiologia, prevenção e controle das, 236
imunidade para, 236
morfologia e identificação das, 229, 231, 236
identificação rápida das, 231q
na microbiota normal, 166q, 233, 236
- Salmonella*, 238–241
- Shigella*, 236–238
testes diagnósticos para, 236
toxinas e enzimas produzidas por, 233, 237
tratamento das infecções, 236
- Colicinas, Enterobacteriaceae produtoras de, 233
- Colite, testes diagnósticos para, 758q
pseudomembranosa, 175, 178, 183, 299
- Colo, microbiota normal do, 171
- Colonização
formação de biofilme na, 160
microbiota normal na prevenção da, 166
- Coloração ácida, 39
- Coloração álcool acidorresistente, carbolfucsina, 39, 755q
- Coloração de anticorpo imunofluorescente (IF), 755
- Coloração de calcofluorado, 755
- Coloração de Gram, 23–24, 39, 754–755, 755q
e classificação bacteriana, 44
no critério de classificação, 6
para *Legionella pneumophila*, 306f
para *Pseudomonas aeruginosa*, 246f
procedimento de coloração na, 39, 754–755, 755q
- Coloração de Ziehl-Neelsen para micobactérias, 313, 315f, 755, 755q
- Colorações básicas, 39
- Coltívirus, 543, 548, 554q, 567
- Comamonas*, 246q
- Complementação nas interações de vírus, 426
- Complexo de ataque à membrana, 147
- Complexo *Mycobacterium avium*, 313, 314q, 321–322
classificação do, 319q
fármacos de escolha para, 322, 388q, 809–810
na infecção pelo vírus HIV, 811q
testes diagnósticos para, 322, 809
- Complexo principal de histocompatibilidade (MHC), 125, 127, 129–131, 131f, 147
características poligênicas e polimórficas do, 129
classe I, 126q, 129
classe II, 126q, 129
no processamento e apresentação antigênica, 131–132
e células T CD4, 127, 131, 138
classe III, 129
e receptor de célula T, 131f
e superantígenos, 131f, 132, 150
fenômeno de restrição, 129
genes do, 126q, 129–130
no processamento e apresentação antigênica, 131–132
e células T CD8, 127, 131, 132, 138
estrutura molecular, 130, 131f
e células matadoras naturais, 125
- Componentes da superfície microbiana reconhecidas de moléculas adesivas (MSCRAMMS), estafilocócicas, 201
- Compostos a base de mercúrio, ação antimicrobiana dos, 61q, 63
- Compostos a base de prata, ação antimicrobiana do, 61q, 64
- Compostos de amônio, quaternário, ação antimicrobiana de, 61q–62q, 64, 420
- Compostos de cloro, ação antimicrobiana de, 61q, 64, 420

- Compostos de iodo, ação antimicrobiana dos, 61q, 64,420
- Comunicação entre o clínico e o laboratório no diagnóstico microbiológico, 753–754
- Comunidades, procariontes, 5
- Conceito de *iceberg* das infecções virais, 432f
- Concentração celular
contagem de viabilidade celular como medida, 55,56q
curva padrão na, 55, 57f
- Concentração de fármacos, 60
bactericida mínima, 766
e atividade antimicrobiana, 60, 60f, 380
inibitória mínima, 766
variabilidade de, 380
- Concentração de íon de hidrogênio. *Ver* pH
- Concentração de sal e crescimento microbiano, 72,420
viral, 419
- Concentrados de fator de coagulação, hepatite associada a, 520
- Condiloma na sífilis, 328
- Conídeos, 672, 673f, 674f, 675, 675f, 676
- Conidióforos, 672, 674f, 675f
- Conjugação na transferência de DNA, 107, 108–109, 108f, 110f
- Conjuntivite
adenovírus, 461, 462, 464
clamidial, 363–364, 365, 774
enterovírus, 534q, 536
fármacos tópicos na, 385q
gonocócica, 289, 292
herpes simples, 472q, 473
testes diagnósticos para, 774, 778q
- Conjuntiva, microbiota normal da, 172
- Conjuntivite de inclusão, causada por clamídia, 363–364
- Conjuntivite de piscina, adenovírus na, 462, 464
- Consórcios, procariontes, 5
- Contagem celular viável, 55, 56q, 58
- Contraste em microscopia, 11, 12
- Conversão gênica, 107
- Cooperação na regulação da atividade enzimática, 98
- Coqueluche, 268–270
fatores de virulência da, 153, 268–269
testes diagnósticos, 269–270, 755, 757q, 760, 764
vacinação, 191, 270
- Corante de brometo de etídeo no gel, eletroforese, 115, 116f
- Corante Kinyoun, 755, 755q
- Corinebactérias, 187–191
Grânulos metacromáticos nas, 17, 188
- Corinebactérias não lipofílicas, 191
- Coriomeningite na toxoplasmose, 732
- Coriomeningite, linfocítica, 438f, 554q, 569, 570–571
testes diagnósticos para, 776q
- Coronavírus, 613–617
classificação e características, 409q, 412–413, 613–614
diagnóstico para, 616
epidemiologia dos, 616–617
estrutura e composição dos, 410f, 550f, 613, 614f
fármacos de escolha para, 617
gastrenterite por, 613, 616
genoma do, 613, 614f, 617
imunidade para, 616
prevenção e controle para, 617
propriedades dos, 613–615, 613q
replicação dos, 614–615, 615f
resfriado comum por, 583q, 613, 616, 617
rotas de entrada, 433q
síndrome respiratória aguda grave por, 613, 615–617
- Corpo elementar, clamidial, 359, 365
- Corpo reticular, clamidial, 359
- Corpos de inclusão de Cowdry nas infecções por herpes-vírus simples, 471
- Corpos de inclusão, 16
clamídia, 359, 361q, 366
coloração dos, 360, 360f, 774
virais, 418, 603
citomegalovírus, 480
paramixovírus, 594, 596f
poxvírus, 495
reovírus, 544
sarampo, 594, 596f
vírus herpes simples, 471
- Corpos de Negri na raiva, 418, 621–622, 623f, 625
- Corpos laterais nos poxvírus, 493, 494q
- Corpúsculos de Donovan, 773, 806
- Córtex do endósporo bacteriano, 38
- Corynebacterium amycolatum*, 188q, 191
- Corynebacterium auris*, 191
- Corynebacterium diphtheriae*, 187–191, 188f
aparência em formato de baqueta, 188, 188f
cultura de, 188
diagnóstico das infecções, 756q, 760
diagnóstico diferencial de, 297
fármacos de escolha para, 387q
infecções cutâneas, 189, 190
toxina de, 155–156, 189, 190 tipos de, 188
virulência de, 153, 153q, 154, 189
- Corynebacterium glucuronolyticum*, 191
- Corynebacterium jeikeium*, 188q, 191, 387q
- Corynebacterium minutissimum*, 188q, 191
- Corynebacterium pseudodiphtheriticum*, 188q, 191
- Corynebacterium pseudotuberculosis*, 191
- Corynebacterium striatum*, 188q, 191
- Corynebacterium ulcerans*, 191
- Corynebacterium urealyticum*, 188q, 191
- Corynebacterium xerosis*, 188q, 191
- Cotransdução, 110
- Coxiella burnetii*, 349, 350q, 354–355
estrutura antigênica de, 355
propriedades da, 354
tamanho do genoma da, 104q
- Crescimento de microrganismos, 55–56, 67–76
agrupamento celular no, 40
biomassa no, 55, 56f
curva no, 55, 57–58, 57f
de *Haemophilus*, 265, 266q
divisão celular no, 40
dos fungos, 676
e novo crescimento retardado no efeito pós-antibiótico, 380
e sobrevivência no crescimento lento, 57
exponencial, 55–57, 56f
manutenção do, 58
taxa de crescimento constante no, 55–56
fases da, 57–58, 57f, 57q
definição de, 55
fatores ambientais afetando, 69–72
aeração, 71–72
pH, 70, 73, 153–154, 378
temperatura, 70–71, 71f, 74, 153–154
medição das concentrações microbianas no, 55
contagem de células no, 55, 56q
metabolismo no, 77
dióxido de carbono e ciclo de Calvin no, 82, 84
do acetato, 80–81
requerimento de nutrientes para, 68–69, 69–70
mudanças morfológicas durante, 40
nas culturas contínuas, 58
nas culturas de batelada, 57
no cultivo, 67–76
nutrição no, 68–69, 69–70, 73
e estreptococos nutricionalmente variantes, 218
nas culturas de enriquecimento, 73, 74q
parede celular no, 31
predição do, 56–57
pressão osmótica afetando, 72, 91
requerimento de ferro no, 21, 69, 160
tempo de geração no, 56
tempo dobrado no, 56, 56f
- Crescimento exponencial, 55–57, 56f
manutenção do, 58
como fase na curva de crescimento, 57, 57f, 57q
- Cresol, ação antimicrobiana do, 61q
- Crianças. *Ver também* Lactentes e neonatos
botulismo em, 179
candidíase em, 696
encefalite por bunivírus em, 566
faringite estreptocócica em, 214
febre hemorrágica na dengue em, 565
gastrenterite em, 547q, 796–800
giardíase em, 716q
infecções pelo vírus da caxumba em, 601–603
infecções pelo vírus da hepatite A em, 514, 514q, 520
infecções pelo vírus da hepatite B em, 514, 514q, 521, 523, 648–649
infecções pelo vírus HIV e Aids em, 660, 663, 663f, 664
infecções pelo vírus *influenza* em, 584, 586, 588, 597f
infecções pelo vírus *parainfluenza* em, 594–596, 597f, 598
infecções pelo vírus sincicial em, 597f, 598, 599, 600
infecções pelo vírus varicela-zóster em, 476, 477–478, 479
prevenção de, 479–480
infecções por adenovírus em, 462, 547q, 597f
infecções por astrovírus em, 547q
infecções por bocavírus em, 454–455
infecções por calicivírus em, 547q
infecções por citomegalovírus em, 482f, 483
infecções por coronavírus em, 616
infecções por enterovírus em, 534q, 536–537
infecções por Epstein-Barr vírus em, 485, 486f, 487
infecções por *Escherichia coli* em, 234
infecções por herpes-vírus-6 em, 487
infecções por herpes-vírus-7 em, 487
infecções por poliovírus em, 532–533

- infecções por rinovírus em, 539
 infecções por rotavírus em, 546–547, 547q
 infecções por vírus Coxsackie em, 534q, 536
 infecções respiratórias em, causas comuns de, 439q
 malária em, 728, 729
 meningite em, 235, 785–787
 metapneumovírus em, 597f, 600, 601
 molusco contagioso em, 503
 osteomielites em, 802
 prevenção, 533
 raiva em, 622, 625
 rubéola em, 607–609
 síndrome de Reye em, 584
tinea capitis em, 680
 vacinação contra o vírus da varíola em, 499
 vírus do sarampo em, 603, 605, 606
 Criptococose, 673q, 697–699, 697f, 703
 diagnóstico, 698–699, 762q
 epidemiologia e controle da, 699
 história natural da, 698f
 meningite na, 699, 786, 812q
 nas infecções pelo vírus HIV e Aids, 699, 811q, 812q
 tratamento da, 699
 Criptosporidiose, 722–723
 nas infecções pelo vírus HIV e Aids, 722, 812q, 813q
 Cristalografia, raio-x, estrutura viral em, 414
 Cristas, mitocondriais, 14
 Cromatóforos, 16
 Cromatografia
 coluna, para vírus, 418
 líquido de alta eficiência, para micobactérias, 319
 Cromoblastomicose, 673q, 682–684, 683f
 Cromomicose, 682–684, 683f
 Cromossomos
 eucarióticos, 6, 103–104
 procarióticos, 4, 16, 104–105
 replicação de, 40, 106
 transferência de, 107–111
 Crupe, viral, 439q, 583q
 nas infecções pelo vírus, 583q, 595
Cryptococcus gattii, 673q, 697–699
Cryptococcus neoformans, 673q, 697–699, 697f
 meningite por, 786, 786q, 812q
 morfologia e identificação do, 697–698
 nas infecções pelo vírus HIV e Aids, 811q, 812q
 testes diagnósticos para, 762q
Cryptosporidium hominis, 722–723, 722f
Cryptosporidium parvum, 772
Cryptosporidium, 722f
Culex tarsalis, 560
 Cultura de enriquecimento, 73, 74q
 para o isolamento de *Salmonella*, 240
 Cultura em descontínuo, curva de crescimento na, 57
 Culturas, 67–76, 755, 756q–759q, 760
 aeração de, 71–72
 contagem de células viáveis em, 58
 contínuas, 58, 417
 Cunninghamella, 674f, 701
 de espécimes do trato gastrointestinal, 772
 de micobactérias, 313–315, 318–319
 de micoplasma, 50
 efeito da turvação, 55
 em abscesso e infecções de feridas, 767
 escarro, 771
 esterilização de, 59, 64
 isolamento de microrganismos em, 73–74
 linhas de células diploides nas, 417
 líquido cerebrospinal, 770
 medição da atividade de agente antimicrobiano nas, 378
 meios diferenciais nas, 73, 239–240
 morte celular nas, 58–60
 nas infecções clamidiais, 362, 364, 366, 367, 758q, 759q, 774
 nutrientes nas, 68–69, 69–70, 73
 para bactérias anaeróbias, 74q, 301
 para fungos, 676
 pH em, 73, 378, 419
 pressão osmótica e força iônica em, 72
 propagação de rotavírus em, 545–546
 requerimento para crescimento em, 67
 sangue, 767–768
 swabs de garganta para, 771
 taxa de crescimento em, 55–56
 temperatura em, 70–71, 74, 420
 urina, 769–770
 vírus, 417, 775, 779–780
 em infecção pelo vírus HIV, 782
 zonas de hemólise de bactérias em, 44
 Culturas de garganta, 770–771
 Cupriavidus, 246q
Curvularia, 676f, 684, 703
 CXCR4 em infecções pelo vírus HIV e Aids, 657, 658
Cyclopora cayetanensis, 723
Cynomys gunnisoni, 819
- D**
- D-Alanina, 26, 26f, 209
 Dalbavancina, 397
 Dapsona, 401–402
 Daptomicina, 373, 397
 definição de, 149
 Degeneração balonizante na varíola, 497
Delftia, 246q
Deltavírus, 512
 Demência nas infecções pelo vírus HIV e Aids, 660, 812q
 Dengue, 553, 554q, 564–566, 776q
 diagnóstico da, 565
 epidemiologia da, 435, 556f, 565–566
 febre hemorrágica na, 435, 565
 síndrome de choque na, 428, 564f
 transmissão da, 565–566
 Denitrificação, 69
 Densidade de biomassa, 55, 56f
 Densovirinae, 451
 Dentes, formação da cárie nos, 32, 169, 171, 218
 Deoxirribonuclease, estreptocócica, 212–213
Dependovírus, 451
 Derivado proteico purificado (PPD) no teste cutâneo da tuberculina, 317, 808
 Derivados de metais pesados, ação antimicrobiana dos, 61q, 63, 64
Dermacentor andersoni, 352, 567
Dermacentor variabilis, 352, 354
 Dermatite, pústula contagiosa, 501
 Dermatofitides, 680
 Dermatofitos, 673q, 677–681, 679q
 epidemiologia dos, 678–679
 morfologia e identificação dos, 678
 reações de hipersensibilidades para, 385q, 679, 680
 testes diagnósticos para, 680
 tratamento das infecções, 680–681
 Dermatofitos antropofílicos, 678
 Dermatofitos geofílicos, 678
 Dermatofitos zoofílicos, 678
 Desidrogenase e metabolismo de carboidrato, 81f
 Desinfetantes, 60, 61q–62q, 384, 385q
 para inativação viral, 420, 656
 Desnaturação, proteína, 62
 Despolimerases, 84
 Desrepressão, 107
 Desvio do monofosfato de hexose, 78, 82f
 Detergentes afetando a atividade do agente antimicrobiano, 378
 ações antimicrobianas dos, 373, 420
 Determinante antigênico (epítopo), 132, 146
 Deuteromicetos, 7
 Diarreia dos viajantes, 234, 236
 Diarreia
 aquosa, 796
 associada a antibióticos, 183, 396
 calicivírus, 547q, 548–551
 Campylobacter, 259, 260–261
 em infecções por *Escherichia coli*, 233–235, 236
 exotoxinas associadas com, 157
 na cólera, 256, 257
 nas infecções pelo vírus Coxsackie, 534q, 535
 nas infecções por *Bacillus cereus*, 178
 nas infecções por *Clostridium difficile*, 183, 299, 396
 nas infecções por rotavírus, 544–548
 nas infecções por *Shigella*, 237
 nas infecções por *Yersinia*, 281
 testes diagnósticos na, 758q, 772
 transmissão de bactérias na, 151
 Dicloroisocianurato de sódio, ações antimicrobianas do, 64
 Dicloxacilina, 390
 Didanosina, 443q
Dientamoeba fragilis, 722
 Diferenciação no processo de esporulação, 37
 Difosfato de adenosina, 67, 78–79, 92
 1, 3-Difosfoglicerato, 82, 82f, 86f
 Difteria, 156, 187–191, 387q
 antitoxina na, 190
 diagnóstico na, 756q, 760
 fármacos antimicrobianos para, 190
 toxina na, 156, 189, 190
 Difteroide, 166q
 Difusão
 de oxigênio, 72
 e transporte passivo em bactérias, 20
 facilitado, 20
 teste de difusão em disco, 204, 379, 766
 Digestão dupla no mapeamento de restrição, 118
 Digestão simples no mapeamento de restrição, 118
 Dinoflagelados, 6–7, 7f
 Dinucleotídeo adenina nicotinamida
 e metabolismo do fosfoenolpiruvato, 79, 82f
 e requerimento do fator V do *Haemophilus*, 265, 266–267, 266q
 na assimilação de nitrogênio, 87f, 88f
 na fosforilação de substrato, 92

- na respiração, 94–95, 96f
na via Embden-Meyerhof, 92, 93f
no ciclo de Calvin, 82, 86f
no ciclo do ácido tricarbóxico, 84f
no ciclo do glicólato, 85f
no desvio da hexose monofosfato, 78, 82f
- Dióxido de carbono
como fonte de carbono, 68, 82, 84, 86f
como requerimento para o crescimento microbiano, 68, 82, 84
e ciclo de Calvin, 82, 84, 86f
- Diphyllobothrium latum*, 742
- Dipicolinato de cálcio no núcleo do esporo, 37
- Dipylidium caninum*, 734, 736q, 743, 743f
- Diritromicina, 395
- Disenteria, 237–238, 796, 797q, 799q
amebiana, 721
- Disseminação hematogênica, de bactérias, 802
- Distribuição de fármacos, e atividade antimicrobiana, 380
- Distúrbios autoimunes, 143
- Distúrbios linfoproliferativos, vírus Epstein-Barr nas, 471, 484, 485–486
- Diversidade, biológica, 1, 4–5
classificação filogenética na, 46–48
de vírus, 2
na conversão gênica, 107
subtipagem de bactérias na, 50–51
- Divisão celular, bacteriana, 40
- DNA
análise de sequência, 46–48, 52, 118–119
em vírus, 425
método de Sanger, 118, 119f
procedimento *shotgunning* na, 119
técnica de cadeia polimerase na, 119, 120
técnica de Maxam-Gilbert na, 118–119
- bacteriano, 3–4, 6, 15–16, 104–105
agentes antimicrobianos que afetam o, 62, 72, 375
análise de sequência, 46–48, 52
clamidial, 359, 363
e expressão gênica, 112–115
elementos de inserção no, 105
em *Borrelia burgdorferi*, 334
em micobactérias, 319–320
em microrganismos patogênicos, 53, 152–153
em sistema de subtipagem, 51
ilhas de patogenicidade em, 104, 110, 152–153, 153q
na classificação filogenética, 46
no diagnóstico molecular, 763–765
replicação do, 40, 106
sequências promotoras no, 101, 112
transferência do, 107–111
- clonado, 118–121
complementar, 119
dano ao, 111
de agentes antimicrobianos, 62, 72, 375
resposta de SOS no, 111
- em vírus, 2, 105, 403, 407, 408, 409–411, 413, 415
análise sequencial, 423
ciclo de replicação, 417, 422f, 424q
em adenovírus, 459–460
mapeamento do, 423
na infecção pelo vírus HIV, 782
no herpes-vírus, 467, 468f, 469–470
- no poxvírus, 493, 495
no vírus da hepatite B, 509–510, 511f
no vírus Epstein-Barr, 484–489, 485, 486
nos bacteriófagos, 106
nos vírus tumorais, 633–634, 635, 642–649, 642f
sistema de classificação baseado no, 408, 409q
- estrutura do, 101, 103f
eucariótico, 6, 13. *Ver também* DNA repetitivo e expressão de gene, 112
e expressão gênica, 112
pares de quilobase de, 101
- extremidades coesivas do, 106, 116
fragmentos de restrição, 101, 115–118
na subtipagem bacteriana, 51
polimorfismo, 51, 120
separação por tamanho, 116f, 118
- ligação de
na clonagem, 116
na replicação de bacteriófago, 106
- mutações no, 111
número variável de repetições em tandem em, 52–53
ramificado, 764
repetitivo, 104
replicação do, 40, 106–107
satélite, 52
sequências curtas repetidas, 104
sequências de repetições em *tandem* em, 104
técnicas de amplificação, 120, 763–765
transcrição do, 112
transferência. *Ver* Transferência de DNA
transformação do. *Ver* Transformação, na
transferência do DNA
- DNA bases, 101
- DNA de fita dupla, 101, 103f
circular, do vírus da hepatite B, 509–510, 511f
em bacteriófagos, 105, 106
replicação semiconservativa do, 106
- DNA de fita simples em bacteriófagos, 105, 118–119
- Dnase, 182
- Doença branda, 531–532
- Doença cardíaca
na febre reumática, 214
quimioprofilaxia antimicrobiana na, 383
vírus Cocksackie, 533, 534q, 535
- Doença cavitária apical, 808
- Doença cerebrovascular, *Chlamydia pneumoniae* em, 366
- Doença da arranhadura do gato, 308, 309
- Doença da célula falciforme, infecção por *Salmonella* na, 240
- Doença da vaca louca, 628, 629
- Doença de Alzheimer, 629
- Doença de Brill-Zinsser, 350q, 352
- Doença de Castleman, 488
- Doença de Chagas, 725
- Doença de Creutzfeldt-Jakob, 3, 414, 437, 626, 627q, 628, 629
clássica, 628
variante nova, 628
- Doença de emaciação, crônica, 627q, 628
- Doença de Gerstmann-Sträussler-Scheinker, 3, 627, 628
- Doença de Hansen, 323–324
- Doença de Hodgkin, vírus Epstein-Barr na, 485–486, 648
- Doença de inclusão citomegálica, 480, 480f, 482
achados clínicos na, 483
epidemiologia da, 483–484
patogênese e patologia da, 485
tratamento e controle da, 484
- Doença de inclusão, causada por citomegalovírus, 471, 480, 482
- Doença de Lyme, 333–335, 388q
filariose linfática, 743
Lymphocryptovírus, 468
- Doença de Marek, 471, 648
- Doença de Newcastle, 592–593, 597
- Doença de Whipple, 53, 151, 310, 763
- Doença debilitante crônica, 627q
- Doença do enxerto *versus* hospedeiro, 815, 816, 816f
- Doença do pé e boca, 528, 529, 539–540
e doença da mão, pé e boca, 534q, 535
- Doença do sono, africana, 724–725
- Doença dos legionários, 305–308
- Doença granulomatosa crônica (CGD), 143
- Doença inflamatória pélvica, 803–804
clamidial, 363, 388q, 804
nas infecções pelo vírus HIV e Aids, 813q
testes diagnósticos para, 759q
- Doença periodontal, 170–171
nas infecções pelo vírus HIV, 813q
- Doenças da pulga, 151
riquettsias, 350q
Yersinia pestis, 279–281, 819
- Doenças de imunodeficiência primária, 143
- Doenças imunodeficientes, 143
- Doenças sexualmente transmissíveis, 772–773, 803–806
- Doenças transmitidas por carrapato
babesiose, 731–732
doença de Lyme, 333–335
encefalite, 553, 556f, 560–561, 562, 563f
febre do carrapato do Colorado, 553, 554q, 567
febre recidiva, 331–332, 333, 334, 335
flavivírus, 560–561, 562, 563f
mecanismos usados no inverno nas, 562, 563f
- Doenças transmitidas por piolho, riquetsiose, 350q, 352
- Doenças virais, emergentes, 428
- Dor de garganta. *Ver* Faringite
- Doxiciclina, 394
na leptospirose, 337
- Dracunculus medinensis*, 736q, 744–745
- Duodeno
Giardia lamblia no, 716q
Helicobacter pylori em, 261
microbiota normal do, 171
- E**
- E. coli* enteroinvasiva (EIEC), 235
- E. coli* enteropatogênica (EPEC), 234
- E. coli* enterotoxinogênica (ETEC), 234
- E. coli* Enteroagregativa (EAEC), 235
- E. coli* produtora de toxina Shiga (STEC), 234
- EBER RNAs, vírus Epstein-Barr, 485, 486
- EBNAs (antígenos nucleares do vírus Epstein-Barr), 485–486, 487, 648
anticorpos para, 486f, 487

- Echinocandinas, 705q, 709
Echinococcus granulosus, 737q, 748f
Echinococcus, 734, 746, 748
Echovírus, 534q, 536–537
 características dos, 530q
 classificação dos, 529
 meningite por, 786
 replicação dos, 530–531
Ecologia, 1
 dos vírus, 427–428
Econazol, 709
Ectima gangrenosa, 247
Ectótrico, 679q, 680
Eczema de vacínia, 500, 500f
Eczema herpético, 472q, 474
EDTA (ácido etilenodiaminotetracético), 31
Edwardsiella, 231q, 232
Efeitos citopáticos virais, 417, 418, 778q, 779
 do adenovírus, 460, 461f
 do herpes-vírus, 417f, 470, 470f
Efetores
 células T como, 138
 CD4, 138
 CD8, 138
 e atividade enzimática, 77, 97
Eggerthella, 298–299
Ehrlichia chaffeensis, 151, 350q, 353, 354
Ehrlichia ewingii, 350q, 353
Ehrlichiose, 349, 350q, 353
Eikenella corrodens, 251
Eikenella, 285
Elefantíase, 365, 743
Elementos com capacidade de resposta ao
 glicocorticoide no genoma do vírus da
 hepatite B, 510f
Elementos de sequências de inserção, 105, 111
Eletroforese de enzimas multilocus (MLEE) na,
 subtipagem de bactérias, 50–51
Eletroforese, 116, 116f
 subtipagem bacteriana por, 51
 técnica de SDS-PAGE, 144
 viral, 418
Eletroforese em gel
 na subtipagem de bactérias, 51
 separação de fragmentos de DNA por,
 115–116, 116f
 técnica de SDS-PAGE, 144
Eletroforese em gel de campo pulsado (PFGE), na
 subtipagem bacteriana, 51
Eletroforese em gel de poliácridamida contendo
 dodecil sulfato de sódio (SDS-PAGE),
 144
Eletroforese em gel pulsado, 116
Eletriformismo, 51
Eletrificação, 116
Elizabethkingia meningoseptica, 251
Empiema, 757q
Encefalite
 amebiana, 727
 arbovírus, 553, 556–562, 777q
 buniavírus, 566
 Califórnia, 554q, 557q, 566
 caxumba, 601, 602
 do carrapato, 553, 556f, 560–561
 mecanismos durante o inverno no, 562, 563f
 enterovírus, 534q, 536, 777q
 equina ocidental, 554q, 557–558, 557q, 560
 equina oriental, 554q, 557–558, 557q, 560
 equina venezuelana, 558
 flavivírus, 554q, 556–562
 herpes simples vírus, 470, 472q, 474
 Japonesa B. Ver Encefalite Japonesa B
 La Crosse, 427, 554q, 557q, 566
 Murray Valley, 554, 556f
 padrões de transmissão, 427
 sarampo, 438f, 440, 603, 604f, 605, 626, 627q
 St. Louis, 553, 554q, 557q, 560
 epidemiologia do, 556f
 transmissão de, 427, 561
 testes diagnósticos para, 777q
 togavírus, 553
 vírus da raiva, 621, 622, 777q
 vírus da rubéola, 608–609
 vírus do Nilo ocidental, 560
 vírus Nipah, 606–607
 vírus varicela-zóster, 477
Encefalite pelo vírus Powassan, 562
Encefalite russa de primavera-verão, 562
Encefalolopatia espongiiforme, 3, 414, 437, 440,
 627q, 628
Encefalomielite, 438f
 no sarampo, 604f, 605
Encefalopatia da marta, transmissível, 627, 627q
Encefalopatia
 espongiiforme, 3, 412, 428, 437, 440, 627–629,
 627q
 nas infecções pelo vírus HIV e Aids, 812q
Encephalitozoon cuniculi, 733
Encephalitozoon hellum, 733
Encephalitozoon intestinalis, 733
Endocardite, 793–794
 Candida, 696, 794
 Coxiella burnetii, 355
 estafilocócica, 200, 204, 794
 estreptocócica, 217, 794
 gonocócica, 289
 por bactérias anaeróbias, 301q
 quimioprofilaxia antimicrobiana na, 383
Endocervicite, 289, 803–804
Endoflagelos do *Treponema pallidum*, 327, 328,
 328f
Endolimax nana, 722
Endonucleases de restrição. Ver também Enzimas
 de restrição na subtipagem bacteriana, 51
 e transferência gênica, 107
 na análise do genoma viral, 416, 425
Endósporos, bacteriano, 36–39, 37f, 38f
 coloração dos, 40
 de bactérias gram-positivas, 36, 175–183
 processo e esporulação, 36–39, 38f
Endossimbiose, 5, 14
Endotoxinas, 29–30, 146, 156q, 157–158, 161
 características das, 156q
 de *Shigella*, 237
 ensaio de, 158
 febre por, 126
 lipopolissacarídeo como, 29–30, 156q,
 157–158, 161
Endotrix, 679q, 680
Energia, 77
 como requerimento para o crescimento, 67
 fonte de, 67–68, 91–96
 fosforilação de substrato, 92
 fotossíntese, 96
 respiração, 94–96
 vias de fermentação, 92–94
Engenharia genética, 101, 115–121
 bacteriófagos, 110
 DNA clonado na, 116–118, 118–121
 e cepas recombinantes no ambiente, 121
 mutações direcionadas na, 115, 119
 no desenvolvimento de vacinas, 120–121
 preocupações públicas sobre, 121
 preparação dos fragmentos de DNA por
 enzimas de restrição na, 115
 separação física de fragmentos de DNA por
 tamanho, 115–116
 sondas de hibridização na, 115, 120
 transformação na, 108, 110, 119
 vetores recombinantes virais, 426
Ensaio de liberação de interferon gama (IGRA), 808
 para detecção da tuberculose, 318
Ensaio de placa, viral, 418, 426
 adenovírus, 459f
Ensaio imunoenzimático (Elisa), 760
 na blastomicose, 690q, 693
 nas infecções pelo vírus HIV, 662, 663, 781–783
 nas infecções por clamídia, 364, 774
 para *Borrelia burgdorferi*, 334
 para patógenos entéricos, 772
Ensaio por enzimas imunoenzimáticos (Elisa),
 144, 760
 para *Brucella*, 273
 para vírus, 418
 coronavírus, 616
 nas infecções pelo vírus HIV e Aids, 781–783
 vírus da caxumba, 602
 vírus *influenza*, 585
Ensaaios com sondas não amplificadas, 363
Ensaaios de deslocamento de fitas, 764
Ensaaios de funcionalidade celular, 144–145
Entamoeba coli, 720, 722
Entamoeba dispar, 722
Entamoeba histolytica, 717q, 721f, 727
 gastrenterite por, 799q
 nas infecções pelo vírus HIV e Aids, 813q
Entamoeba moshkovskii, 722
Entecavir, 443q
Enterite, testes diagnósticos na, 758q, 777q
Enterobacter aerogenes, 33q, 233, 235
 morfologia e identificação das, 230q, 231q, 232
Enterobacter cloacae, 235
Enterobacter sakazakii, 235
Enterobacteriaceae, 229–241
 classificação das, 229–233
 estrutura antigênica, 231f, 232–233
 reações bioquímicas das, 229, 230q, 231
Enterobius vermicularis, 734, 735q, 738f
Enterococcus faecalis, 210q, 222, 223, 794
 fármacos para, 386q
 fatores de virulência, 153q
Enterococcus faecium, 222, 223, 223f, 378
 fármacos para, 386q
Enterococcus gallinarum, 223
Enterococos, 222–225
 endocardite por, 794
 fármacos para, 386q
 fatores de virulência, 153q
 na microbiota normal, 166q
 resistência a fármacos, 222–224, 223f, 377–378
Enterocolite
 em infecções por HIV e Aids, 813q
 Salmonella, 240
 testes diagnósticos em, 758q

- Enterotoxina termo estável de *Escherichia coli*, 234
- Enterotoxina termolábil de *Vibrio cholerae*, 256
- Enterotoxinas, 157, 796, 797q, 799q
Escherichia coli, 235
 estafilocócicas, 202, 203
 rotavírus, 546
- Enterovírus, 527, 531–540
 características dos, 530q
 classificação dos, 529, 530
 ecovírus, 536–537
 epidemiologia dos, 537
 estrutura e composição dos, 527–528
 infecções congênitas e perinatais, 440, 441q
 mecanismos de interferência, 427
 na vacina para poliovírus, 533
 no ambiente, 537–538, 540
 paralisia por, 533, 534q
 na poliomielite, 531, 533
 poliovírus, 531–533
 síndromes associadas por, 533, 534q
 testes diagnósticos para, 536–537, 776q, 777q, 778q
 tipos de, 529, 534q
 transmissão dos, 537–538, 540
 variação de hospedeiro para, 529
 vírus Coxsackie, 531–536
- Envelope
 das células bacterianas, 17, 24, 24f, 48–49
 camada de superfície cristalina de, 30
 e síntese do lipopolissacarídeo, 91, 91f
 viral, 407f, 408, 409q
 do HIV-1, 655f
 glicoproteínas no, 416
 lipídeos, 416, 416f
 mecanismo de brotamento, 416f, 423
 no ciclo de replicação, 424q
- Envelope celular dos procariontes, 17, 24, 24f, 48
 camada de superfície cristalina do, 30
 e síntese do lipopolissacarídeo, 91, 91f
- Enxofre, 17
 como requerimento para o crescimento microbiano, 69, 70
- Enzimas
 agentes antimicrobianos afetando, 63
 como proteínas alostéricas, 97
 degradantes dos tecidos, 158
 hidrólise das, 98
 inativação das, 98
 inibição do *feedback* das, 97, 97f
 modificação covalente das, 98
 na biossíntese, 77
 paredes celulares de bactérias afetadas por, 31
 produção bacteriana de, 51, 158–159
 regulação das, 97–98
 restrição, 101. *Ver também* Moléculas de RNA como enzimas de restrição, 102
 viral, 415, 416, 423
- Enzimas de restrição, 101, 115
 comprimento dos fragmentos de DNA produzidos por, 115
 e separação por tamanho, 115–116, 116f
 e transferência gênica, 107
 na análise do genoma viral, 416, 425
 na subtipagem bacteriana, 51
- Eosinófilos, 125
- Epidêmico, subtipo de bactérias em, 50
- Epidermophyton floccosum*, 673q, 678, 678f, 679q
- Epidermophyton*, 678, 678f, 679q
- Epididimite, clamídia, 363
- Epiglotite, testes diagnósticos em, 757q
- Epimastigotas
Leishmania, 725
- Epissomos, 104
- Epítomos, 134, 146
- erb-B*, 642
- Erisipela, 193, 213
- Erisipeloide, 193
- Eritema infeccioso, 453, 454, 454f, 455
- Eritema migratório na doença de Lyme, 333, 334
- Eritromicina, 395–396
 mecanismo de ação, 374, 395
 resistência à, 375–376, 395–396
- Eritrovírus, 451
- Erliquiose monocítica humana (HME), 350q, 353
- Erwinia*, identificação rápida para, 231q
- Erysipelothrix rhusiopathiae*, 187, 188q, 193–194
- Escarlatina, 213, 214
- Escherichia coli*, 229, 233–235
 atividades metabólicas determinadas por plasmídeos, 105q
 bacteriófagos associados com, 106–107, 118–119
 como anaeróbio facultativo, 295, 296
 cultura para, 229
 meios de cultura diferenciais na, 73
 diarreia por, 233–235, 236
 divisão celular nos, 40
 DNAna, 101
 e infecções por *Bacteroides fragilis*, 300, 795
 enteroagregativa, 235
 enterohemorrágica, 234
 enteroinvasiva, 235, 797q
 enteropatogênica, 234, 236, 798q
 enterotoxinogênica, 234, 797q
 enzimas degradantes do tecido de, 158
 epidemiologia, prevenção e controle da, 236
 estrutura celular nos, 20f, 30, 31f
 membrana externa nos, 28, 28f, 30
 fármacos de escolha para, 386q
 fatores de virulência, 153q
 flagelo da, 34f
 gastroenterite por, 796, 797q
 genética da, 104q, 109, 112, 113–115
 identificação rápida para, 231q
 infecções urinárias por, 233, 386q, 800
 medida de concentração celular, 55
 meningite por, 235, 786, 786q
 metabolismo da glicose na, 98
 metabolismo de fosfoenolpiruvato na, 79
 morfologia e identificação da, 229, 231–232
 na microbiota intestinal normal, 233, 236, 765
 nucleóides na, 16f
 O157:H7, 758q
 pelos da, 36, 36f, 109f, 154
 peritonite e abscesso abdominal por, 795
 pneumonia por, 791q
 reações bioquímicas nos, 230q
 secreção de proteína na, 22–23, 22f
 sepsse por, 235, 386q
 sistemas de transporte, 20
 substituição de base nos, 111
 subtipo de, 51
 temperatura afetando, 71
 testes diagnósticos para, 756q, 757q, 758q
- toxicidade do peróxido de hidrogênio, 72
- toxina Shiga de, 234, 797q
- transmissão da, 151
- Escotocromógenos, micobacterianos, 319, 319q
- Esféfulas, 686
- Esferoplastos, 32, 345, 371
- Esferulina, 687, 688
- Esfoliação bolhosa, 203
- Esfregaço de Tzanck, vírus da varicela-zóster no, 478
- Espaço periplásmico em bactérias gram-negativas, 30
- Espécies
 bacterianas, 46
 eucarióticas, 6, 46
 número estimado e conhecido de, 53, 53q
- Espécies de *Acinetobacter*, 166q, 249–250, 251, 386q
- Espécies de *Actinomyces*, 187, 195, 297–298, 298f
 como anaeróbios aerotolerantes, 188q
 fármaco de escolha para, 195, 387q
 infecções associadas a, 296q, 301q
- Espécies de *Anaplasma*, 353–354
- Espécies de *Bacteroides*, 295, 296, 300, 301q
 peritonite e abscesso abdominal por, 795
 testes diagnósticos para, 757q
 tratamento das infecções, 300, 301, 386q
- Espécies de *Bartonella*, 53, 151, 308–310, 812q
- Espécies de *Campylobacter*, 255, 259
- Espécies de *Candida*, 166q
- Espécies de *Capnocytophaga*, 171, 250
- Espécies de *Chlamydia*, 5, 359, 773–775
 culturas de, 362, 364, 366, 367, 758q, 759q, 774
 diagnóstico molecular, 362, 363–364, 367, 764, 774
 fármacos de escolha para, 388q
 genoma de, 104q, 359
 propriedades de coloração, 359–360
 teste de detecção de antígeno, 367, 760, 773–775
 testes diagnósticos para, 758q, 759q
- Espécies de *Citrobacter*
 doenças causadas por, 235
 morfologia e identificação das, 230q, 231q, 232
- Espécies de *Clostridium*, 175, 178–183, 179f, 295, 296, 296q, 299
 fármacos de escolha para, 180, 181, 182–183, 387q
 gangrena gasosa por, 803. *Ver também* Gangrena gasosa, clostrídica
 infecções associadas a, 301q
 microbiota normal, 166q
 transmissão de, 151
- Espécies de *Corynebacterium*, 166q
- Espécies de *Ehrlichia*, 151, 349, 350q, 353–354
- Espécies de *Enterobacter*, 229, 233
 fármacos de escolha para, 386q
 morfologia e identificação das, 230q, 231q, 232
 polímero extracelular na, 33q
- Espécies de *Fusobacterium*, 166q
- Espécies de *Haemophilus*, 265–275
 características e requerimento de crescimento das, 265, 266q
 fármacos de escolha para, 267, 387q
 feridas genitais por, 806q
 genoma das, 104q
 lipo-oligossacarídeo das, 30, 266, 287
 meningite por, 266, 267, 786, 786q

- na microbiota normal, 166q
 pneumonia por, 792q
 testes diagnósticos para, 266–267, 756q, 757q, 759q, 773, 806q
 transferência de DNA nas, 111, 265
- Espécies de *Klebsiella*, 229, 235
 atividades metabólicas determinadas por plasmídeo nas, 105q
 estrutura antigênica, 232
 fármacos de escolha para, 387q
 morfologia e identificação das, 230q, 231q, 232
 pneumonia por, 235, 791q
 reações bioquímicas das, 230q, 232
- Espécies de *Malassezia*, 673q
- Espécies de *Moraxella*, 251
- Espécies de *Morganella*, 235
 fármacos de escolha para, 387q
 morfologia e identificação, 230q, 232
- Espécies de *Neisseria*, 166q, 285–293
- Espécies de *Orientia*, 349–353
- Espécies de *Pasteurella*, 279, 282
- Espécies de *Peptoniphilus*, 199, 296q, 299
- Espécies de *Peptostreptococcus*, 218, 299
 infecções associadas com, 210q, 218, 299, 301q
 locais anatômicos para, 210q, 296q, 301q
 na microbiota normal, 166q
 testes diagnósticos para, 199, 210q
- Espécies de *Prevotella*, 296, 296q, 301q
 fármacos de escolha para, 386q
 na microbiota normal, 166q
- Espécies de *Propionibacterium*, 166q, 187, 188q, 296q, 298
- Espécies de *Proteus*, 229, 235
 fármaco de escolha para, 387q
 morfologia e identificação das, 34f, 230q, 231q, 232
 reações bioquímicas nas, 230q
- Espécies de *Providencia*, 235
 estrutura antigênica nas, 232
 fármacos de escolha para, 387q
 morfologia e identificação das, 231q, 232
- Espécies de *Pseudomonas*, 245–248, 246q, 251
 amostras recombinantes, 121
 atividades metabólicas dependentes de plasmídeos nas, 105q
 fármacos de escolha para, 247–248, 387q
 formação de biofilme, 160, 245
 identificação rápida de, 231q
 mapa genético das, 109
 osteomielite por, 802
 permeabilidade da membrana externa da parede celular, 28
 pneumonia por, 791q
 secreção proteica por, 23
- Espécies de *Rickettsia*, 5, 349–353
 antígenos e sorologia das, 349–351
 epidemiologia das, 352
 fármacos de escolha, 349, 352, 388q
 infecções associadas com, 350q, 351
 propriedade das, 349
 tamanho do genoma nas, 104q
- Espécies de *Salmonella*, 229, 238–241, 240
 classificação das, 238
 doenças causadas por, 238–239, 239q, 387q
 epidemiologia, prevenção e controle, 240–241
 estruturas antigênicas nas, 232, 233q
 fármacos de escolha para, 387q
- fatores de virulência, 153q
 flagelo das, 34f, 238
 gastroenterite por, 239q, 240, 796, 798q
 identificação rápida nas, 231q
 imunidade para, 240
 mapa genético das, 109
 membrana externa da parede celular das, 28, 29f
 morfologia e identificação das, 232, 238
 nas infecções pelo vírus HIV e Aids, 811q, 813q
 no bioterrorismo, 820
 reações bioquímicas nas, 230q, 232, 238
 resistência a fármacos das, 378
 síntese do lipopolissacarídeo do envelope celular nas, 91f
 testes diagnósticos para, 239–240, 757q, 758q
 tratamento das, 240
 variações nas, 238
- Espécies de *Serratia*, 229, 233, 235
 fármacos de escolha a, 387q
 morfologia e identificação das, 232
 identificação rápida na, 231q
 reações bioquímicas na, 230q
 resistência a fármacos nas, 378
- Espécies de *Shigella*, 229, 236–238
 epidemiologia, prevenção e controle das, 238
 estrutura antigênica, 236
 fármacos de escolha para, 237–238
 gastroenterite por, 797q, 798q
 imunidade para, 237
 morfologia e identificação de, 230q, 231q
 no bioterrorismo, 820
 patogênese e patologia, 236–237
 processo aderência-invasão, 155
 reações bioquímicas das, 230q
 resistência a fármacos das, 238
 testes diagnósticos para, 237, 758q
 toxinas produzidas por, 237
 tratamento das infecções, 237–238
 virulência das, 153q
- Espécies de *Vibrio*, 154, 157, 255–258
 de importância médica, 256q
 estrutura celular nas, 16
 flagelo das, 34f
 gastroenterite por, 796, 798q
 infecções epidêmicas, 50, 110, 257–258
 no bioterrorismo, 820
 processo infeccioso, 152
 testes diagnósticos das, 257, 758q, 760
 toxinas de, 157, 256
 transmissão das, 151, 258
 tratamentos das infecções, 257, 387q
 virulência das, 50, 110, 153, 153q
- Espécies de *Yersinia*, 232, 279–282, 820
 fármacos de escolha para, 281, 282, 387q
 fatores de virulência, 153q, 154, 279
 gastroenterite por, 796, 799q
 motilidade de, 154, 281
 no bioterrorismo, 819
 processo aderência-invasão, 155
 secreção de proteínas por, 279
 testes diagnósticos para, 280, 758q
 transmissão das, 151
- Espécimes de broncoscopia, 771
- Espécimes de lavagem broncoalveolar, 771
- Espectinomicina, 377, 399
- Espectrometria de massa (MS), 765
- Espectrometria de massa por tempo de voo e de ionização e dessorção a laser assistida por matriz (MALDI-TOF MS), 187, 765
- Espiroquetas, 327–337
 fármacos de escolha para, 388q
- Esporângio, 672, 675
- Esporangióforo, 672, 673f, 674f, 675
- Esporangiósporos, 360f, 672, 674f
- Esporocistos
Toxoplasma, 718q, 732
 trematódeo, 719
- Esporos, bacterianos, 36–39, 37f, 38f
 coloração dos, 40
 córtex do, 37
 de bactérias gram-positivas, 36, 175–183
 germinação dos, 36, 38–39
 no critério de classificação, 5
 parede dos, 37
 resistência ao calor dos, 37
- Esporos, fúngicos, 672, 675
- Esporotricose, 673q, 681–682, 681f, 762q
- Esporoetriquina, 682
- Esporozoários, 7, 715
 classificação dos, 715
 intestinais, 722–723
 sanguíneos, 727–732
- Esporozoítos
Plasmodium, 728
Toxoplasma, 732
- Esquistossomose, 746
- Esquizontes, *Toxoplasma*, 732
- Estado de Fago, 106, 107
- Estafilococos, 199–205,
 coagulase negativos, 199, 202
 coagulase positivos, 158, 199, 204
 endocardite por, 794
 enzimas produzidas por, 158, 201
 fatores de virulência, 153q, 202, 203
 gastroenterites por, 797q
 infecções do trato urinário por, 801
 nas infecções pelo vírus HIV e Aids, 812q
 osteomielite por, 802
 paredes celulares, 25f, 200
 camada de peptidoglicano nos, 24, 201
 síntese e crescimento, 31, 31f, 200
 penicilinase-produtores, 205, 386q
 pioderma por, 214
 pneumonia por, 791q
 síndrome da pele escaldada por, 202, 203
 síndrome do choque tóxico por, 157, 202, 203
 testes diagnósticos para, 203–204, 756q, 757q, 759q
 toxina de, 157, 201–202
 transmissão dos, 151, 205
 tratamento das infecções, 204–205, 386q
 fármacos resistentes no, 200, 204–205, 377, 396
- Estafiloquinase, 201
- Estágio de ativação na germinação do esporo, 38
- Estágio de crescimento na germinação de esporos, 113
- Estavudina, 443q
- Esterilização, 59, 60
 aplicação do calor na, 64, 71
 curva de morte na, 59
 inativação viral na, 420
- Esterilizantes da fase vapor, ação antimicrobiana dos, 62q, 64

- Estômago
 estomatite papular, 494q
Helicobacter pylori no, 261
 microbiota normal do, 171
 vesicular, 426, 619, 620f
- Estreptococos, 209–222
 aderência dos, 32
 atividades metabólicas mediadas por
 plasmídeos nos, 105q
 cápsula dos, 211, 219, 221
 classificação dos, 209
 endocardite por, 217, 794
 estrutura antigênica, 219
 exotoxinas de, 157, 213
 fatores de virulência, 212
 grupo A, 209–211, 383
 diagnóstico do, 756q
 e reações de hipersensibilidade do tipo III,
 142
 enzimas produzidas por, 158, 212
 fármacos para, 216, 386q
 fímbrias de, 154
 glomerulonefrite por, 142, 214, 216
 quimioprofilaxia para, 216
 resposta imune para, 142, 215, 219
 grupo B, 209, 210, 216–217
 diagnóstico de, 756q
 fármacos para, 386q
 grupo C, 209, 210, 217, 386q
 grupo D, 209, 217–218, 222
 grupo de Lancefield, 209, 210q
 grupo E, 217
 grupo F, 209, 210, 217
 grupo G, 210, 217, 386q
 grupo H, 217
 grupo K-U, 217
 grupo N, 105q, 217
 importância médica, 210q
 meningite por, 786, 786q
 morfologia e identificação dos, 219,
 219f
 padrões de hemólise dos, 209, 210–211, 210q,
 213, 215
 parede celular dos, 26, 211, 212, 218–219
 anéis equatoriais na, 31, 31f
 síntese e crescimento, 31, 31f
 perda da, 221
 pneumonia por, 152, 221, 789, 791q
 polímeros extracelulares dos, 33q
 polissacarídeos nos, 32, 33q, 209, 219
 reações bioquímicas nos, 210–211
 resposta imune para, 142, 215, 221,
 380–381
 testes de detecção de antígenos, 215
 testes diagnósticos para, 215, 221, 756q,
 757q, 760
 toxinas e enzimas produzidas por, 157, 158,
 212–213
 transferência de DNA nos, 110
 tratamento das infecções, 216, 221, 386q
 resistência aos fármacos no, 221, 377
 vacinação, 221–222
 variantes nutricionais, 218
viridans, 210–211, 210q, 218, 220f, 225
 fármacos para, 386q
 na microbiota normal, 215–216, 218
- Estreptococos dependente de Piridoxal, 218
 Estreptococos não hemolíticos, 166q
 Estreptococos *viridans*, 210–211, 210q, 218,
 220f, 225
 fármacos para, 386q
 na microbiota normal, 215–216
- Estreptococos α -hemolíticos, 166q
 Estreptograminas, 397
 mecanismo de ação, 375
 resistência a, 378, 397
- Estreptolisina O, 158, 213, 215
 Estreptolisina S, 158, 213
 Estreptomina, 399
 mecanismo de ação, 374
 na tuberculose, 320, 399
 resistência à, 320, 374, 378, 399
 do enterococos, 222–223
 sensibilidade a, 49q
- Estreptoquinase, 158, 212
 Estrongiloidíase, 735q
 Estrutura celular, 11–41
 coloração de, 39–40
 crescimento que afeta, 40
 eucariótica, 13–15
 métodos de examinação óptica, 11–13
 procariótica, 15–39
- Estruturas citoplasmáticas
 nos eucariontes, 13–14
 nos procariontes, 16–17
- Estruturas secundárias em forma de alça na
 expressão gênica, 113
- Etambutol, 402–403
 na tuberculose, 320, 402–403, 807, 809
 resistência a, 378, 402–403
- Etanol
 ação antimicrobiana do, 61q, 64
 na via Embden-Meyerhof, 92, 96q
- Etapa de desnudamento nas infecções virais, 421
 adenovírus, 459
 coronavírus, 614
 paramixovírus, 593–594
 poxvírus, 495
 vírus *influenza*, 581
- Etapa de penetração nas infecções virais,
 421, 459
 paramixovírus, 593–594
- Eubactéria, 296, 298–299
 Eubactérias, 48–50, 296, 296q, 298–299
 comparadas com as arqueobactérias, 50
 genoma das, 104q
 parede celular das, 47q, 48–49
- Eucariontes, 6–7
 algas, 2, 6–7
 bolores, 7–8
 comparados com os procariontes, 2, 15–16, 18,
 48, 49q
 DNA nos, 6, 13, 104
 estrutura celular dos, 13–15, 14f, 15f
 evolução dos, 5
 expressão gênica nos, 112
 fotossíntese nos, 96
 fungos, 2, 7, 671
 genomas dos, 103–104
 invasão por bactérias, 155
 protozoários, 2, 7
 RNA ribossomal nos, 13, 102
- Eumicetoma, 685
 Evolução dos microrganismos, 1–2
 convergente, 46
 divergente, 46
- encariontes, 5
 procariontes, 4
 e classificação filogenética das bactérias, 6,
 46–48
 vírus na, 408
- Ewingella*, 232
 Exame da luz de Wood
 na pitiríase versicolor, 676
 nas infecções por dermatófitos, 680
- Exame de fezes, 772
 Exame de pus, 767
 Exame de transudato, 767
 exame de urina, 769–770, 800, 801
 Exame do escarro, 771
 na pneumonia, 789, 790, 791q
 na tuberculose, 807
- Exame do espécime do ouvido, 771
 Examinação em campo escuro, 11, 12f
 de *Leptospira*, 337
 de *Treponema pallidum*, 11, 12f, 327, 329, 755
- Exantema nas infecções virais, 436f, 439
 Exantema súbito, 471, 487
Exophiala jeanselmei, 684, 685
Exophiala werneckii, 677
Exophiala, 673q
- Exósporo, 38
 Exotoxina termo lábil
 de *Escherichia coli*, 234
 de *Shigella dysenteriae*, 237
- Exotoxinas, 155–157, 156q, 161, 234
 características das, 156q
 de *Escherichia coli*, 234
 de *Pseudomonas aeruginosa*, 246
 de *Shigella*, 237
 de *Yersinia pestis*, 279
 estreptocócicas, 157, 213
- Experimento de Griffith, 101, 102f
 Expressão do gene *lac*, 113–115
 Expressão do gene *trp*, 112–113, 114f
 Expressão, genética, 111–115
Exserohilum rostratum, 684
Exserohilum, 673q
 Exsudatos, examinação dos, 767, 772
 Extremidades coesivas do DNA, 106, 116
- F**
- Fago filamentoso, 106
 Fagócitos/fagocitose, 125
 evasão bacteriana da, 124, 159
 fagocitose por enrolamento, 159
 mecanismo antimicrobiano, 125
- Fagocitose facilitada, 137
 Faringe, microbiota normal da, 166q, 167, 169
 Faringite, 756q
 estreptocócica, 214
 testes diagnósticos para, 770–771
 viral, 439q, 472q, 583q
- Faringotonsilite, herpes simples, 472q
 Fármacos de inibição de fusões nas infecções pelo
 vírus HIV, 443q, 444, 665
 Fármacos β -lactâmicos, 384–394
 carbapenêmicos, 393–394
 cefalosporinas, 390–393
 enterococos resistentes aos, 223–224
 mecanismo de ação, 372

- monobactam, 393
penicilinas, 385, 389–390
- Fasceíte, necrosante estreptocócica, 213
Fasciola hepática, 737q, 745
Fasciolíase, 737q
Fasciolopsis buski, 735q, 741
- Fase de crescimento na esporulação de esporo bacteriano, 38
- Fase de declínio na curva de crescimento, 57f, 57q, 58
- Fase eritocítica do ciclo de vida do *Plasmodium*, 728
- Fase estacionária máxima na curva de crescimento, 57–58, 57f, 57q
- Fase exoeritrocitária no ciclo de vida do *Plasmodium*, 728
- Fator corda, micobacteriano, 316
- Fator de aglutinação, estafilocócico, 201
- Fator de alongamento EF-2, 49q
em difteria, 156, 189
- Fator de edema EF na toxina do antraz, 176
- Fator de iniciação na replicação do picornavírus, 530
- Fator de necrose tumoral- α , 134q
- Fator de necrose tumoral- β , 134q
- Fator estimulador de colônias de granulócitos e macrófagos, 134q
- Fator LF letal na toxina do antraz, 176
- Fator sigma no processo de esporulação, 37
- Fatores antifogocíticos, 159
- Fatores de colonização de *Escherichia coli*, 234
- Fatores de competência na transformação, 110
- Fatores de crescimento, 69, 70, 70f
requerimentos para *Haemophilus*, 265, 266q
- Fatores de fertilidade nos plasmídeos, 109, 110f
- Fatores estimuladores de colônia, 134q, 140
- Fatores F, 109
- Fatores F no plasmídeos, 109, 110f
- Fatores R, 109
- Favos, 680
- Fbp (proteína ligadora de ferro) da *Neisseria gonorrhoeae*, 287, 289q
de *Listeria monocytogenes*, 160, 193
e invasão, 69
- Febre, 126–127. *Ver também febres individuais*
lipopolissacarídeos provocando, 157
na malária, 728–729
puerperal estreptocócica, 213
testes diagnósticos na, 776q
- Febre amarela, 553, 554q, 562–564
epidemiologia da, 556f, 563
infecção clínica e subclínica, 438f
silvestre, 563, 564f
transmissão da, 427
tratamento, prevenção e controle, 563–564
urbana, 563, 564f
vacinação, 447q, 563–564
contaminação do vírus da hepatite B da, 433
- Febre botonosa, 353
- Febre da água vermelha, 731
- Febre da mordida do rato, 310, 337
- Febre das trincheiras, 308
- Febre de Haverhill, 310
- Febre de Malta, 271, 273
- Febre de Oroya, 308, 310
- Febre de Pontiac, 306q, 307
- Febre do carrapato do Colorado, 427, 553, 554q, 557q, 567
- Febre do gado do Texas, 731
- Febre do Nilo Ocidental, 553, 554q, 556f, 557q, 560
transmissão da, 561
vacinação para cavalos, 560
- Febre do Vale de San Joaquin, 687
- Febre do Vale do Rift, 554q, 566–567
- Febre entérica, 239, 240, 796, 798q
testes diagnósticos para, 758q
tratamento da, 240
- Febre faringoconjuntival nas infecções pelo adenovírus, 462
- Febre hemorrágica argentina, 570
- Febre hemorrágica boliviana, 570
- Febre hemorrágica de Junin, 570
- Febre hemorrágica de Machupo, 570
- Febre hemorrágica venezuelana, 570
- Febre maculosa, 349, 350q
achados clínicos na, 351
achados laboratoriais na, 351–352
controle da, 353
epidemiologia da, 352, 354
ocorrência geográfica, 353
prevenção, 354
- Febre maculosa das Montanhas Rochosas, 349, 350q, 351, 353
achados laboratoriais para, 351–352
epidemiologia da, 352
- Febre maculosa do Mediterrâneo, 350q, 351, 353
- Febre ondulante, 271, 273
- Febre Puerperal, estreptocócica, 213
- Febre Púrpura Brasileira, 268
- Febre Q, 350q, 354, 355
- Febre quebra-ossos, 564–566. *Ver também*
Dengue
- Febre recorrente, 331–332, 388q
- Febre reumática, 214–215, 217, 380–381
- Febre tifoide, 239, 241, 757q, 800
- Febres hemorrágicas, 553, 567–573
africana, 571–573
arenavírus, 569–571
bunyavírus, 566
com síndrome renal, 554q, 567–568
dengue, 565
filovírus, 571–573
pelo vírus Marburg, 571–573
sul-americana, 569–570
testes diagnósticos das, 776q
- Fenol, ação antimicrobiana do, 61q, 64
- Fenômeno de satelitismo nas culturas de *Haemophilus*, 265
- Fenótipo, 101, 425, 427
mascarando interações virais, 426
misturados nas interações virais, 426
reversão da mutação, 111
- Feohifomicose, 673q, 684, 684f
- Feridas genitais, 805–806
- Fermentação, 67, 72, 92–94
culturas de enriquecimento para, 74q
da glicose, 92
da lactose, genes associados com, 113–115
em organismos anaeróbios, 5
produtos da, 92, 96q
vias de, 92–94
- Fermentação da lactose, genes associados à, 113–115
- Fermentação de butanol-butirato, 96q
- Fermentação do Propionato, 96q
- Feromônios em *quorum sensing*, 5
- Fertilidade (*primer F*), 109
- Fezes de gato, toxoplasmose por, 732
- Fiálides, 672, 675f, 683f
- Fialoconídeos, 672
- Fibrinolisina, 158, 212
- Fibrose cística
Burkholderia cepacia em, 249
Pseudomonas aeruginosa em, 245–246
- Fígado
abscesso do, 721, 757q
carcinoma hepatocelular do, 509, 512, 513, 514, 633q, 648–649
achados clínicos e sorológicos no, 517f
epidemiologia do, 521
interações vírus-hospedeiro no, 517
infecção por *Entamoeba histolytica* do, 721
infecções bacterianas anaeróbias do, 301q
infecções no, 814–815
na hepatite, 514, 522, 814
na leptospirose, 336
peliose hepática do, 309
transplante do, 813–815
- Filamentos em células eucariontes, 14
- Filariose, 744f
- Filobasidiella neoformans*, 697f, 698
- Filópodos na infecção por *Listeria monocytogenes*, 192–193
- Filoviridae, 553
- Filovírus, 554q, 571–573
classificação e características dos, 409q, 413, 571
estruturas e composição dos, 410f, 555f, 571, 572f
- Filtros na preparação de culturas de vírus, 779
- Fímbrias, bacterianas, 36, 154, 286. *Ver também*
Pili, bacterianos
- Finegoldia*, 296q, 299
- Fingerprinting* químico, na subtipagem de bactérias, 51
- Fita modelo de DNA, 101
- Flagelados
classificação dos, 715
intestinais, 716q
- Flagelina, 33–34, 232
- Flagelos
bacterianos, 32–36, 231f, 232
coloração dos, 39–40, 39f
estruturas dos, 32–35, 34f, 35f
motilidade dos, 35–36, 35f
peritríquios, 32, 34f, 35, 40
eucarióticos, 15, 15f
- Flavivírus, 412, 423q, 424q, 553, 554q, 555–562
classificação e características, 409q, 555–557
encefalites por, 554q, 556–562
epidemiologia dos, 556f
forma e tamanho dos, 410f
genoma dos, 557
hepatite C. *Ver* Vírus da Hepatite C
patogênese e patologia nos, 558–559
propriedades antigênicas dos, 558
replicação dos, 557, 558f
taxa de mortalidade por, 557q
testes diagnósticos dos, 559
transmissão dos, 557, 561f, 563f
tumores associados aos, 633q
vias de entrada, 433q
- Flavobacterium*, 105q

- Flebotomíneos, infecções transmitidas pelos
bartonelose, 308–309
febre do flebotomíneo *Phlebotomus*, 554q, 566
leishmaniose, 726
- Flucitosina, 383, 705q, 706
- Fluconazol, 699, 705q, 706–709, 707, 707f
- 5-Fluorocitosina, 706
- Fluorocromos, 11
- Fluoroquinolonas, 377, 399–401, 400f
mecanismos de ação, 375, 400–401
- Fonsecaea compacta*, 683
- Fonsecaea pedrosoi*, 673q, 683, 683f
- Fonte de luz
e fotossíntese, 96
e inativação fotodinâmica dos vírus, 420
em culturas de enriquecimento, 74q
- Força iônica e crescimento microbiano, 72
- Força motriz de prótons, 67, 91
na fotossíntese, 68
na respiração, 68, 94–95
no transporte acoplado a ferro, 20, 67
- Forense, microbiana, no bioterrorismo, 53
- Formação da pseudomembrana
na colite por *Clostridium difficile*, 175, 178, 183, 299
na difteria, 189
nas infecções por *Shigella*, 237
- Formação de pano no tracoma, 362
- Formação de pseudotipo, 426
- Formação de sincícios nas infecções por paramixovírus, 594, 596f
- Formação e utilização do ácido poli-β-hidroxi-butírico, 16–17, 18f
- Formaldeído, ação antimicrobiana do, 61q, 62q, 64
nos vírus, 420
- Formas L das células bacterianas, 32, 49, 345
- Forquilha de replicação, 106
- Foscarnete, 443q, 444
- Fosfatase
desvio da hexose-monofosfato, 82f
e metabolismo dos carboidratos, 78, 81f
no ciclo de Calvin, 86f
- Fosfato de carbamoila, 94
- Fosfato
como fonte de fósforo, 69
requerimento de, 69
- Fosfatos de triose, 78, 82f
na fermentação heterolática da glicose, 92, 95f
na via do Embden-Meyerhof, 92, 93f
na via Entner-Doudoroff, 92, 95f
- Fosfoenolpiruvato, 78–80, 82f
e uso da glicose, 97f, 98
produtos finais biossintéticos do, 79f
- 2-Fosfoglicerato, 82f
- 3-Fosfoglicerato, 82, 82f, 84, 86f
- 6-Fosfogliconato, 92, 94f
- Fosforilação
oxidativa, 21
substrato, 78, 82f, 91
estratégias para, 92
na fermentação, 67
- Fotocromógenos, micobacterianos, 319, 319q
- Fotoheterotróficos, 96
- Fotolitotróficos, 96
- Fotossíntese, 14, 16, 68, 96
comparada a respiração, 68
- Fototaxia, 36
- Fragmentos de restrição, 101, 115–118
clonagem dos, 116–121
mapeamento de restrição, 118
mapeamento dos, 118
na subtipagem das bactérias, 51
preparação dos, 115
tamanho dos, 115
e separação por tamanho, 115–116, 116f
polimorfismo dos, 51, 120
- Francisella philomiragia*, 273
- Francisella tularensis*, 273–275
no bioterrorismo, 274, 820
tamanho do genoma da, 104q
vacinação, 275
- Frutose 6-fosfato, 78, 81f, 98f
- Fumarato no ciclo do ácido tricarbóxico, 84f
- Fungos, 2, 7, 671–710
classificação dos, 7, 673q, 715
classificação relacionada a, 672
como patógenos oportunistas, 673q, 694–697, 699–701, 702, 816f
no transplante de medula óssea, 816
crescimento e isolamentos dos, 676
dematiáceo, 672, 674–675, 682–683
diagnósticos das infecções, 680, 760, 761q–762q
coleta e preparação de espécime no, 754
microscopia nos, 755
dimórfico, 672, 674
hipersensibilidades para os, 703–704
na aspergilose, 703
na coccidioidomicose, 687
na dermatofitose, 679
imperfeitos, 7, 672
infecções cutâneas, 673q, 677–681
infecções endêmicas, 673q, 685–686
micoses subcutâneas, 673q, 681–685
micoses superficiais, 673q, 676–677
micotoxinas dos, 704
na microbiota normal, 765–766
parede celular dos, 674
perfeitos, 672
propriedades gerais dos, 672–676
quimioterapia antifúngica, 704–709, 710
quimiotróficos, 671
- Furúnculo nas infecções estafilocócicas, 203, 204
- Fusão binária, 40
na divisão celular bacteriana, 40, 56
- Fusarium*, 703
- Fusobactérias, 296q, 297, 301q
infecções associadas a, 301q
- Fusobacterium necrophorum*, 297, 300
- Fusobacterium nucleatum*, 297
- Fuzeon, 443q, 444
- G**
- Gado
aftovírus do, 539–540
doença do pé e da boca no, 539–540
encefalite espongiforme no, 627q, 628, 629
estomatites no, 494q, 619
infecções por poxvírus no, 494, 494q, 497, 501, 502f
tênia no, 742
vírus da febre do gado ovino, 592
- β-Galactosidase, 114
- Gametas, 6
- Gammaherpes-vírus, 468, 468q
- Ganciclovir, 443q
- Gangrena gasosa, clostridial, 175, 178, 181, 803
características clínicas da, 182, 803
diagnóstico da, 182, 803
diagnóstico diferencial da, 299
fármacos de escolha para, 182–183, 387q
patogênese da, 182
toxinas na, 157, 182, 299
- Gangrena, estreptocócica, 213
- Gardnerella vaginalis*, 297, 805
- Gastreenterite, 796–800
adenovírus, 461, 462, 463, 547q
astrovírus, 547q
calicivírus, 547q, 548–551
causas comuns da, 796, 797q
coronavírus, 613, 615–616
nas infecções pelo vírus HIV e Aids, 813q
rotavírus, 544–548, 547q, 796, 799q
Salmonella, 239q, 240, 796, 798q
testes diagnósticos da, 758q, 777q
viral, 439, 543, 547q
- Gastrite, *Helicobacter pylori*, 262
- Gatifloxacina, 400f
- Gemella*, 224, 224q
- Gene C do vírus da hepatite B, 510
- Gene da virulência da *borderdella bvgA*, 269
- Gene da virulência da *borderdella bvgS*, 269
- Gene *env* nos retrovírus, 637–638, 638f, 653, 654, 655f, 661, 781
- Gene *gag* nos retrovírus, 636, 637, 638, 638f, 639, 653, 655, 655f, 661
- Gene *inhA* na resistência à isoniazida, 320
- Gene *jun*, 642
- Gene L tardio na replicação do adenovírus, 460
- Gene *mecA* para resistência à nafcilina/oxacilina, 200, 204
- Gene *nefI* proteína Nef, 638f, 653, 661
- Gene *onc*, 639
- Gene *p53* gene, 642, 642f
- Gene *pol* nos retrovírus, 637, 638, 638f, 639, 653, 655, 655f, 661
- Gene *pro* nos retrovírus, 637, 638, 638f, 653, 655f
- Gene *Rb*, 642
- Gene *rpoB* na resistência à rifampina, 320
- Gene S do vírus da hepatite B, 510
- Gene *sis*, 642
- Gene *tatI* proteína Tat, 638, 638f, 653
- Gene *tax*, 638, 638f, 640
- Gene *tox* na difteria, 190
- Gene *vifI* Proteína Vif, 638f, 654
- Gene *vprI* Vpr proteína, 638f, 653
- Gene *vpuI* Vpu proteína, 638f, 653, 655
- Gene *vrrA* em *Bacillus anthracis*, 821
- Generalização, hipótese como base de, 1
- Gênero *Alfa herpesvirinae*, 468, 468q
- Gênero *Alpharetrovirus*, 637, 638f
- Gênero *Betaretrovirus*, 637
- Gênero *Deltaretrovirus*, 637, 638, 638f
- Gênero *Epsilonretrovirus*, 637
- Gênero *Gammaretrovirus*, 637, 638f
- Gênero *Henipavirus*, 592f, 593, 593q
- Gênero *Hepatovirus*, 507, 529
- Gênero *Hepevirus*, 512
- Gênero *Influenzavirus A*, 577, 578
- Gênero *Influenzavirus B*, 577, 578
- Gênero *Influenzavirus C*, 577, 578

- Gênero *Lagovirus*, 548
 Gênero *Lyssavirus*, 619
 Gênero *Molluscipoxvirus*, 494, 494q, 501
 Gênero *Morbillivirus*, 592f, 593, 593q
 Gênero *Nairovirus*, 554q
 Gênero *Nebovirus*, 548
 Gênero *Nupapapillomavirus*, 644
 Gênero *Orthobunyavirus*, 554q, 566
 Gênero *Phlebovirus*, 554q, 566
 Gênero *Respirovirus*, 592–593
 característica do, 593q
 classificação do, 593
 mapa genético do, 592f
 Gênero *Rhadinovirus*, 468
 Gênero *Roseolovirus*, 468
 Gênero *Rubivirus*, 607
 Gênero *Rubulavirus*, 592–593, 592f, 593, 593q
 Gênero *Sapovirus*, 547q, 548
 Gênero *Simplexvirus*, 468
 Gênero *Spumavirus*, 637, 641
 Gênero *Thogotovirus*, 578
 Gênero *Varicellovirus*, 468
 Gênero *Vesiculovirus*, 619
 Gênero *Vesivirus*, 549
 Gênero *Yatapoxvirus*, 494, 494q, 503
 Genes, 101–121
 do complexo de histocompatibilidade principal, 126q, 129–130
 dominantes, 104
 em eucariontes, 103–104
 expressão de, 101, 102, 111–115
 atenuação na, 112–113, 114f
 controle negativo e positivo na, 113–115
 mecanismos na, 111–112, 113f
 regulação da, 112–115
 repressão da, 107, 112
 viral, 421–423, 432
 nos procariontes, 104–105
 oncogenes, 633–634, 637–639, 638f, 639, 641–642
 organização dos, 101–106
 rearranjo, 111
 e diversidade da imunoglobulina, 136
 recessivos, 104
 supressor tumoral, 633–634, 642
 transferência dos, 107–111
 conjugação nos, 107, 108–109
 enzimas de restrições na, 107
 horizontal, 107
 mecanismos da, 107–111
 não recíproca, 107
 restrição na, 107
 transdução na, 107, 110
 transformação na, 107–108, 110–111
 vertical, 107
 Genes *rec* na recombinação e reparo, 107, 109
 e toxicidade do peróxido de hidrogênio, 72
 Genes *tra* na conjugação, 108
 Genes transformadores, 634–635, 639
 Genes *van* e fenótipos Van na resistência a vancomicina, 200, 223, 223f
 nos enterococos, 223, 223f
 Genética, 1, 101–121
 e classificação filogenética de bactérias, 6, 46–48
 e fragmentos de DNA, 116–121
 separação física por tamanho, 115–116
 separação por enzimas de restrição, 115
 e postulados de Koch da causa da doença, 150q, 151
 engenharia genética, 115–121
 expressão gênica, 101, 102, 111–115
 em vírus, 421–423, 432
 mutações e recombinação genética, 111
 organizações do genes, 101–106
 replicação, 106–107
 nos vírus, 421–423
 transferência do DNA, 107–111
 dos vírus, 420–425
 Gengivite
 causada por bactérias, 170–171
 nas infecções pelo vírus HIV e Aids, 813q
 Gengivoestomatite, herpes simples, 472q, 473, 473f, 475, 583q
 Genoma
 bacteriófago, 104q
 eucariótico, 103–104
 procariótico/bacteriano, 3, 5, 104–105, 104q
 análises de sequências de DNA no, 118–119
 tamanho do, 415–416
 vírus, 104q, 105–106
 ensaio quantitativo, 418
 mapeamento do, 425
 na mistura fenotípica, 426
 na recombinação, 426
 replicação do, 105, 421–423, 424q
 sistema de classificação baseado no, 408
 Genotipagem, na subtipagem de bactérias, 50–51
 Genótipo, 101, 425
 Gentamicina, 398
 na combinação terapêutica, 382
 resistência à, 222–223, 376
 Germinação do endósporo bacteriano, 36, 38–39
 Germinados, 36
Giardia lamblia, 716q, 719–720, 720f, 796, 799q
 Giardíase, 716q
 nas infecções pelo vírus HIV e Aids, 813q
Glaucomys volans, 352
 Gliceraldeído 3-fosfato, 78, 81f, 94f
 no ciclo de Calvin, 82, 86f
 Glicerol, difusão facilitada do, 20
 Glicilciclina, 394–395
 e inibição da síntese proteica, 374
 Glicocálice, bacteriana, 32
 Glicogênio, 17, 98, 98f
 Glicopiranosil-*N*-acetilgalactosamina e estreptococo do grupo F, 209
 Glicoproteína HN
 anticorpos para, 596, 602
 paramixovírus, 591, 593, 594, 594f
 vírus da caxumba, 602
 vírus *parainfluenza*, 594, 597
 Glicoproteínas, 407f, 408
 gp120, 654, 655f, 661q, 662, 781
 gp160, 661q, 662
 gp41, 654, 655f, 661q, 662, 781
 na parede celular bacteriana, 30
 no HIV, 654, 655, 655f, 661, 661q, 662, 781
 no vírus da raiva, 619–620
 no vírus Epstein-Barr, 485, 486
 no vírus herpes simples, 471
 no vírus *influenza*, 407f, 416, 577
 estrutura e função do, 578–581, 580f
 mudanças antigênicas no, 578q, 581, 587
 nos coronavírus, 613, 615f
 nos filovírus, 571, 572f
 nos paramixovírus, 591
 Glicosaminoglicano
 na *Borrelia burgdorferi*, 333
 no *Treponema pallidum*, 327
 Glicose 6-fosfato, 77–78, 92
 e regulação da utilização da glicose, 98, 98f
 produtos de final biossintético formados a partir, 77–78, 79f
 Glicose
 e crescimento microbiano, 68
 fermentação da, 92
 na via Embden-Meyerhof, 92, 93f
 nas culturas de enriquecimento, 74q
 no líquido cerebrospinal, 787q
 regulação da utilização, 98, 98f
 Glomerulonefrite, estreptocócica aguda, 142, 214, 216
 β-Glucana, 709
 na candidíase, 685–697, 709
 Glutamato, 88, 88f
 e assimilação do nitrogênio, 87–88, 88f
 Glutamina, 88, 88f
 e assimilação do nitrogênio, 88f
 Glutaraldeído, ação antimicrobiana do, 61q, 64
 Goma na sífilis, 328
 Gonaiotoxinas, 7
 Gonorreia, 285–290
 nas infecções pelo vírus HIV e Aids, 813q
 quimioprofilaxia da, 385q
 resistência a fármacos na, 290, 377
 testes diagnósticos para, 289–290, 758q, 759q, 760, 764, 772
Gonyaulax, 7
Gordonia, 195
 Gráfico de Arrhenius, 71, 71f
Granulicatella, 218
 Granulocitopenia, 384
 Granulócitos, 125
 Granuloma
 inguinal, 773, 806
 na blastomicose, 692
 na paracoccidiodomicose, 693
 na tuberculose, 315, 316, 321
 Granulomatose infantisséptica, 193
 Grânulos alimentares, reserva, síntese de, 91
 Grânulos de Volutina, 17, 91
 Grânulos metacromáticos, 17, 188
 Gravidez
 arenavírus, 570
 bacteriúria na, 801
 citomegalovírus, 482, 483, 484
 infecções pelo vírus HIV na, 663, 665
 infecções virais na, 440, 440f
 hepatites, 512, 521, 523
 herpes-vírus-6, 487
 parvovírus, 454
 rubéola, 607, 608, 609
 sarampo, 606
 varicela-zóster, 477
 vírus herpes simples, 474, 475
 vírus *influenza*, 584
 microbiota normal vaginal na, 172, 216–217
 sífilis na, 329
 toxoplasmose na, 732
 vacinação para poliovírus na, 533
 vacinação para varíola na, 500
 Gripe asiática, 587

- Gripe espanhola, 587
 Gripe russa, 587
 Gripe suína, 438f, 587, 587f
 Griseofulvina, 681, 709
 Grupo de células no crescimento bacteriano, 40
 nas infecções virais, 435, 780–781
 Grupos sulfidrilas, livres, agentes antimicrobianos
 removedores de, 63
 Guanina, 46
 na estrutura do DNA, 103f
 Guaxinim, vírus da raiva no, 620, 623q, 625
 Guerra biológica, 817–822. *Ver também*
 Bioterrorismo
gvrA na resistência a fluoroquinolona, 320
- H**
- Haemophilus aegyptius*, 266q, 267–268
Haemophilus aphrophilus, 266q, 268
Haemophilus ducreyi, 30, 265, 266q, 268
 testes diagnósticos para, 759q, 773, 806q
Haemophilus haemoglobinophilus, 268
Haemophilus haemolyticus, 265, 266q, 268
Haemophilus influenzae, 265–275, 287, 344
 características e requerimento de crescimento
 do, 265, 266q
 genoma do, 104q
 lipo-oligosacarídeos de, 30, 266, 287
 meningite por, 266, 267, 786, 786q
 pneumonia por, 791q
 testes diagnósticos para, 266–267, 756q, 757q
 transferência de DNA no, 110, 265
 vacinação, 266, 267, 787
Haemophilus parahaemolyticus, 265
Haemophilus parainfluenzae, 265, 266q, 268
Haemophilus paraphrohaemolyticus, 266q
Haemophilus segnis, 266q
Hafnia alvei, 232
Hafnia, 232
 Hanseníase, 313, 323–324
 Hantavírus, 554q, 566, 568–569
 epidemiologia das, 568f
 febre hemorrágica com síndrome renal por,
 567–568
 síndrome pulmonar por, 151, 557q, 566,
 568–569
 Haplótipos, 130
 Haptenos, 129, 146
Hartmannella, 727
 Helicases RIG-1, 125
Helicobacter cinaedi, 261
Helicobacter fennelliae, 261
Helicobacter pylori, 255, 259, 261–262
 fármacos para, 262, 387q
 tamanho do genoma no, 104q
 testes diagnósticos para, 261
 vias de secreção de proteínas em, 23
 Helmintos, 724–746, 733q, 734q
 infecção de, 735q–737q
 infecção sanguínea e tecidual por, 743–746
 Hemadsorção, 417, 417f
 vírus da caxumba, 602
 vírus *influenza*, 417, 585
 vírus *parainfluenza*, 417, 598
 Hemaglutinação, 418, 781
 adenovírus, 459q
 arbovírus, 559
 coronavírus, 616
Treponema pallidum, 330
 vírus *influenza*, 585
 Hemaglutinina filamentosa, 269
 Hemaglutinina, 415, 416f
Bordetella pertussis, 269
 nos paramixovírus, 593, 593q, 594f
 reovírus, 544
 vírus *influenza*, 578–581
 Heme e requerimentos de fator X do
Haemophilus, 265, 266–267, 266q
 Hemodiálise, infecção por vírus da hepatite B na,
 521, 523
 Hemoflagelados, 723–727
 Hemólise
 de estreptococos, 209, 210–211, 210q, 213, 215
 e classificação bacteriana, 44
 nas reações de hipersensibilidades, 141
 α -Hemólise, e classificação dos estreptococos, 209
 β -Hemólise, e classificação dos estreptococos, 209
 Hemolisina, 23, 158
 de *Bordetella pertussis*, 269
 de estafilococos, 201–202
 de estreptococos, 213
 α -Hemolisina, estafilocócica, 201
Hepacivirus, 511
 Hepadnavírus, 409q, 507q
 classificação e características, 409q, 411, 509,
 509q
 forma e tamanho dos, 410f
 replicação dos, 424q
 rotas de entrada, 433q
 tumores associados aos, 633q, 648
 Hepatite, 507–524
 achados clínicos na, 513–514
 adenovírus, 462
 ativa crônica, 513, 514, 521
 citomegalovírus, 483
 epidemiologia da, 518–522
 interações do vírus com hospedeiro na,
 517–518
 na leptospirose, 336
 patologia da, 512–513
 prevenção e controle da, 522–523
 testes diagnósticos para, 515–517, 777q
 transplante hepático na, 514, 522, 814
 tratamento de, 522
 vírus da hepatite do camundongo, 614f, 615,
 615f
 Hepatite B e antígeno, 508q, 509f, 510, 515, 516f,
 521
 anticorpos para, 508q, 515, 516f
 Hepatite B imunoglobulina, 508q, 523
 Hereditariedade, 101
Herellea vaginocola, 249
 Herpangina, vírus Coxsackie, 533, 534q, 583q
Herpes gladiatorum, 473
Herpes simiae, 488
 Herpes-vírus saimiri, 468, 468f, 488
 Herpes-vírus, 409q, 467–489, 648. *Ver também*
 vírus individual
 citomegalovírus, 480–484
 classificação e composição dos, 409q, 411,
 467–468, 468q
 efeitos citopáticos dos, 417f, 470, 470f
 estruturas e composição dos, 410f, 467,
 468f, 648
 genoma dos, 467, 468f
 herpes B, 488
 herpes simples, 471–476
 herpes-vírus-6, 487
 herpes-vírus-7, 487
 herpes-vírus-8, 488
 infecções latentes e persistentes, 437, 437f
 propriedades dos, 467q
 reativações dos, 437f, 438f, 471
 replicação dos, 420, 421, 423, 423q, 424q,
 468–470, 469f
 respostas imunes aos, 437, 437f
 rotas de entrada, 433q
 testes diagnósticos para, 777q
 tumores associados aos, 471, 633q, 642f, 648
 varicela-zóster, 476–480
 vírus Epstein-Barr, 484–487
 Herpes-vírus-6, 467, 487
 classificação do, 468, 468q
 estrutura e composição do, 467, 487
 infecções associadas com, 471, 487
 reativação, 487
 Herpes-vírus-7, 467, 471, 487
 classificação do, 468q
 estrutura e composição do, 467, 487
 infecções associadas com, 487
 Herpes-vírus-8, 467, 488, 633, 633q, 648, 661
 classificação do, 468
 infecções associadas com, 471, 488
 nas infecções pelo vírus HIV e Aids, 471, 488,
 661, 811q, 812q
 β -herpes-vírus, 468, 468q
 Herpes-zóster. *Ver* Vírus varicela-zóster
 Herpes-zóster oftálmico, 478f
 Herpes-zóster, 471, 476, 583q. *Ver também* vírus
 da Varicela-zóster
 Heterogeneidade antigênica
 de bactérias, 36, 159
 de vírus
 vírus *influenza*, 581, 581f, 585, 586, 587
 evasão da resposta imune em, 159
 no desvio ou deslocamento antigênico, 159,
 581, 581f, 585, 586, 587
 Heterolactato fermentação de glicose, 92–93, 95f
 Heteropolímeros, 32
 Heterotróficos, 7, 50, 68
 facultativos, 50
 quimiossintéticos, 49
 Hexaclorofeno, ação antimicrobiana do,
 61q, 64
 Hfr (recombinante de alta frequência) doadores
 na conjugação, 109, 110f
 formação do, 105
 Hialohifomicose, 673q
 Hialuronidases, 158, 182
 estafilocócicas, 201
 estreptocócicas, 213
 Hidatidose, 737q
 Hidrofobia na raiva, 622
 Hidrogenossomas, 14
 Hidroxamato, 21, 69
 Hifas, 672
 na feoifomicose, 684
 Hipersensibilidade atópica, 141–142
 Hipersensibilidade de contato, 142
 Hipersensibilidade por imunocomplexos, 142
 Hipertermófilos, variação de temperatura ideal
 para, 70
 Hipnozoítos, *Plasmodium*, 728

- Hipoclorito de sódio, ação antimicrobiana do, 64
 Hipoglicemia, lipopolissacarídeo causando, 157
 Hipotensão, lipopolissacarídeo causando, 157–158
 Hipótese científica, 1
 Hipurato de metenamina como antisséptico urinário, 402
 Histamina nas reações de hipersensibilidade do tipo I, 141
 Histocompatibilidade, 146
 complexo de histocompatibilidade principal, 147
 Histonas, 13
Histoplasma capsulatum, 673q, 686q, 689, 689f
 morfologia e identificação do, 689
 nas infecções pelo vírus HIV e Aids, 811q
 testes diagnósticos para, 761q, 763
 Histoplasmina, 690, 690q, 691
 Histoplasmose, 673q, 685–686, 686q, 689–691, 689f, 690q
 diagnóstico da, 690q, 691, 761q, 763
 nas infecções pelo vírus HIV e Aids, 691, 811q
 tratamento, 691
 HIV-1, 654, 655, 656, 781–782
 HIV-2, 654, 655, 656, 781–782
 Holoenzimas, 63
 Homólogas, 103
 Homopolímeros, 32
Hortaea werneckii, 673q, 677
 Hospedeiro
 e variação hospedeira de plasmídeos, 5, 107
 invasão de células e de tecidos no, 149
 por bactérias, 154–155
 nas infecções virais, 2, 426, 431–433
 adenovírus, 461
 e carcinogênese, 634–635
 idade e patogenicidade nas, 441
 mutações na variação do hospedeiro, 425–426
 tipos de interações, 438f
 tipos de resposta, 432f
 vias de entrada, 431, 433q
 vírus da hepatite, 517–518
 no parasitismo, I, 5
 relação com patógenos
 clamidial, 361
 fármacos antimicrobianos afetando, 380–381
 viral, 428
 suscetibilidade, 433
 Hospedeiro imunocomprometido, 815
 carcinogênese no, 634
 complicações da vacinação contra a varíola no, 499
 infecções pelo citomegalovírus no, 482, 483, 484
 infecções pelo herpes-vírus no, 471, 474
 infecções pelo microsporídias no, 733
 infecções pelo parvovírus no, 454
 infecções pelo vírus Epstein-Barr no, 486
 infecções pelo vírus *parainfluenza* no, 596–597
 infecções pelo vírus sincicial respiratório no, 600
 infecções pelo vírus varicela-zóster vírus no, 478, 479
 infecções pelos adenovírus no, 461
 quimioprofilaxia antimicrobiana no, 384
 toxoplasmose no, 732
 HPyV6, 644
 HPyV7, 644
 HTLV. Ver Vírus T-linfotrópico, humano
Hymenolepis nana, 736q, 742
- I**
- Icterícia na hepatite, 514
 Íleo paralítico, 795
 Íleo, microbiota normal do, 171
 Ilhas de patogenicidade, 104, 152–153, 153q
 características de virulência, 153q
 de *Yersinia pestis*, 279
 toxinas estafilocócicas em, 202
 Iluminação nas culturas de enriquecimento, 74q
 Imipenem, 393
 Immunoblotting, 144, 763–765
 para *Borrelia burgdorferi*, 334
 para infecções pelo vírus HIV, 781–782
 Impetigo, 214, 756q
 Impulso antigênico, 581, 581f
 Imunidade
 adaptiva (adquirida), 123, 127–138
 ativa, 137
 definição de, 146
 passiva, 137
 antígenos na, 123, 128–129
 humoral, 127
 células B na, 127
 funções nas células T na, 127
 nas infecções virais, 435, 780–781
 inata, 123–127
 definição de, 146
 mecanismo de, 124–127
 nas infecções virais, 435
 mediada por células, 127, 137
 nas infecções virais, 435, 781
 Imunidade adaptativa, 123, 127–138, 145
 apresentação antigênica na, 145
 definição de, 146
 interações celulares na, 127–128
 Imunidade ativa, 137
 Imunidade de base celular, 127, 137, 146
 Imunidade humoral, 127, 146
 células B na, 127
 em infecções virais, 435, 780–781
 funções das células T na, 127
 Imunidade inata, 123–127, 145
 definição da, 146
 mecanismo da, 124–127
 nas infecções virais, 435
 Imunidade mediada por anticorpo, 127
 Imunidade passiva, 137
 Imunodeficiência combinada grave (SCID), 143
 Imunodeficiências secundárias, 143
 fármacos causando, 143
 infecções causando, 143
 neoplasias causando, 143
 Imunofluorescência direta, 144
 Imunofluorescência indireta, 144
 Imunoglobulina contra a vacínia, 499
 Imunoglobulina contra o vírus da raiva, 624, 625
 Imunoglobulina, 508q
 citomegalovírus, 484
 hepatite B, 508q, 523
 na exposição ao vírus da hepatite A, 523
 no tratamento da rubéola, 608–609
 raiva, 624
 tétano, 181
 vacínia, 499
 varicela-zóster, 479
 Imunoglobulinas, 132–136, 146
 cadeias leves da, 133, 134f, 135
 regiões variáveis da, 133, 136–137
 subclasse da, 146
 cadeias pesadas nas, 134, 134f, 135
 classes das, 135, 146
 e troca de classe, 136
 fração Fc nas, 133, 134f
 IgA, 133, 135
 na resposta imune humoral, 136
 nas infecções virais, 432q, 435, 439, 446, 597, 602
 propriedades da, 130q
 IgA1 proteases, bactérias produtoras, 158–159, 287
Neisseria gonorrhoeae, 287, 289q
 IgD, 132, 133, 136
 propriedades da, 130q
 IgE, 133, 135
 nas infecções pelo vírus *parainfluenza*, 596
 nas infecções pelo vírus sincicial respiratório, 599
 nas reações de hipersensibilidades, 135, 141
 propriedades da, 130q
 IgG, 133, 135, 446
 estrutura da, 134f
 na ativação do complemento, 139
 na caxumba, 602
 na hepatite A, 515, 515q
 na hepatite D, 517
 na resposta imune humoral, 136
 na rubéola, 608, 609
 nas infecções pelo vírus Epstein-Barr, 486–487, 486f
 nas reações de hipersensibilidade, 141
 propriedades da, 130q
 IgM, 132, 133, 135, 447
 estrutura da, 135, 135f
 na ativação do complemento, 139
 na caxumba, 602
 na hepatite A, 508q, 515, 515q
 na hepatite B, 508q, 515, 516f
 na hepatite D, 515q, 517
 na resposta imune humoral, 136
 na rubéola, 608, 609
 nas infecções pelo vírus Epstein-Barr, 486–487, 486f
 nas infecções pelo vírus *parainfluenza*, 598
 no sarampo, 605
 propriedades da, 130q
 superfície celular, 135
 mecanismos de recombinação gênica, 136
 região da dobradiça, 134
 regiões constantes nas, 133, 136–137
 regiões hipervariáveis nas, 135
 Imunologia, 123–147
 terminologia relacionada à, 146–147
 testes diagnósticos na, 143–145
 Inativação fotodinâmica dos vírus, 420
 Incompatibilidade, plasmídeo, 107
 Índice antimicrobiano, 63
 Índice do Perfil Analítico (API/IPA), e classificação bacteriana, 46, 46f
 Indinavir, 443q

- Indutores na expressão gênica, 114–115
- Infecções abdominais, 773, 795–800
bacteroides em, 296, 301q, 795
testes diagnósticos em, 757q, 795
- Infecções adquiridas, sífilis, 328–329
- Infecções congênitas
citomegalovírus, 440, 441q, 471, 480, 482, 482f, 483, 484, 778q
hepatite B, 440, 441q, 514q, 518, 521, 523
herpes simples, 440–441, 441q, 471, 475
rubéola, 440–441, 441q, 607, 609, 778q
sífilis, 329, 330
toxoplasmose, 732
varicela-zóster, 440, 441q, 478
viral, 440–441, 440f, 441q
- Infecções da orofaringe
herpes simples, 470, 473, 473f, 475
papilomavírus, risco de câncer nas, 646–647
por bactérias anaeróbias, 300, 301q
- Infecções de bexiga, 800–801
adenovírus, 461
quimioprofilaxia antimicrobiana nas, 384
- Infecções de feridas
Clostridium perfringens, 151, 183, 299
Clostridium tetani, 151, 180–181
Corynebacterium diphtheriae, 189
estafilocócicas, 203
Pseudomonas aeruginosa, 246
testes diagnósticos das, 767
Vibrio vulnificus, 258
- Infecções do sistema nervoso central, 785–789
abscessos cerebrais nas, 301q, 756q, 787–789
amebianas, 727
análise do líquido cefalorraquiano nas, 770, 785, 786, 787q
criptocócicas, 699
encefalites. *Ver* Encefalites
leucoencefalopatia nas, multifocal progressiva, 626–627, 812q
Listeria monocytogenes, 786, 786q
na toxoplasmose, 718q, 732
na tripanossomíase, 724
nas infecções pelo HIV e Aids, 812q
no tétano, 156, 180
por bactérias anaeróbias, 773
testes diagnósticos nas, 770, 773, 777q
viral, 440
arbovírus, 559
enterovírus, 534q, 536
herpes simples, 474
na caxumba, 601–602
na doença de Borna, 626
na poliomielite, 531–533
na raiva, 619, 620, 621, 622
na rubéola, 609
na vacina contra a varíola, 500
nas infecções pelo vírus HIV e Aids, 660
no sarampo, 603, 604f, 605, 626
patogênese das, 435–436, 436f
testes diagnósticos na, 777q
- Infecções do trato urinário, 800–801
acidificação da urina nas, 402
antissépticos, 402
Escherichia coli, 235, 386q, 800
Mycoplasma genitalium, 345
Neisseria gonorrhoeae, 801, 804
Pseudomonas aeruginosa, 247
quimioprofilaxia antimicrobiana nas, 384
reinfeção nas, 381
testes diagnósticos na, 758q, 769–770, 800–801
Ureaplasma urealyticum, 345, 804
- Infecções dos tecidos moles
diagnóstico das, 767
gangrena gasosa nas, 803
por bactérias anaeróbias, 773
- Infecções em plantas, 2, 414
- Infecções em tecidos por trematódeos, 737q
- Infecções latentes, 436–437
virais, 421, 428, 436–437, 437f
- Infecções nas unhas, fúngicas, 679, 679q, 681, 709
na candidíase, 696
- Infecções nosocomiais
Acinetobacter, 249, 250
Burkholderia cepacia, 248, 249
Enterobacteriaceae, 236
enterocócica, 222
estafilocócicas, 205
pneumonia nas, 790
Pseudomonas aeruginosa, 248
Stenotrophomonas maltophilia, 249, 251
vírus sincicial respiratório, 600
- Infecções oculares
adenovírus, 461, 462, 464, 778q
agentes tópicos nas, 385q
Bacillus cereus, 178
clamidial, 363–364, 774
enterovírus, 534q, 536, 778q
gonocócicas, 289, 292
quimioprofilaxia das, 385q
herpes simples, 472q, 473, 778q
herpes-zóster, 778q
microsporidial, 733
na oncocercose, 744
na toxoplasmose, 732
Pseudomonas aeruginosa, 247
- Infecções pelo vírus HIV e Aids, 653–667, 809–813
agentes antivirais nas, 441–444, 443q, 810
angiomatose bacilar nas, 309, 812q
aspergilose nas, 700
candidíase nas, 694, 696, 811q, 813q
carga de plasma viral nas, 659–660, 660f
células T CD4 nas, 657–659, 658f, 810
classificação dos vírus nas, 654–656
coccidioidomicose nas, 687, 688, 812q
coinfecções virais nas, 659, 811q, 813q
complicações comuns nas, 810
congênitas e perinatais, 440–441, 441q
criptococose nas, 699, 811q, 812q
criptosporidiose nas, 722–723, 812q, 813q
distúrbios neurológicos nas, 660, 812q
e infecções pelo vírus herpes simples, 474, 475, 811q, 813q
educação em saúde sobre, 666
epidemiologia das, 663–665, 663f
estrutura e composição dos vírus nas, 653–654, 654f
evolução das, 657–658, 658f
fármacos antivirais nas, 665
histoplasmose nas, 691, 811q
inativação viral nas, 656
infecções micobacterianas nas, 313, 321, 322, 324, 324, 808, 811q
infecções microsporídias nas, 733, 813q
infecções oportunistas nas, 660–661, 810
infecções pelo adenovírus nas, 462
infecções pelo citomegalovírus nas, 482, 483, 812q
infecções pelo herpes-vírus-8 nas, 471, 488, 661, 811q, 812q
infecções pelo *Pneumocystis jirovecii* nas, 702, 811q
infecções pelo vírus da hepatite C nas, 518, 521, 659
infecções pelo vírus Epstein-Barr nas, 486, 661, 813q
infecções pelo vírus JC nas, 626–627, 644, 811q, 812q
infecções pelo vírus varicela-zóster nas, 478, 812q
infecções por papilomavírus nas, 661, 813q
infecções por parvovírus nas, 454
isolamento dos vírus nas, 662
kits de teste doméstico para, 662
leucoencefalopatia nas, multifocal progressiva, 626–627, 812q
manifestações clínicas nas, 659–661
medidas de controle nas, 666
microbicidas tópicos, 666
molusco contagioso nas, 503
monitoramento das, 782
nas crianças, 660, 663, 663f, 664
número estimado de indivíduos vivendo com, 664f
organização genética dos vírus na, 637, 638f, 653, 655f
órgãos linfoides nas, 659
origens das, 656
patogênese e patologia nas, 657–659
replicação do ciclo do vírus nas, 413, 665
resistência a fármacos nas, 665
resposta imune para, 435, 634, 661, 661q
sífilis nas, 330, 813q
testes diagnósticos das, 662–663, 778q, 781–783
testes prognósticos e tratamento, monitoramento nas, 781–782
toxoplasmose nas, 732, 812q
transmissão das, 664–665
tuberculose, 320, 321, 322, 807, 811q
tumores associados com, 661, 810, 813q
sarcoma de Kaposi, 471, 488, 661, 811q, 812q
vacinas contra, 665–666
- Infecções pélvicas, bacterianas anaeróbias, 300, 301q, 773
- Infecções persistentes, 436–437
- Infecções pleuropulmonares, por bactérias anaeróbias, 300, 301q
- Infecções por cestódeos, 737q
- Infecções por *Madurella*, 673q, 685
- Infecções por papovavírus, 778q
- Infecções por vírus lentos, 626–627, 627q
- Infecções transmitidas pela água
adenovírus, 464
calicivírus, 549
criptosporidiose, 716q, 722–723
Entamoeba, 722
enterovírus, 537–538, 540f
poliomielite nas, 533
hepatite A, 520, 523
- Infecções transmitidas por alimentos
Bacillus cereus, 178
Brucella, 271, 273
calicivírus, 549

- Campylobacter*, 260
Clostridium botulinum, 151, 156, 179–180, 299, 819–820
Clostridium perfringens, 151, 182, 299
criptosporidiose, 722–723
Entamoeba, 727
enterovírus, 537, 540f
Escherichia coli, 235
estafilocócica, 157, 202, 203
exotoxinas nas, 157
giardíase, 716q
helmintos, 733, 734, 741
hepatite A, 520, 523
Listeria monocytogenes, 192
Salmonella, 239, 241
Shigella, 238
toxoplasmoses nas, 732
transmissão das, 151
Vibrio cholerae, 256
Vibrio parahaemolyticus, 258
Vibrio vulnificus, 258
Yersinia, 281
- Infecções transmitidas por mosquitos
arbovírus, 553, 557, 557q, 561–562
ciclo de transmissão vetor-hospedeiro nos, 561–562, 561f
dengue nas, 564–566, 564f, 566
febre amarela, 562–564, 564f
febre do Vale do Rift na, 566
mecanismos usados no inverno nos, 562, 562f
tratamento e controle dos, 561, 563–564, 566
encefalites por bunivírus nas, 566
helmínticas, 743
malária nas, 727–731
- Infecções virais abortivas, 421, 426
Infecções virais persistentes, 421, 428, 436–437
carcinogênese nas, 634
Infecções virais produtivas, 421
Infecções virais subclínicas, 437
Infecções, crônicas, 436–437. Ver também infecções específicas
Inibição competitiva dos agentes antimicrobianos, 63
Inibição da retroalimentação (*feedback*) da l-treonina desaminase, 97, 97f
Inibição por *feedback* das enzimas, 97, 97f
Inibidores da transcriptase reversa, 443, 443q
Inibidores de protease nas infecções pelo vírus HIV e Aids, 443q, 444, 665
Iniciadores no sequenciamento do DNA, 119
- Inóculo
preparo para cultura de vírus, 775, 779
tamanho do, que afeta a atividade do agente antimicrobiano, 379
- Inserções, 111
Insônia, familiar fatal, 3, 627, 628
Instabilidade genética, e classificação bacteriana, 45
Integrinas, 126, 147
Interferência bacteriana, 124, 166
Interferência bacteriana, 124, 166
viral, 427
na vacina contra o poliovírus, 533
- Interferons, 126, 127, 147, 444–445
alfa, 134q, 444–445
propriedades do, 444f
- recombinante, na terapia contra a hepatite, 522
atividade antiviral do, 445, 445f
beta, 134q, 444–445
propriedades do, 444f
estudos clínicos sobre, 445
gama, 134q, 444–445, 444f
propriedades do, 444, 444f
síntese dos, 444–445
- Interleucinas, 126–127, 134q
Internalina, 155
Íntrons, 6, 49q, 104, 112
Invasão das células e tecidos, 149
por bactérias, 154–155
- Ionóforos que afetam as funções da membrana celular, 373
- IRES (local de entrada interna do ribossomo) na replicação do picornavírus, 530
- Iridoviridae*, 410f
- Isocitrato
no ciclo do ácido tricarboxílico, 80, 84f
no ciclo do glioxilato, 85f
- Isolados primários viral, 425
- Isolamento de microrganismos em cultura pura, 73–74
- Isoniazida (INZ), 402
na tuberculose, 320, 402, 807, 809
resistência à, 320, 377, 378, 402
uso profilático da, 383
- Isoprenoides, 18
- Isopropanol, ação antimicrobiana do, 61q, 64, 420
- Isospora belli*, 661
- Isosporose, 812q, 813q
- Isotiocianato de fluoresceína (FITC), 12
- Itraconazol, 681, 691, 693, 705q, 706–709, 707, 707f
- Iugoslávia, surto de varíola na, 818–819
- Ixodes dammini*, 335
Ixodes pacificus, 335, 354
Ixodes persulcatus, 561
Ixodes ricinus, 335, 561
Ixodes scapularis, 335, 354
- J**
- Jejuno
Giardia lamblia no, 716q
microbiota normal do, 171
- K**
- katG* na resistência à isoniazida, 320
Kingella kingae, 251, 802
Kingella, 251, 285
Kits de testes domésticos para o diagnóstico de HIV, 662
Klebsiella granulomatis, 235, 806
Klebsiella oxytoca, 230q
Klebsiella ozaenae, 235
Klebsiella pneumoniae, 230q, 231q, 235, 791q
Klebsiella rhinoscleromatis, 235
Kluyvera, 232
Kuru, 3, 414, 437, 627q, 628
- L**
- Laboratório de Investigação de Doenças Venéreas para sífilis (VDRL), 329–330
- β -lactamases, 372–373, 375, 385
bactérias anaeróbias produtoras, 301
classificação das, 372–373, 372q
de espectro ampliado (ESBLs), 372–373
e resistência a penicilina, 204, 389
enterococos produtores, 223–224
estafilococos produtores, 200, 205, 377
Neisseria gonorrhoeae produtora, 289
- Lactentes e neonatos. Ver também Crianças
botulismo nos, 179, 299
complicações pelo cloranfenicol nos, 395
granulomatose infantil-séptica em, 193
hepatites nos, 440, 514q, 521, 523, 648–649
infecções clamidiais nos, 363, 364–365, 775
infecções estreptocócicas nos, 172, 217
faringites nos, 214
infecções pela *Escherichia coli* nas, 234
infecções pelo citomegalovírus nos, 440, 471, 480, 482, 483, 484
diagnósticos das, 778q
tempo de infecções nas, 441q
infecções pelo vírus Coxsackie nos, 534q, 535
infecções pelo vírus herpes simples nos, 439q, 440–441, 471, 472q, 474, 476
infecções pelo vírus HIV e Aids nos, 660, 663
infecções pelo vírus respiratório sincicial, 439q, 598, 599, 600
infecções pelo vírus varicela-zóster nos, 440, 477
infecções pelos adenovírus nos, 439q, 547q
infecções pelos astrovírus nos, 547q
infecções pelos calicivírus nos, 547q
infecções pelos rinovírus nos, 439q, 539
infecções pelos rotavírus nos, 546–547, 547q
infecções por vírus *parainfluenza* nos, 439q, 597f, 598
infecções virais congênicas nos, 440–441, 440f
oftalmia neonatal, na gonorreia, 289, 291
poliomielite nos, 532
rubéola nos, 440–441, 607, 609, 778q
sarampo nos, 603
sífilis nos, 329
toxoplasmose nos, 732
- Lactobacillus acidophilus*, 172
Lactobacillus plantarum, 72
Lactobacilos, 296q, 298
como organismos aerotolerantes, 72, 187, 224q
na microbiota normal vaginal, 172, 224q, 298
na microbiota, 166q
resistente à vancomicina, 224, 224q
- Lactoferrina, 21, 160
- Lágrimas, composição das, 172
- Lamblia intestinalis*, 716q
- Lamivudina, 443q
- Laringite, viral, 439q
- Laringotraqueobronquite, vírus *parainfluenza*, 595, 596
- Larva migrans*
cutânea e visceral, 745
ocular e neurológica, 745
- Lavado, broncoalveolar, 771
- Lavagem das mãos para controle de infecção, 151, 205, 534q, 535

- Lectinase, *Clostridium perfringens* produtora, 157, 158, 182
- Lectina, ligação a manana, 139f, 140
- Leghemoglobina, 87f
- Legionella bozemanii*, 306q
- Legionella dumoffii*, 306q
- Legionella feeleeii*, 306q
- Legionella gormanii*, 306q
- Legionella jordanis*, 306q
- Legionella longbeachae*, 306q
- Legionella micdadei*, 305, 306q
- Legionella oakridgensis*, 306q
- Legionella pneumophila*, 305–308, 306q, 344
fármacos de escolha para, 12, 307, 308, 755
formação de biofilme, 58
morfologia e identificação da, 305
processo de aderência-invasão, 155
- Legionella wadsworthii*, 306q
- Legionella*, espécies de, 305–308
fármacos de escolha para, 307, 387q
morfologia e identificação das, 305
pneumonia por, 305, 306, 306q, 308, 387q, 792q
processo de aderência-invasão, 155
testes diagnósticos para, 12, 307, 308, 755
- Leishmania aethiopica*, 717q, 726
- Leishmania braziliensis*, 717q, 726, 727
- Leishmania donovani*, 717q, 726, 732f
- Leishmania major*, 717q, 726, 727
- Leishmania mexicana*, 717q, 726
- Leishmania tropica*, 717q, 726, 727
- Leishmania*, 723, 725–727
versus Trypanosoma, 724q
- Leishmaniose nasofaríngea, 726
- Leishmaniose visceral, 726
- Leishmaniose, 717q, 726–727
- Lentes objetivas, no microscópio, 11
- Lentivírus, 626, 637, 638, 653–667
classificação dos, 654–656, 656q
efeitos citolíticos dos, 639
em animais, 656q, 666
estrutura e composição dos, 653–654
genética dos, 637, 638, 638f, 653, 654, 654f
inativação dos, 656
propriedades dos, 653–657, 653q
receptores para, 657
replicação dos, 639
sistemas nos, 656–657
transmissão dos, 656
- Leptospira autumnalis*, 336q
- Leptospira ballum*, 336q
- Leptospira biflexa*, 335
- Leptospira bovis*, 336q
- Leptospira canicola*, 336q
- Leptospira grippotyphosa*, 336q
- Leptospira hebdomadis*, 336q
- Leptospira icterohaemorrhagiae*, 336q
- Leptospira interrogans*, 335, 336
- Leptospira mitis*, 336q
- Leptospira pomona*, 336q
- Leptospirose, 335–337, 388q
fármacos na terapia, 337
- Letalidade dos vírus mutantes, 425
- Leucemia-linfoma de células T adultas, 639–641
- Leucocidina de Pantón-Valentine, 202, 203, 205
- Leucocidinas, 158
estafilocócicas, 202, 203, 205
- Leucócitos, 147
fecais, 772
- lipopolissacarídeo afetando, 157
- Leucoencefalopatia nas, multifocal progressiva, 626–627, 627q, 629, 644
nas infecções pelo vírus HIV e Aids, 626–627, 812q
- Leuconostoc*, 224q
- Leucopenia, lipopolissacarídeos que provocam, 157
- Leucoplaquia, pilosa oral, nas infecções pelo vírus Epstein-Barr, 486
nas infecções pelo vírus HIV e Aids, 813q
- Leucotrienos na resposta inflamatória, 126
- Leucotrienos, nas reações de hipersensibilidade do tipo I, 141
- Leveduras, 7, 104, 672, 673–674
na microbiota normal, 166q
- Levofloxacino, 400f
- Lichtheimia*, 701
- Ligação do DNA
na clonagem, 116
na replicação dos bacteriófagos, 106
- Ligação proteica no transporte ABC, 20
- Lincomicina, 396
mecanismo de ação, 374, 396
- Linezolida, 397
mecanismo de ação, 375, 397
- Linfócitos, 147
células B, 127
células T, 127
no líquido cefalorraquiano, 787q
- Linfogranuloma venéreo, 365, 806
diagnóstico do, 759q, 774
- Linfoma
de Burkitt, vírus Epstein-Barr no, 471, 484, 485–486, 648
nas infecções pelo vírus HIV e Aids, 812q
- Linfomas de células T de adultos (LTA), 639–641
- Linfopenia, 604
- Lípido A, 29–30, 29f
- Lípídeos
nas paredes das células bacterianas, 29, 29f
nas micobactérias, 315–316
no envelope viral, 407f, 408, 416, 416f
- Lipo-oligosacarídeos, 30, 157
de *Haemophilus influenzae*, 30, 266, 287
de *Neisseria gonorrhoeae*, 30, 287, 288f, 289q
de *Neisseria meningitidis*, 30, 287, 291
- Lipopolissacarídeo, 27, 29–30
características do, 156q
como endotoxina, 29–30, 156q, 157–158, 161
de *Bacteroides*, 300
de *Chlamydia*, 360
de *Pseudomonas aeruginosa*, 246
de *Rickettsia*, 349
de *Shigella*, 236
de *Vibrio cholerae*, 256
de *Yersinia*, 279
efeitos fisiopatológicos do, 157
estrutura molecular do, 29f
nas Enterobacteriaceae, 231f, 232
síntese do, 91
- Lipoproteína na parede celular das bactérias gram-negativas, 27f, 30
- Lise, osmótica, prevenção da, 63
- Lisina, 24, 89, 89f
- Lisossomos, 14
- Lisozima
lugares da, 124
- paredes de células bacterianas afetadas pela, 31, 124
- Listeria meningoencefalitis*, 193
- Listeria monocytogenes*, 187, 188q, 192–193, 192q
diagnóstico da infecção, 193, 756q
fármacos de escolha para, 193, 387q
meningite por, 193, 786, 786q
motilidade da, 154, 192–193
processo aderência-invasão, 155, 192–193
- Listeriolisina O, 192
- Locais de disseminação de vírus infecciosos, 433–434, 434f
- Local de origem na replicação do DNA bacteriano, 106
- Lofotríquio, 33
- Loop de pausa na expressão gênica, 113
- Loop de terminação (alça) na expressão do gene, 113
- Lopinavir, 443q
- Lutzomyia* mosquito-pólvora
bartonelose transmitida por, 308
leishmaniose transmitida por, 724
- lytRS* e virulência estafilocócica, 203
- M**
- Macaca fascicularis*, 572
- Macacos
filovírus nos, 571–572
poxvírus nos, 501
vírus da imunodeficiência nos, 653, 655, 656q
vírus herpes B nos, 488
- Macacos *Cercopithecus*, vírus Marburg em, 571
- Macroconídeo, 672, 675f
na histoplasmose, 689
- Macrófagos, 125, 147
ativação dos, 128f
nas infecções pelo vírus HIV e Aids, 659
pulmonares, 124
- Macrolídeos. Ver Eritromicina
- Máculas nas infecções virais, 439
- Madurella grisea*, 685
- Madurella mycetomatis*, 685
- Magnetossomas, 17
- Malária, 727–731
ciclo de vida dos parasitos na, 728
e linfoma de Burkitt, 485, 648
recidiva na, 728
recrudescência na, 728
- Malassezia furfur*, 676
- Malassezia globosa*, 676
- Malassezia restricta*, 676
- Malato
no ciclo do ácido tricarbólico, 84f
no ciclo do glicilato, 85f
- Manchas de Koplik no sarampo, 604
- Mandelato de metenamina como antisséptico urinário, 402
- Manose, circulante, na candidíase, 697
- Manual Bergey de Sistemática Bacteriológica, 47q, 48
- Mapeamento de reclassificação do genoma viral, 425
- Mapeamento, genético, 109, 110, 111
viral, 425
- Maraviroc, 443q
- Mastadenovirus*, 457

- Matriz proteica M. *Ver* Proteína M
- Matriz proteica, 407f
- Matriz, mitocondrial, 14
- Maturação, 2
- MDA-5, 125
- Mecanismos de atenuação da expressão gênica, 112–113, 114f
- Mecanismos de brotamento dos vírus, 416, 416f, 423, 594
- Mecanismos de transcrição, 112
- atenuação afetando, 112–113
- e sistemas de amplificação no diagnóstico molecular, 764
- na replicação do paramixovírus, 594
- na replicação do vírus *influenza*, 581–582, 582f
- Mecanismos de transporte passivo em bactérias, 20
- Medidas de concentração. *Ver também*
- Concentração de fármacos microbianos, 55
- contagem de célula na, 55, 56q
- densidade da biomassa na, 55
- Megavírus, 2
- Meio complexo, 44
- Meio de crescimento, nutrientes no, 68–70
- Meio de cultura de ovos para *Mycobacterium tuberculosis*, 313
- Meio de cultura diferencial, 73
- para o isolamento de *Salmonella*, 239–240
- Meio de cultura em caldo, 760
- para *Mycobacterium tuberculosis*, 313–315, 318
- Meio diferencial, 44, 73
- Meio não seletivo, 44
- Meio seletivo, 44, 73
- Melioidose, 248, 387q
- Membrana celular das arqueobactérias, 18
- de bactérias, 18–23
- agentes antimicrobianos que afetam, 62–63, 373
- defeitos na permeabilidade da, 374
- do *Treponema pallidum*, 327, 328, 328f
- estrutura da, 18, 20f
- funções da, 18–23
- de eucariontes, 14
- Membrana de mucosa
- agentes antimicrobianos tópicos aplicados a, 385q
- como barreiras na imunidade inata, 124, 152
- como porta de entrada para bactérias patogênicas, 151–152
- microbiota normal da, 124, 165, 166
- Membrana externa
- Chlamydia*, proteínas de membrana externa principal de, 359, 364
- de bactérias gram-negativas, 27–29, 27f, 28f
- de *Treponema pallidum*, 327, 328f
- Membrana nuclear das células eucariontes, 13
- Meningite, 785–787
- análise do líquido cefalorraquidiano na, 770, 785, 786, 787q
- asséptica, 336, 532, 535
- bacteriana anaeróbia, 773
- bunyavírus, 566
- causas comuns da, 786, 786q
- caxumba, 583q, 601, 603, 777q
- criptococal, 699, 786, 786q
- enterovírus, 534q, 536, 777q
- ecovírus, 534q, 536
- poliovírus, 531, 534q
- vírus Coxsackie, 534q, 535
- Escherichia coli*, 235, 786, 786q
- fármacos para, 386q
- Haemophilus*, 266, 267, 786, 786q
- Listeria monocytogenes*, 193, 786, 786q
- na coccidioidomicose, 688
- na leptospirose, 336
- Neisseria meningitidis*, 292, 785, 786, 786q
- sifilítica, 328
- testes diagnósticos para, 756q, 770, 773, 777q, 785
- tuberculosa, 318, 786
- vírus herpes simples, 472q
- Meningococemia, 291
- Meningoencefalite amebíaca, 727
- Listeria*, 193
- Merodiploide, 109
- Meropenem, 393
- Merozoítos, *Plasmodium*, 728
- Mesófilos, 50
- faixa ótima de temperatura para, 70
- Metabolismo, 77–99
- aeróbio, 71
- biossíntese no, 77, 88–91
- efetores da, 77
- modelo direcionado, 77
- ciclo de Calvin no, 82, 84, 86f
- ciclo do ácido tricarbóxico no, 80–81, 84f
- ciclo do glioxilato no, 85f
- e atividade de agente antimicrobiano, 379–380
- e crescimento, 77
- acetato no, 80–81
- dióxido de carbono e o ciclo de Calvin no, 82, 84
- requerimentos de nutrientes no, 68–69, 69–70
- e forma motriz de próton, 67
- formação de α -cetoglutarato a partir do piruvato, 80
- formação e uso do fosfoenolpiruvato, 78–80
- formação e uso do oxaloacetato, 80
- fotossíntese no, 68, 96
- funções do plasmídeo no, 105q
- geração de energia no, 67–68, 77, 91–96
- interconversões de glicose-9-fosfato e carboidratos, 77–78
- metabólitos focais no, 77–80
- processo de fermentação, 67, 92–94
- processo de respiração no, 67–68, 94–96
- regulação do, 77, 96–98
- requerimentos de ferro no, 21, 69, 160
- vetorial, 20, 92
- via Embden-Meyerhof no, 67, 92, 93f
- vias de assimilação no, 68, 77, 80–81
- vias de dissimilação, 68–69
- vias de redução no, 84
- Metabolismo dos carboidratos, 77–78, 81f
- no ciclo de Calvin, 82, 84, 86f
- Metabólitos focais, 77–80
- Metapneumovírus, 592f, 600–601, 609
- achados clínicos dos, 600–601
- características dos, 593q
- classificação dos, 593
- epidemiologia dos, 597f, 601
- imunidade para, 601
- patogênese e patologia nas infecções, 600
- testes diagnósticos para, 601
- Metenamina de prata, 755
- Methanococcus jannaschii*, tamanho do genoma no, 104q
- Meticilina
- efeitos colaterais, 390
- resistência à, 200, 204, 205, 386q
- Metionina, 88, 89f
- Metisazona, 444
- Método de coloração de cápsula de Welch, 40
- Método de Coombs para identificação de *Brucella*, 273
- Método de diluição extinção para isolamento de microrganismos na cultura pura, 74
- Método de Pour-plate, para o isolamento de microrganismo em cultura pura, 74, 75f
- Método de Sanger, 118, 119f
- na análise de sequenciamento de DNA, 118–119, 119f
- procedimento de *shotgunning*, 119
- Método de terminação desoxi na análise da sequência de DNA, 118, 119f
- Métodos de coloração, 6, 39–40, 754–755
- corantes ácidos nos, 39
- corantes básicos nos, 39
- em microscopia eletrônica, 13
- na classificação bacteriana, 44
- na coloração de Gram, 6, 23–24, 39, 754–755, 755q
- na microscopia de campo luminoso, 11
- na microscopia de fluorescência, 11–12
- na microscopia de varredura confocal a *laser*, 13
- para bactérias álcool-ácido resistentes, 30, 39, 755, 755q
- para cápsula bacteriana, 33f, 39–40
- para *Chlamydia*, 360f, 367, 774
- para esporos, 40
- para flagelo, 39–40, 39f
- para micobactérias, 30, 39, 313, 315f, 755
- para nucleóides, 40
- para vírus, 775
- técnica negativa, 33f, 39
- Métodos de diluição
- para isolamento de microrganismo em cultura pura, 74
- para medida da atividade do agente antimicrobiano, 204, 379
- Métodos de identificação
- para bactérias, 43, 150–151
- por seleção antibiótica, 381
- para vírus, 419
- Metronidazol, 402
- Mialgia, epidêmica, nas infecções pelo vírus Coxsackie, 534q, 535
- Micafungina, 705q, 708f, 709
- Micélio, 7, 672
- Micetismo, 704
- Micetoma, 195, 673q, 684–685
- actinomicetoma, 195, 685
- eumicetoma, 685
- Micobactérias, 187, 313–324
- atípicas, 315, 316, 321
- características de crescimento das, 315
- classificação das, 319, 319q
- coloração das, 30, 33, 39, 313, 315f, 755
- DNA das, 319–320
- fármacos de escolha para, 323, 324, 388q, 808

- natuberculose, 320, 321, 388q, 402–403, 807
 infecções associadas com, 314q
 na infecção pelo vírus HIV, 320, 321, 322, 324, 811q
 resistência a fármacos das, 320, 378
 testes diagnósticos para, 318–320, 763, 764, 808
 tuberculose na, 320–321, 659, 807, 811q
- Micologia**, 1–40. *Ver também* Fungos
- Miconazol**, 707f, 709
- Micoplasmas**, 5, 341–345
 classificação do, 49
 estrutura antigênica, 342
 estrutura celular do, 32, 49, 50f, 341, 344f
 fármacos de escolha para, 343, 344, 388q
 genoma do, 104q
 morfologia e identificação do, 341–342
 testes diagnósticos para, 342–343, 344
- Micoses**, 671
 cutâneas, 673q, 677–681
 de virilha, 679q, 680
 endêmicas, 673q, 685–686, 686q, 694
 oportunistas, 673q, 694–703, 703
 subcutâneas, 673q, 681–685
 superficiais, 673q, 676–677
- Micotoxinas**, 704
- Microaerófilos**, 71
- Microbiologia**
 ciência da, 1–8
 definição de, 1
 princípios biológicos da, 1–2
 princípios diagnósticos na, 753–783
- Microbiologia diagnóstica**, 753–783
 análise do líquido cefalorraquiano na, 770, 785, 786, 787q
 comunicação entre o clínico e o laboratório na, 753–754
 métodos de coloração na, 23–24, 39–40, 754–755, 775
 microbiota normal na, 150–151, 150q, 165–173
 microscopia na, 11–12, 754–755, 775
 nas infecções bacterianas, 150–151, 754–775
 anaeróbias, 773
 para seleção de antibiótico, 381, 766
 nas infecções fúngicas, 760, 761q–762q
 coleta e preparação de espécime na, 754
 microscopia na, 754–755
 nas infecções parasitárias, 715–748
 esporozoários, 715, 716q–717q, 722–723, 727–732
 flagelados, 716q
 preocupações de segurança em. *Ver* Preocupações de segurança no laboratório
 nas infecções pelo vírus HIV e Aids, 662–663, 781–782
 nas infecções virais, 775–783
 por sítio anatômico, 767–773
 sistema de cultura na, 755, 760, 775, 779–780
 testes imunológicos na, 143–145, 760, 775, 781–782
 testes moleculares na, 763–765, 781–782
 testes sorológicos em. *Ver* Testes sorológicos, coleta e preparação de espécimes, 754
- Microbioma**, 165
- Microbiota normal**, 124, 150, 165–173, 765–766
 da boca, 167, 169–172
 da conjuntiva, 172
 da mucosa, 165, 166
 da pele, 165, 166, 166q, 167, 168f
- da uretra, 172
 da vagina, 167, 172
 fármacos antimicrobianos afetando, 172
 no mecanismo de interferência microbiana, 124
- do trato respiratório, 166q, 167, 169–172
 estreptococos na, 216, 217, 218
 Haemophilus influenzae na, 265
- e identificação de patógenos, 150
- e patógenos oportunistas, 166
- em diferentes locais, 165–167
- Enterobacteriaceae** na, 236
- Enterococcus** na, 222
- Estafilococos** na, 202
- fármacos antimicrobianos afetando, 381
- microrganismos da, 165, 166q
- papel da, 124, 165–167
 no mecanismo de interferência microbiana, 124, 166
- Microbiota**, 149–151, 165
- Micrococcus**, 166q, 295
- Microconídeos**, 672
 na histoplasmose, 689
- Microfilamentos nas células eucarióticas**, 14
- Microfilárias**, 743–744
- Microrganismos**, 1–2
 definições dos termos relacionados a, 149, 150
 evolução dos. *Ver* Evolução dos microrganismos
- MicroRNA nas infecções latentes pelo vírus herpes simples**, 470
- Microscopia**, 11–13, 754–755
 confocal de varredura a laser, 13
 contraste de interferência diferencial, 12
 de campo escuro, 11, 12f
 de *Leptospira*, 337
 de *Treponema pallidum*, 11, 12f, 329, 755
 de campo luminoso (microscópio óptico comum), 11
 de contraste de fase, 11
 de fungos, 755
 de luz, 11–12
 de vírus, 414, 415, 417, 418, 426, 775
 do líquido cefalorraquiano, 770
- eletrônica**, 12–13
 do núcleo eucariótico, 14f
 de vírus, 414, 415, 417, 426
 do *Mycoplasma*, 50f
- fluorescência, 11–12, 144, 318
- na examinação do escarro, 771
- nas infecções clamidiais, 774
- no exame da urina, 769
- Microscopia a laser, varredura confocal**, 13
- Microscopia bacteriana, e classificação de bactérias**, 44
- Microscópio de campo claro**, 11
- Microscópio de fluorescência**, 11–12, 144
 no diagnóstico da tuberculose, 12, 318
- Microscópio de força atômica**, 13
- Microscópios a laser, varredura confocal**, 13
- Microscópios de contraste de fase**, 11
- Microscópios de contraste de interferência diferencial**, 12
- Microscópios de luz**, 11–12
- Microscópios eletrônicos de transmissão**, 12–13
- Microscópios eletrônicos de varredura**, 12–13
- Microsporídeos**, 733
- classificação dos, 715
 nas infecções pelo vírus HIV e Aids, 733, 813q
- Microsporium canis*, 678, 679q
- Microsporium gallinae*, 678
- Microsporium gypseum*, 678, 678f
- Microsporium nanum*, 678
- Microsporium*, 673q, 678, 678f, 680
- Microtúbulos em células eucariontes**, 14, 15f
- Mielite, raiva**, 622
- Migração cromossômica**, 120
- Mima polymorpha*, 249
- Mimivírus**, 2
- Minociclina**, 394
- Miocardite, vírus Coxsackie**, 534q, 535
- Mionecrose**, 181, 182, 299
- Mitocôndria**, 5, 13–14, 21
 ribossomos de, 112
- γ-Hemólise, e classificação dos estreptococos**, 209
- γ-Hemolisina, estafilocócica**, 201
- Mobiluncus*, 297, 805
- Moléculas de adesão celular**, 146
- Moléculas de adesão**, 134q
 na resposta inflamatória, 126
- Moléculas RNA de interferência (RNAi)**, 102–103
- Molusco contagioso**, 494q, 496, 501–503, 503f, 648
 testes diagnósticos para, 498, 503
- MOMP (proteínas de membrana principais), clamidiais**, 359, 364
- Monobactâmicos**, 393
- Monócitos**, 147
 fagocíticas circulantes, 125
 nas infecções pelo vírus Epstein-Barr, 583q
 nas infecções pelo vírus HIV e Aids, 659
 nas infecções por citomegalovírus, 480
 testes diagnósticos, 777q
- Monofosfato de adenosina, cíclico**, 115
- Monofosfato de guanosina, cíclica (cGMP), nos mecanismos de quimiotaxia**, 36
- Mononucleose**
 citomegalovírus, 483
- Mononucleose, infecciosa**, 471
- Monosomo**, 374
- Moraxella catarrhalis*, 251, 285, 292
 fármacos de escolha para, 386q
 pneumonia por, 792q
 reações bioquímicas na, 286q
- Morcegos**
 coronavírus em, 615
 infecções por arbovírus em, 562
 vírus da raiva em, 620, 623q, 625
 vírus Nipah e Hendra em, 607
- Mordida de cachorro, transmissão do vírus da raiva por**, 622, 623q, 625
- Mordida**
 febre da mordida do rato por, 310
 infecção por *Pasteurella* através de, 282
 infecções pelo Herpes-vírus B por mordida de macaco, 488
 transmissão do vírus da raiva por, 622
- Morganella morganii*, 230q, 232, 235
- Mormo**, 248, 387q
- Morte de células microbianas**, 58–60
 e fase de declínio na curva de crescimento, 56f, 57q, 58
 medição de, 58–59, 59f
 na esterilização, 59

- por agentes antimicrobianos, 60–64
concentração de fármacos afetando, 60, 60f
- Mosquitos *Culex* como vetores das infecções por arbovírus, 557q, 560
- Mosquitos *Haemagogus*, febre amarela transmitida por, 563
- Mosquitos *Psorophora* como vetores das infecções por arbovírus, 557q
- Motilidade
de bactérias, 154
contrações na, 36
de *Capnocytophaga*, 250
flagelo na, 35–36
pili na, 36
de eucariontes, organelas, 15, 15f
- Moxifloxacina, 400f
- Mucopeptídeo, parede celular, 23. *Ver também*
- Mucor*, 701, 762q
- Mucorales, 676
- Mucormicose rinocerebral, 701
- Mucormicose torácica, 701
- Mucormicose, 673q, 701–702, 701f
- Mudança antigênica, 581, 581f
- Muramyl peptídeo nas micobactérias, 315
- Mureína na parede celular de bactérias, 23
- Mutações, 111, 425
e mutagênese sítio-dirigida, 115, 119, 120f
e resistência a fármacos, 376
inserção, 105
nas células diploides, 103–104
nas células haploides, 104
nos vírus, 425–426
requerimentos de fatores de crescimento nas, 69
- Mutação supressora, 111
- Mutações de deleção, 111
- Mutações de inserção, 105, 111
- Mutações de inserção, 111
- Mutações de sentido trocado (*missense*), 111
- Mutações espontâneas, 111
- Mutações sem sentido, 111
- Mutagênese sítio-dirigida, 115, 119, 120f
- Mutágenos, 111
- Mutualismo, 1
- Mycobacterium abscessus*, 314q, 319q, 322, 324
- Mycobacterium africanum*, 314q, 319, 319q
- Mycobacterium asiaticum*, 319q
- Mycobacterium avium*, 319
- Mycobacterium avium-intracellulare*, 661
- Mycobacterium bovis*, 314q, 315, 319, 319q, 321
- Mycobacterium canetti*, 319
- Mycobacterium caprae*, 319
- Mycobacterium celatum*, 319q
- Mycobacterium chelonae*, 314q, 319q, 322, 324, 388q
- Mycobacterium fallax*, 314q
- Mycobacterium flavescens*, 314q, 319q
- Mycobacterium fortuitum*, 314q, 315, 319q, 322, 324, 388q
- Mycobacterium gastri*, 314q, 319q
- Mycobacterium genavense*, 314q, 319q, 323
- Mycobacterium gordonae*, 314q, 319, 319q, 323
- Mycobacterium haemophilum*, 314q, 319q, 323
- Mycobacterium immunogenum*, 314q, 319q
- Mycobacterium intracellulare*, 319, 322
- Mycobacterium kansasii*, 314q, 315, 322, 324, 388q, 808
classificação da, 319q
- nas infecções pelo vírus HIV e Aids, 811q
- sondas de DNA para, 319
- Mycobacterium leprae*, 150, 313, 314q, 323–324, 388q
- Mycobacterium malmoeense*, 314q, 319q, 323
- Mycobacterium marinum*, 314q, 319q, 322
- Mycobacterium microti*, 319
- Mycobacterium mucogenicum*, 314q, 319q
- Mycobacterium nonchromogenicum*, 314q, 319q
- Mycobacterium paratuberculosis*, 323
- Mycobacterium phlei*, 319q, 323
- Mycobacterium pinnipedii*, 319
- Mycobacterium scrofulaceum*, 314q, 319q, 322
- Mycobacterium shimoidi*, 319q
- Mycobacterium simiae*, 314q, 319q
- Mycobacterium smegmatis*, 319q, 323
- Mycobacterium szulgai*, 314q, 319q
- Mycobacterium terrae*, 319q
- Mycobacterium trivale*, 319q
- Mycobacterium tuberculosis*, 313–321, 806–809
característica e crescimento da, 315
classificação da, 319q
cultura de, 313–315, 318–319
DNA para, 319–320
e hipersensibilidade a tuberculina, 142, 315, 316
epidemiologia da, 320–321, 808
fármacos de escolha para, 320, 321, 388q, 402–403, 807, 808
meningite por, 786
microscopia de fluorescência para, 12, 318
morfologia e identificação de, 313–315, 314q, 315f
nas infecções pelo vírus HIV e Aids, 659
parede celular da, 30, 315–316
resistência a fármacos para, 320, 378
tamanho do genoma de, 104q
testes de diagnósticos para, 318–320, 763, 764, 808
transmissão de, 151, 808
vacina BCG, 321
- Mycobacterium ulcerans*, 314q, 319q, 322
- Mycobacterium vaccae*, 319q
- Mycobacterium xenopi*, 314q, 319q
- Mycoplasma fermentans*, 342
- Mycoplasma genitalium*, 4, 341, 345
genoma do, 104q
- Mycoplasma hominis*, 341, 342, 344
- Mycoplasma orale*, 342
- Mycoplasma pneumoniae*, 341, 342, 343–344, 344f
estrutura molecular do, 32, 344f
genoma do, 104q
pneumonia por, 791q
testes diagnósticos para, 344
- Mycoplasma salivarium*, 342
- N**
- Naegleria fowleri*, 717q, 727, 732f
- Nafcilina, 385, 390
efeitos colaterais, 390
estrutura da, 389f
resistência a, 200, 201, 204, 377
- Naftaleno como fonte de carbono, 68
- Naftifina, 709
- Não cromogênicas, micobactérias, 319, 319q
- Não patogênica
- Nariz, microbiota normal do, 166q, 167
- Nasofaringe
carcinoma de, vírus Epstein-Barr, 471, 484, 486, 648
exame da amostra, 771
infecção estreptocócica da, 214
- National Institutes of Health (NIH), 165
- Necator americanus*, 735q, 736q, 739–740
- Nefelometria, 144
- Nefropatia epidêmica, 567
- Nefrose, quartã, 730
- Nefrotoxicidade dos antibióticos
aminoglicosídeos, 398
- Neisseria cinerea*, 286q, 292
- Neisseria elongata*, 286q
- Neisseria flavescens*, 285, 286q, 292
- Neisseria gonorrhoeae*, 23, 73, 150, 285–291
heterogeneidade antigênica de, 36, 159, 287–289, 289q
infecções do trato urinário por, 801
lipo-oligosacarídeo da, 30, 287, 288f, 289q
membrana externa de parede celular da, 30, 286f
nas infecções pelo vírus HIV e Aids, 813q
penicilinase-produtora, 289, 290
pili da, 36, 155
processo de aderência-invasão, 155
quimioprofilaxia das infecções, 291, 292, 385q
reações bioquímicas na, 286q
testes diagnósticos da, 289–290, 758q, 759q, 760, 764, 772
transferência de DNA na, 110
transmissão da, 804
tratamento das infecções, 290, 385q, 386q
resistência a fármacos no, 90, 377
- Neisseria lactamica*, 285, 286q, 292
- Neisseria meningitidis*, 160, 285, 291–292
genoma de, 104q
lipo-oligosacarídeo de, 30, 287, 291
membrana externa da parede celular da, 30, 291
meningite por, 291, 292, 785, 786, 786q
na microbiota normal, 166q
no bioterrorismo, 820
polímero extracelular de, 33q
reações bioquímicas da, 286q
sorotipos de, 291, 292
testes diagnósticos para, 291–292, 756q, 785
transferência de DNA na, 110
tratamento das infecções, 292, 386q
resistência a fármacos na, 377
vacinação contra, 786
- Neisseria mucosa*, 286q, 292
- Neisseria polysaccharea*, 286q
- Neisseria sicca*, 285, 286q, 292
- Neisseria subflava*, 285, 286q, 292
- Neisseriaceae, 285
- Nematelmintos, 716q, 739–740
- Nematódeos, 733, 739–740, 741
- Nematódeos, 738
- Neomicina, 398
- Neonatos. *Ver* Recém-nascidos
- Nervo trigêmeo, herpes-zóster envolvendo, 476f, 478
- Nervos torácicos, herpes-zóster envolvendo, 478f
- Netilmicina, 399
- Neuralgia, pós-herpética, 478

- Neuraminidase
 paramixovírus, 593, 593q, 594, 594f
 vírus *influenza*, 577–578
- Neuropatia, periférica, nas infecções pelo vírus
 HIV e Aids, 660
- Neurossífilis, 330
- Neurotoxina
 de *Clostridium botulinum*, 156, 179, 299
 de *Clostridium tetani*, 156, 180, 299
 de *Shigella dysenteriae*, 237
- Neutralização de toxinas, 137
- Neutralização viral, 137
- Neutralófilos, 70
- Nevirapina, 443q, 444
- Nichos, microbiano
 cultura de enriquecimento para duplicação
 dos, 73
 para procariontes, 4
- Nistatina, 709
- Nitrato, 68
- Nitrito, 68–69
- Nitrobacter*, 69
- Nitrofurantoína como antisséptico urinário,
 402
- Nitrogenase, 85–86, 87f
- Nitrogênio
 amônia, 68–69, 87
 assimilação do, 68, 85–88, 87f
 disseminação do, 68
 fixação do, 68, 85–88
 fontes de, 68–69, 68q
 nas culturas de enriquecimento, 73, 74q
- Nitrosomonas*, 69
- Nocardia asteroides*, 188q, 195, 295, 761q
- Nocardia brasiliensis*, 188q, 195
- Nocardia*, 188q
- Nocardiose, 194
 diagnóstico da, 761q
 tratamento da, 195, 388q
- Nódulos de Milker, 494, 494q, 502f
- Nomenclatura para bactérias, 43
- Norfloxacina, 399, 400f
- Norovírus, 543, 549 799q. *Ver também* Vírus de
 Norwalk
- Nosema algerae*, 733
- Nosema connori*, 733
- Nosema corneum*, 733
- Nosema ocularum*, 733
- Novobiocina, 373
- Núcleo das células eucariontes, 13, 14f
- Núcleo, endósporo, 37
- Nucleocapsídeo, 407f, 408
 do vírus *influenza*, 577, 578
 e envelope lipídico, 407f, 416, 416f
 na mistura fenotípica, 426
 na simetria helicoidal, 415
 no ciclo de replicação, 421, 424q
- Nucleóides, 4, 15–16, 16f
 coloração dos, 40
- Nucleólos das células eucariontes, 13, 14f
- Nucleoproteínas
 estreptocócicas, 212
 paramixovírus, 591, 593, 594f
 vírus *influenza*, 416f, 577
 anticorpos para, 585
- Nucleotídeos, 101
 análogos nas infecções virais, 443
 polimorfismos de nucleotídeo único, 53
- Nutrição
 e estreptococos nutricionalmente variantes, 218
 e expressão de genes de virulência, 153
 e grânulos de reserva de alimento, 91
 e microbiota normal no trato intestinal, 171
 na cultura de microrganismos, 68–69, 73
 carbono na, 68, 74q
 enxofre na, 69
 fósforo na, 69
 minerais na, 69
 nas culturas de enriquecimento, 73, 74q
 nitrogênio na, 68–69, 68q, 73, 74q
- O**
- Ochrobactrum anthropi*, 250
- Ochrobactrum*, 250
- Ofloxacina, 400f
- Oftalmia neonatal, gonocócica, 289, 291
- Oligossacarídeos, derivada de membrana, 30
- Onchocerca volvulus*, 736q, 743–744, 744f
- Oncocercose, 743–744
- Oncogene *abl*, 638f
- Oncogene *mos*, 638f
- Oncogene *myc*, 638f, 642, 648
 e *c-myc* nas infecções pelo vírus Epstein-Barr,
 486, 648
- Oncogene *ras*, 638f, 642
- Oncogene *src*, 638f, 642
- Oncogenes, 633–634, 638f, 639, 641–642
- Onicomiose, 679, 679q
 por *Candida* spp., 696
- Oocistos
Cryptosporidium, 722, 722f
Toxoplasma, 732
- Operadores na expressão do gene, 115
- Óperon, 112
- Opsoninas, 147
- Opsonização, 125, 147
 mecanismos na, 125
 sistema complemento, 139
- Orbivírus, 548, 567
 classificação dos, 54q
- Organismos aeróbios, 4
- Organismos anaeróbios, 5
- Organismos halófilos, 72, 255, 258
- Organismos osmofílicos, 72
- Órgãos linfoides nas infecções pelo vírus HIV e
 Aids, 659
- Orientia tsutsugamushi*, 350q, 351, 352
- Originalidade da hipótese científica, 1
- Oritavancina, 397
- Ornithodoros hermsii*, 332
- Ornitose, 367
- Orquite, caxumba, 602
- Ortomixovírus, 577–588
 classificação e características dos, 409q,
 413
 comparados com os paramixovírus, 583q
 forma e tamanho dos, 410f, 413
 genoma dos, 415
 mecanismos de interferência dos, 427
 replicação de, 421, 423q, 424q
 vias de entrada, 433q
- Ortopoxvírus, 494, 497, 501
 doenças associadas com, 494, 494q
 estrutura e composição dos, 494f
- imunidade para, 497–498
 isolamento e identificação dos, 498–499
- Ortorreovírus, 543
- Oseltamivir, 443q
- Osmolaridade
 e crescimento microbiano, 72
 e expressão de genes de virulência, 153–154
- Osteomielite, 802
Brucella, 272
 estafilocócica, 203, 204, 802
 testes diagnósticos para, 759q, 767, 802
 tratamento da, 802
- Otite
Haemophilus, 266, 387q
Pseudomonas aeruginosa, 247
 testes diagnósticos para, 771
 vírus do sarampo, 604
 vírus *parainfluenza*, 596
 vírus sincicial respiratório, 599
- Oxacilina, 389f, 390
 resistência a, 200, 204
- Oxaloacetato, 80
 e formação do α -cetoglutarato, 80, 83f
 no ciclo do ácido tricarboxílico, 84f
 no ciclo do glicoxilato, 85f
 produtos finais biossintéticos do, 80f
- Oxalosuccinato no ciclo do ácido tricarboxílico,
 84f
- Oxazolidinonas, 375, 397
- Oxidantes, redução química dos, 68
- Óxido de etileno, ação antimicrobiana do, 62q, 64
- Oxigenases
 e uso do benzoato, 84–85, 87f
- Oxigênio
 como acceptor de hidrogênio, 71
 e crescimento microbiano, 71–72
- Oxiúros, 734, 735q
- Ozônio, ação antimicrobiana do, 61q
- P**
- p17, HIV, 661q, 662
- p24, HIV, 661q, 662, 663, 781, 782
- p32, HIV, 661q
- p55, HIV, 661q, 662
- p66, HIV, 661q
- Paecilomyces*, 703
- Paenibacillus popilliae*, 178
- Pandora*, 246q
- Panencefalite
 como complicação do sarampo, 440, 605, 626,
 627q, 629
 rubéola, 609
- Papilomas laríngeos e infecções pelo
 papilomavírus, 647
- Papilomavírus, 644–647, 646q
 classificação e características dos, 409q, 411,
 644–645, 646q
 comparados aos poliomavírus, 646
 estrutura e composição dos, 410f, 411, 644–645,
 645f
 genoma dos, 644–645, 645f
 infecção crônica, 438f
 nas infecções pelo vírus HIV e Aids, 647, 661,
 813q
 propriedades dos, 645f
 replicação dos, 645, 645f

- testes diagnósticos para, 778q
tumores associados com, 411, 438f, 633, 633q, 642f, 644–647, 647f
câncer cervical por, 438f
vacina, 647
vias de entrada, 433q
- Pápulas em infecções virais, 439
- para adenovírus, 463
em blastomicose, 693
na coccidioidomicose, 688, 690q
na histoplasmose, 690q, 691
na paracoccidioidomicose, 693
para clamídias, 360, 367, 774
- Paracoccidioides brasiliensis*, 673q, 686q, 690q, 693–694
epidemiologia do, 694
morfologia e identificação do, 693
testes diagnósticos para, 762q
tratamento do, 693
- Paracoccidioidina, 693
- Paracoccidioidomicose, 673q, 685–686, 686q, 693–694, 693f
diagnóstico da, 690q, 693, 762q
- Paragonimíase, 737q
- Paragonimus westermani*, 737q, 745–746, 746f
- Paralisia
na raiva, 622
nas infecções por enterovírus, 533, 534q, 536
na poliomielite, 531, 532, 533
no botulismo, 179–180, 797q
no tétano, 156, 180
- Paramixovírus, 591–607, 609–610
classificação dos, 592–593
classificação e características dos, 409q, 413, 593q
comparado aos ortomixovírus, 583q
efeitos citopáticos em cultura, 417f
estrutura e composição dos, 410f, 591–592, 592f
genoma dos, 591, 592f, 594
metapneumovírus, 600–601, 609
propriedades dos, 591–594, 591q
replicação dos, 421, 423q, 424q, 593–594, 595f
vias de entrada, 433q
vírus da caxumba, 601–603, 610
vírus da rubéola, 603–606
vírus do sarampo, 610
vírus Hendra, 606–607, 610
vírus Nipah, 606–607, 610
vírus *parainfluenza*, 594–598, 609–610
vírus sincicial respiratório, 598–600, 609
- Parapoxvírus, 494, 495f, 501
classificação dos, 493–494, 494q
testes diagnósticos para, 498–499
- Parasitismo, 1, 5
genético, 105
- Parasitas, 1, 715
amebas de vida livre, 727
Balantidium coli, 715
clamídia, 359, 361
classificação dos, 715
esporozoários, 727–732
flagelados, intestinais, 716q
helmintos, 724–746
microsporídeos, 733
- Parechovírus, 539
características dos, 530q
classificação dos, 529
síndromes associadas aos, 534q, 539
- Parede celular
de arqueobactérias, 30, 50
de bactérias, 23–32
agentes antimicrobianos que afetam a, 62–63, 89–91, 90f, 371–373
camada de peptidoglicano na. *Ver* Peptidoglicano, parede celular
camadas de superfície cristalina da, 30–31
clamidial, 359, 360f
crescimento da, 32
e esferoplastos, 32, 371
e protoplasma, 31, 32, 371
em organismos álcool acidorresistentes, 30
enzimas que afetam, 31
formas L, 32, 49, 345
lipopolissacarídeo na, 27, 157–158
micoplasma falta de, 32, 49, 341–345
nas bactérias gram-negativas, 27–30, 48–49, 157–158
nas bactérias gram-positivas, 26–27, 26f, 49
sistemas de classificação baseados na, 47q, 48–50
de eucariontes, 14–15
de fungos, 674
lipopolissacarídeo na, 29–30
- Pares de base
no DNA, 101, 103f
mutações por substituição, 111
no RNA, 101–102
- Paromomicina, 398
- Parotidite, 583q
caxumba, 601, 603, 778q
- Partículas de Dane, 509, 509f
- Parvovirinae, 451
- Parvovírus B19, 409, 451, 452–455
infecções congênitas e perinatais, 441q
- Parvovírus, 451–455
achados clínicos nas infecções, 454–455
adeno associado defeituoso, 409, 451
classificação e características, 409, 409q, 451
epidemiologia dos, 455
estrutura e composição dos, 410f, 451, 550f
infecções congênitas e perinatais, 440, 441q
infecções persistentes, 452, 454
patogênese nas infecções, 452–454
propriedades dos, 451q
replicação dos, 423q, 424q, 451–452
testes diagnósticos para, 455, 778q
vias de entrada, 433q
- Pasteurella bettyae*, 282.
Pasteurella multocida, 282
Pasteurella pneumotropica, 282
- Patogênese da doença, 431
- Patogenicidade intracelular, 159
- Patogenicidade, definição de, 149
- Patógenos
bactérias como, 150–151
definição de, 149
e relações fármaco-patógeno, 379–380
e relações hospedeiro-patógeno, 380–381
oportunistas, 143, 149, 151
- Patógenos oportunistas e infecções, 143, 151
bactérias entéricas, 235
Campylobacter fetus, 261
definição de, 149
e microbiota normal, 166
fúngicos, 673q, 694–703
micobactérias, 313
na quimioprofilaxia antimicrobiana, 384
nas infecções pelo vírus HIV e Aids, 143, 660–661, 810
no transplante de medula óssea, 816–817, 816f
nocardiose, 194
- PCR acoplado a cromatografia de massa com ionização por (PCR-ESI-MS), 765
- Pé de atleta, 679, 679q
- Pé de Madura (Micetoma), 195, 685
- Pediculose, fármaco tópico para, 385q
Pediculus humanus capitis, 352
Pediculus humanus corporis, 352
Pediculus humanus, riquetsioses associadas a, 352
Pediococcus, 224q
- Pele
como barreira na imunidade inata, 124, 152
como porta de entrada para patógenos, 152
desinfecção da, 384, 385q
diagnósticos das infecções, 756q, 762q
infecções bacterianas por anaeróbios, 301q, 773
agentes antimicrobianos tópicos nas, 385q
Bacillus anthracis, 176–177
Bartonella bacilliformis, 308
Candida, 694–697
Corynebacterium diphtheriae, 189, 190
Erysipelothrix rhusiopathiae, 193
estafilocócicas, 203, 204
estreptocócicas, 214, 217
Francisella tularensis, 274
Mycobacterium leprae, 323–324
na melioidose, 248
Neisseria gonorrhoeae, 289
Propionibacterium acnes, 298
Pseudomonas aeruginosa, 246
quimioprofilaxia das, 385q
Vibrio vulnificus, 258
infecções fúngicas da, 673q, 676–681
infecções virais, 433q, 436f, 439–440, 474, 477f, 498f, 503f
herpes simples, 472q
na varíola, 497
no câncer, 647
no molusco contagioso, 503
papilomavírus, 645f, 646, 646q
patogênese das, 435–436
varicela-zóster, 477
microbiota normal da, 165, 166, 167, 168f
microrganismos na, 166q, 167
- Peliose hepática, 309
- Penicilina, 385, 389–390
efeito colateral da, 390
estrutura da, 385, 389f
farmacocinética da, 389f–396
mecanismo de ação, 385
síntese do peptidoglicano da parede celular no, 89–91, 90f, 372–373, 385
na interação, 383
na sífilis, 330
reações alérgicas a, 390
resistência a, 372–373, 375, 376, 377, 389
tolerância na, 373
uso clínicos da, 390
uso profilático da, 383
- Penicilina benzatina, 390
- Penicilina G, 385
estrutura da, 389f

- resistência a, 204, 205
uso clínico da, 390
- Penicilina procaína, 390
- Penicilina V, 385
- Penicilinase
estafilococos produtores, 205, 386q
Neisseria gonorrhoeae produtora, 289, 290
- Peniciliose, 673q, 702
- Penicillium marneffei*, 673q, 702
- Penicillium notatum*, 384
- Penicillium*, conídios de, 674f
- Pentamidina, 383
- Pentose 5-fosfato, 78
- Peplômeros, 408, 413
- Peptidiltransferase na expressão gênica, 112
- Peptidoglicano
parede celular, 24, 28–29, 37
agentes antimicrobianos afetando, 89–91, 90f, 371–373
efeitos tóxicos do, 158
em bactérias gram-negativas, 24, 28–29, 158, 372
em bactérias gram-positivas, 24, 158, 372
estrutura do, 25f
síntese do, 89–91, 90f, 371–373
- Peptidoglicano, parede celular
- Peptococcus anaerobius*, 72
- Peptococcus*, 296q
- Pericardite nas infecções pelo vírus Coxsackie, 534q, 535
- Período de eclipse na replicação viral, 421
- Período de incubação
contagem de morte celular no, 58
e atividade antimicrobiana, 379
- Periodontite crônica, causada por bactérias, 170–171
- Peritonite, 795–796
- Permeabilidade
da membrana citoplasmática, 19–21, 374, 375
da parede celular
bactérias álcool-ácido, 30
na membrana externa, 27–28
- Peromyscus maniculatus* (rato veadeiro)
e síndrome pulmonar por hantavírus, 557q
e vírus Sin Nombre, 568
- Peróxido de hidrogênio, 71–72
ação antimicrobiana do, 61q, 62q, 64, 71–72
- Peroxigênio, ação antimicrobiana do, 61q, 64
- Peroxissomo, 14
- Pertussis*, 268–270
fatores de virulência, 153, 268–269
testes diagnósticos para, 269–270, 755, 757q, 760, 764
vacinação, 191, 270
- Petéquias nas infecções virais, 439
- pH
e atividade dos agentes antimicrobianos, 378
e expressão de genes de virulência, 153–154
gastrintestinal, 171
e infecções pelo *Helicobacter pylori*, 261
e infecções pelo *Vibrio cholerae*, 255
no cultivo de microrganismos, 70, 73
vírus afetados pelo, 420
vaginal, 124, 172, 298
- Phialophora richardsiae*, 684
- Phialophora verrucosa*, 673q, 683
- Phialophora*, em infecções oportunistas, 703
- Phlebotomus* mosquito pólvora
febre de flebotomos causada pelo, 554q, 566
leishmaniose pelo, 724
- Phlebotomus papatasi*, 566
- Picada de mosca negra, infecções helmínticas por, 743
- Picadas de mosquito *Simulium*, infecções helmínticas transmitidas pelas, 743–744
- Picobirnavírus, 409q, 412
- Picornavírus, 507, 507q, 527–540
classificação e características dos, 409q, 411–412, 527q, 528–529, 529f
doença do pé, mão e boca por, 539–540
estrutura e composição dos, 410f, 527, 528f, 530q
fenda ou canal na, 527, 528f
genoma dos, 415, 530f
grupo dos enterovírus, 531–540
grupo dos parecovírus, 539
grupo rinovírus, 538–539
replicação dos, 421, 423q, 424q, 529–531, 530f
simetria cúbica na, 411–412
tipos de hospedeiros, 529
vias de entrada, 433q
- Piedra branca, 673q, 677, 677f
- Piedra negra, 673q, 677
- Piedra
branca, 673q, 677, 677f
negra, 673q, 677, 677f
- Piedraia hortai*, 673q, 677
- Pielonefrite, 769–770, 801
- Pigbel*, 182
- Pili*, bacterianos, 36
de *Neisseria gonorrhoeae*, 36, 155, 286, 286f
na aderência, 154, 161
na transferência de DNA, 108f
pili sexuais, 36, 109, 109f
variações antigênicas nos, 36
- Pilinas, 36
de *Neisseria gonorrhoeae*, 286
- Pinta, 327, 331
- Piocianina, 245
- Piocinas de *Pseudomonas aeruginosa*, 246
- Pioderma, 214
Fármacos tópicos na, 385q
- Piomelanina, 245
- Piorrubina, 245
- Pioverdina, 245
- Piperacilina, 383, 385, 390
- Pirazinamida, 403
na tuberculose, 320, 403, 807, 809
- Primetamina, 375, 383
- Pirogênios, 126
Exotoxinas estreptocócicas, 157, 213
- Piruvato
e aspartato semialdeído, 89, 89f
e formação do α -cetoglutarato, 80, 83f
e metabolismo de oxaloacetato, 80
e metabolismo do fosfoenolpiruvato, 78–80, 82f
na via Embden-Meyerhof, 92, 93f
- Pitíriase versicolor, 673q, 676–677
- Placa
amiloide, em infecções por príons, 627, 628
dental, 32, 169, 170f
- Planctomicetos, 15–16
- Plaques em placa de Petri, 74
- Plasmídeos, 5, 101, 104–105
análise de perfil dos, 51
- antígenos plasmidiais de invasão, 155
auto transferíveis, 108–109, 108f
classificação bacteriana baseada em, 51
e classificação bacteriana, 45
e fatores de virulência bacterianas, 152, 153q
elementos de sequência de inserção nos, 105, 109
em estafilococos, 200
em eucariontes, 104
fatores de fertilidade nos, 109, 110f
funções metabólicas dos, 105q
incompatibilidade dos, 107
na resistência a fármacos, 5, 107, 109, 374, 376, 378
quiméricos, 115, 117f
recombinantes, 116, 117f
replicação dos, 107
transferência por conjugação, 108–109, 108f
variedade de hospedeiros
ampla, 5
reduzida, 107
- Plasmócitos, 128f, 147
- Plasmódio, dos mixomicetos, 7
- Plasmodium falciparum*, 718q, 728–731, 732f
característica do, 729q
ciclo de vida do, 728f
estágios de desenvolvimento do, 730f
morfologia e identificação do, 728–731
- Plasmodium malariae*, 718q, 728–731
característica do, 729q
estágios de desenvolvimento do, 730f
morfologia e identificação do, 728–731
- Plasmodium ovale*, 718q, 728–731
característica do, 729q
ciclo de vida do, 728f
estágios de desenvolvimento do, 730f
morfologia e identificação do, 728–731
- Plasmodium vivax*, 717q, 728–731, 732f
característica do, 729q
ciclo de vida do, 728f
estágios de desenvolvimento do, 730f
morfologia e identificação do, 728–731
- Platelmintos, 715, 719
- Plesiomonas shigelloides*, 232, 259
- Plesiomonas*, 255, 262
- Pleurodinia nas infecções pelo vírus Coxsackie, 534q, 535, 583q
- PMNs, 125
- Pneumococos, 166q, 218–222. *Ver também*
Streptococcus pneumoniae
- Pneumocystis carinii*, 702
- Pneumocystis jirovecii*, 53, 673q, 702, 792q
diagnóstico do, 702, 755
nas infecções pelo vírus HIV e Aids, 702, 811q
no transplante de medula óssea, 816
pneumonia por, 702, 792q
- Pneumocystis pneumonia*, 673q
- Pneumonia, 439q, 789–793
Acinetobacter, 250
atípica, 790
Bordetella pertussis, 269
Chlamydia pneumoniae, 365–366, 792q
Chlamydia psittaci, 366–368
Chlamydia trachomatis, 364–365, 774
citomegalovírus na, 483
combinada viral-bacteriana, 584
comunitária, 790
diagnóstico diferencial na, 789, 790

- Klebsiella pneumoniae*, 235, 791q
Legionella, 305–308, 387q, 792q
Mycoplasma, 341, 342
nas complicações do sarampo, 604–605
nas infecções pelo vírus HIV e Aids, 813q
Nocardia, 194
nosocomial, 790
Pasteurella, 282
radiografia do tórax na, 789, 790, 791q
testes diagnósticos para, 757q, 789, 790, 791q
vírus *parainfluenza*, 595
vírus sincicial respiratório, 598
Pneumonia associada a assistência médica, 790
Pneumonia bacteriana, aguda, 790
Pneumonia contraída no hospital (nosocomial), 790
Pneumonite
Mycoplasma, 343–344
na melioidose, 248
na tularemia, 274
Pneumovírus
características dos, 593q
classificação dos, 593
estrutura e composição dos, 591, 592f
Poder de resolução dos microscópios, 11
Polifosfato, 17
Polimavírus, 409q
Polímeros, extracelular, em bactérias, 32, 33q
síntese de, 91
Polimixina E, 397
Polimixinas
na inibição da síntese da membrana celular, 373, 375, 397–398
Polimorfismo
do complexo principal de histocompatibilidade, 129
no comprimento do fragmento de restrição (RFLP), 120
na subtipagem bacteriana, 51
nucleotídeo único, 53
Poliomavírus, 626–627, 642–644
classificação e características dos, 411, 643
comparados aos papilomavírus, 646
estrutura e composição dos, 410f, 411, 643–644
mapa genético dos, 643f
murino, 643–644
propriedades dos, 643f
replicação dos, 423, 424q, 643–644
tumores associados com, 411, 633q, 642–644, 642f
variedade de hospedeiros dos, 644
Poliomielite, 531–533
não paralítica, 532
patogênese da, 435–436, 436f, 531
vacinação, 446f, 447q, 533
Poliovírus, 434f, 436f, 531–533
características, 530q
ciclo de replicação, 421, 529
classificação, 529
disseminação pelo corpo, 434f, 531
estrutura e composição, 527
genética, 425, 527
vacinação, 447q, 533
complicações da, 533
contaminação pelo vírus SV40, 644
respostas de anticorpos na, 447, 447f
Polissacarídeos
capsulares, 32, 33q
em estreptococos, 32, 33q, 209, 219
micobacterianos, 316
na parede celular das bactérias gram-negativas, 29–30, 29f, 91, 91f
na parede celular das bactérias gram-positivas, 27
Polissomos, 374
Poli-β-hidroxibutirato, 91
Pontes de anidridos, 67, 77, 80, 91
Porcos
coronavírus nos, 615–616
e gripe suína, 438f, 586, 587f
tênias nos, 741–742
Porinas na parede celular das bactérias gram-negativas, 27, 28, 28f
Porphyromonas, 296
Portador, 149
de *Haemophilus influenzae*, 266
de hepatite B, 512–513, 521
de infecções estreptocócicas, 216
de *Salmonella*, 241
Posaconazol, 705q, 707, 708f
Postulados de Koch, 150–151, 150q
Poxvírus, 493–504, 648
classificação e características dos, 409q, 411, 493–495, 494q
estrutura e composição dos, 410f, 411, 493, 494f
proteína na, 411, 493
genoma dos, 411, 493
propriedades dos, 493–496, 493q
reativação dos, 495
replicação dos, 423, 424q, 495–496, 496f
tumores associados aos, 502, 503–504, 648
vias de entrada, 433q
Praga, 279–281, 819
fármaco de escolha para, 281, 387q
Precauções padrões no controle das infecções, 522
Predição, 1
Preocupações de biosegurança no laboratório nos vírus, 419
arbovírus, 559
filovírus, 571
vírus da varíola, 497
para espécimes de *Brucella*, 271
para espécimes de *Francisella tularensis*, 274
preocupações padrões na, 522
Preservação
biocidas usados para, 61q–62q
definição de, 62
Pressão osmótica e crescimento microbiano, 63, 72, 91
Prevotella bivia, 296, 301
Prevotella disiens, 296, 301
Prevotella melaninogenica, 296, 296q, 301
Primer de resistência, 109
Primer R, 109
Príons, 2–3, 3f, 414, 437, 440, 626, 627
características diferenciadoras dos, 4q
doenças associadas com, 627–629, 627q, 638f
animais, 4q
humanos, 4q
mecanismo proposto para replicação, 3f
Pristinamicina, 397
Procariontes, 3–6
arqueobactérias, 6, 50. *Ver também* *Archaeobacteria*
bactérias, 6. *Ver também* Bactéria
classificação dos, 5–6, 43–48
coloração dos, 39–40
comparado aos eucariontes, 2, 15–16, 18, 49q, 50
comportamento multicelular nos, 5
comunidade de, 5
diversidade dos f, 4–5
estrutura celular dos, 15–39
expressão gênica nos, 112–115
fotossíntese nos, 96
genoma dos, 4, 104–105, 104q
replicação do DNA nos, 106
transferência de DNA nos, 107–111
vírus associados com, 105
Procedimento de coloração negativa, 33f, 39
Procedimentos de aspiração, transtraqueal, 771
Processamento de antígeno, 130f, 131–132
Processo de esporulação, 36–37, 38f
Processo de respiração, 21, 67–68, 94–96
acceptor de elétrons no, 36, 94–95
anaeróbio, 95
comparado a fotossíntese, 68
doador de elétron no, 68
força motriz de prótons no, 68, 94–95
nos quimiolitotróficos, 95
transporte de elétron no, 94–95, 96f
Processo de seleção natural na evolução, 2, 5
Processo de tradução
e expressão gênica, 112
na replicação do paramixovírus, 594
na replicação do vírus *influenza*, 581–582, 582f
Processo de translocação de grupo nas bactérias, e metabolismo vetorial, 20, 92
Processo de variação para controle da varíola, 496
Proctite, 289
Produção do indol por Enterobacteriaceae, 230q, 232
Profilaxia antifúngica, 703
Programa S-A-F-E no controle de tracoma, 363
Projeto microbioma humano, 165
Prolina, 88, 88f
Promastigotas, *Leishmania*, 725–726
Propionibacterium acnes, 298
Propriedades morfológicas na classificação dos eucariontes, 6
Prostaglandinas
na resposta inflamatória, 126
nas reações de hipersensibilidade do tipo I, 141
Proteassoma, 131
Proteína
ativadora, 113
inibição da síntese
em bactérias, 49q, 373–375
nas arqueobactérias, 49q
na parede celular bacteriana, 27f, 28–29, 28f, 31
nas micobactérias, 316
no líquido cefalorraquiano, 787q
repressora, 112, 113
sistemas de secreção bacteriana, 21–23, 22f
Proteína A, estafilocócica, 159, 201
Proteína de fusão, paramixovírus, 591, 593, 593q, 594, 594f, 602
anticorpos para, 594
Proteína de ligação à penicilina de baixa afinidade (PBP2a), 200
Proteína F
estreptocócica e ácido lipoteicoico na aderência, 154
paramixovírus, 591, 593, 593q, 594, 594f
anticorpos para, 594, 597, 602

- Proteína G
paramixovírus, 593, 594
rabdo vírus, 619–620
- Proteína H, paramixovírus, 593, 594
- Proteína H, paramixovírus, 593, 594
- Proteína HE, coronavírus, 613
- Proteína L
paramixovírus, 591, 594, 594f
rabdo vírus, 619
- Proteína LamB, 28
- Proteína ligante AMP cíclica (CAP), 115
- Proteína Lip (H8) de *Neisseria gonorrhoeae*, 287, 289q
- Proteína M
coronavírus, 613, 615f
estreptocócica, 212, 215
como fator de virulência, 154, 212
e ácido lipoteicoico na aderência, 26, 154, 211
paramixovírus, 591, 594, 594f
vírus da raiva, 619, 620f, 621f
vírus do sarampo, 626
vírus *influenza*, 577, 578
anticorpos para, 585
no ciclo de replicação, 578, 581
- Proteína N
coronavírus, 613, 614, 615f
rabdo vírus, 619–620
- Proteína OmpA, 28
em riquetsias, 349
- Proteína OmpB em riquetsias, 349
- Proteína OmpC, 28
- Proteína OmpD, 28
- Proteína OmpF, 28, 28f
- Proteína P
paramixovírus, 591, 594, 594f
rabdo vírus, 619–620
vírus da hepatite B, 509–510
vírus *influenza*, 582
- Proteína PhoE, 28
- Proteína Por da *Neisseria gonorrhoeae*, 286–287, 286f, 289q
- Proteína priônica PrP, 2–3, 628
- Proteína R, estreptocócica, 212
- Proteína Rev, 653
- Proteína Rmp modificável por redução de *Neisseria gonorrhoeae*, 287, 289q
- Proteína S
coronavírus, 613, 614, 615f
de *Campylobacter fetus*, 261
- Proteína SH
paramixovírus, 594f
pneumovírus, 591
- Proteína TonB, 28
- Proteína Tsx, 28
- Proteína V, na replicação dos paramixovírus, 594f
- Proteína V, paramixovírus, 594f
- proteína X do vírus da hepatite B, 509
- Proteínas alostéricas, enzimas como, 97
- Proteínas associadas à opacidade (Opa), 155
de *Neisseria gonorrhoeae*, 285, 287, 289q, 291
de *Neisseria meningitidis*, 291
- Proteínas de canal na membrana celular, 20
- Proteínas de choque térmico, 71
- Proteínas de membrana externa (MOMP), clamidiais, 359, 364
- Proteínas de membrana latentes LMP1/LMP2, Vírus Epstein-Barr, 485, 486, 648
- Proteínas de superfície externa de *Borrelia burgdorferi*, 333
- Proteínas de superfície externa Osp de *Borrelia burgdorferi*, 333
- Proteínas iniciais
adenovírus E1A e E1B, 460, 461, 642f, 648
papilomavírus E6 e E7, 642f, 646
- Proteínas latentes da membrana LMP1/LMP2, Vírus Epstein-Barr, 486, 648
- Proteínas ligadoras de penicilinas (PBPs), 89–91, 372, 377, 385
e resistência a penicilina, 385
- Proteínas NS
alfavírus, 558f
rotavírus, 546, 546f
vírus *influenza*, 578
- Proteínas priônicas, 414, 628
- Proteínas R, estreptocócica, 212
- Proteínas secretadas, 21–23, 22f
- Proteínas SNARE, toxina botulínica que afeta, 179
- Proteínas VP
filovírus, 572f
herpes-vírus, 469
parvovírus, 451
picornavírus, 527, 528f, 531
poliovírus, 532
rotavírus, 545, 546f
- Proteínas- α na replicação dos herpes-vírus, 469, 469f
- Proteínas- β na replicação dos herpes-vírus, 469, 469f
- Proteínas- γ na replicação dos herpes-vírus, 469, 469f
- Próteses
infecções estafilocócicas nas, 204, 205
infecções estreptocócicas nas, 216
- Proteus mirabilis*, 230q, 232, 235, 387q
- Proteus vulgaris*, 34f, 235, 387q
- Protistas, 6–7
- Protômero, 408
- Protoplastos, 31, 32, 345
agentes antimicrobianos que afetam, 63, 371
- Protozoários, 2, 7, 715, 719q–720q
infecções intestinais por, 719–723
infecções sanguíneas e de tecidos por, 723–733
infecções sexualmente transmissíveis por, 723
- Providencia alcalifaciens*, 236
- Providencia rettgeri*, 236
- Providencia stuartii*, 236
- Provírus na replicação dos picornavírus, 531
- Pseudallescheria boydii*, 673q, 685
- Pseudocistos, *Toxoplasma*, 745
- Pseudoenvelopes na replicação dos rotavírus, 544
- Pseudo-hifas, 672, 673
de *Candida*, 694, 695f, 696
- Pseudomonas aeruginosa*, 166q, 245–248, 246q, 251
adenovírus, 583q
estafilocócica, 791q
estreptocócica, 791q
estrutura antigênica de, 245–246
fármacos de escolha para, 247–248, 387q
formação de biofilme, 58, 160, 245
mapa genético de, 109
morfologia e identificação, 245
osteomielite por, 802
- permeabilidade da membrana externa da parede celular, 28
- pneumocócica, 152, 790, 791q
- pneumonia por, 791q
- secreção proteica por, 23
- testes diagnósticos para, 247
- variação na morfologia colonial de, 247f
- Pseudomonas fluorescens*, 246q
- Pseudomonas mendocina*, 246q
- Pseudomonas putida*, 109, 246q
- Pseudomonas stutzeri*, 246q
- Pseudomonas*, 245–249
- Pseudomureína nas paredes celulares das arqueobactérias, 30
- Pseudorraiva, 468
- Pseudovariola bovina, 494, 494q, 502f
- Pseudovirions, 426
- Psicrófilos, faixa de temperatura ótima para, 70
- Psitacose, 361, 366–368, 774
- Pulga de rato, riquetsioses associadas a, 352
- Pulmões, infecções helmínticas dos, 738–740
- Purificação de vírus, 418–419
- Putrescina, 72
- Q**
- Quebra da estrutura terciária e desnaturação, 62
classificação baseada na, 408
como unidade estrutural, 407, 408
glicosilação da, 416
no ciclo de replicação, 421, 423
nos poxvírus, 493, 495
resposta imune a, 435
viral, 2, 415
- Queimaduras, fármacos tópicos para, 385q
- Quéron, 679q, 680
- Quilobases do DNA, 101
- Quimiocinas, 126, 133, 138, 147
- Quimiolitotróficos, 50, 68, 95
- Quimioprofilaxia, antimicrobiana, 383–384
nas infecções por estreptococos, 216, 383
nas infecções por *Haemophilus influenzae*, 267
nas infecções por *Shigella*, 238
nas infecções por *Vibrio cholerae*, 258
- Quimioestatos em culturas contínuas, 58
- Quimiotaxia, 146
flagelo na, 35–36
funções da membrana celular na, 21
na fagocitose, 125
na resposta infamatória, 126
sistema complementar na, 139
- Quimioterapia antiviral, 441–444
agentes na, 443q
na infecção pelo HIV e Aids, 441–444, 443q, 665, 810
- Quimioterapia, antimicrobiana, 64. *Ver também* Agentes antimicrobianos
- Quinase
e metabolismo dos carboidratos, 78, 81f
na via Embden-Meyerhof, 92, 93f
- Quinta doença (eritema infeccioso), 453, 454, 454f, 455
- Quinupristina-dalfopristina, 397
mecanismo de ação, 375
resistência à, 378
- Quorum sensing*, 5

R

- Rabdovírus, 619, 629
 classificação e características dos, 409q, 413, 619
 estrutura e composição dos, 409q, 410f, 413, 619, 620f
 formação de pseudotipos, 426
 genoma dos, 413, 416, 619–620
 propriedade dos, 619q
 raiva por, 619–626
 replicação dos, 421, 424q, 619–620, 621f
 vias de entrada, 433q
- Radiação, ação antimicrobiana da, 58, 62
 na inativação viral, 420
 no dano ao DNA, 62
- Radiação ultravioleta, ação antimicrobiana da, 62
 inativação do vírus na, 420
 no dano ao DNA, 62, 111
- Radiografia de tórax na pneumonia, 789, 790, 791q
- Radioimunoensaio para vírus, 418
- Raios X, Cristalografia, estrutura do vírus na, 414
Ralstonia pickettii, 246q
- Raltegravir, 443q
- Raminose, e grupo de Lancefield dos estreptococos, 209
- Rato doméstico *Mastomys natalensis*, vírus Lassa no, 569
- Rato veadeiro
 e síndrome pulmonar por hantavírus, 557q
 e vírus *Sin Nombre*, 568
- Reação Anamox (oxidação anaeróbia de amônia), 69
- Reação de Arthus, 142
- Reação de cadeia ligase, 764
- Reação de cadeia polimerase MassTag, 765
- Reação de fosfocetolase, 92, 94f
- Reação de Jarisch-Herxheimer, 330
- Reação de Quellung, 771
 na identificação do *Streptococcus pneumoniae*, 219, 220f
- Reação de Voges-Proskauer, 230q, 232, 256
- Reações alérgicas, 141–142
 a cefalosporinas, 393
 a fungos, 703
 na aspergilose, 700, 703
 na dermatofitose, 680
 a penicilinas, 390
 a sulfonamidas, 401
- Reações anafiláticas, 135, 141
- Reações de hipersensibilidade mediada por células, 142
- Reações de hipersensibilidade, 141, 145, 146
 contato, 142
 mediado por anticorpos, papel da IgE na, 135, 141
 no teste cutâneo para tuberculina, 142, 315, 316, 317
 para cefalosporinas, 393
 para fungos, 703
 na aspergilose, 703
 na coccidiodomicose, 687
 na dermatofitose, 679
 para penicilinas, 390
 para sulfonamidas, 401
 tipo I (imediate), 141–142, 145, 146
 anafilático, 135, 141
 atópico, 141–142
 mediadores do, 141
 tipo II, 141–142, 145, 146
 tipo III (imuno complexo), 142, 145, 146
 tipo IV (tardio), 142, 145, 146
- Reações de hipersensibilidade tardia, 142, 146
- Reações de transaminação, 88
- Reações de transpeptidação em bactérias, 89, 372
 fármacos β -lactâmicos afetando, 372
- Reagina, 328
- Reativação
 em vírus
 não genética, 495
 varicela-zóster, 476
 na tuberculose, 317, 808
- Receptor de célula B, 132
- Receptor de célula T, 129, 137–138
 e complexo principal de histocompatibilidade, 131f
- Receptores de reconhecimento padrão, 167
- Receptores de transplante, 813–817
 doença de Creutzfeldt-Jakob nos, 628
 doença do enxerto *versus* hospedeiro nos, 815, 816, 816f
 infecção pelo herpes-vírus 6 nos, 487
 infecções pelo adenovírus nos, 464
 infecções pelo citomegalovírus nos, 483, 484, 814, 816
 infecções pelo herpes-vírus simples nos, 474
 infecções pelo vírus Epstein-Barr nos, 486
 nefropatia associada ao poliomavírus nos, 644
 quimioprofilaxia antimicrobiana nos, 384
 raiva nos, 625
 rejeição rápida do enxerto nos, 129
 vírus coriomeningite linfocítica nos, 571
- Receptores do tipo NOD (TLRs), 124
- Receptores do tipo Toll (TLRs), 124, 147
- Recidiva na malária, 728
- Recombinação genética
 em bactérias, 107
 em vírus, 426
- Recombinação genética, 581
- Recombinação homóloga, 107, 109
- Recombinação não homóloga, 107
- Redução assimilatória do nitrito, 68
- Regiões constantes e domínios nas imunoglobulinas, 133, 135–136
- Regiões determinantes de complementariedade das imunoglobulinas, 133
- Regiões hipervariáveis das imunoglobulinas, 133
- Regiões variáveis e domínios nas imunoglobulinas, 133, 135–136
 e mecanismos de rearranjo genético, 135–136
 e regiões hipervariáveis, 133, 135
- Reoviridae, 548
- Reovírus, 543–544, 548, 554q
 características dos, 409q, 412, 543, 543f
 classificação dos, 409q, 412, 543–544, 548, 554q
 epidemiologia dos, 548
 estrutura e composição dos, 410f, 543, 543f, 554q
 febre do carrapato do Colorado por, 427, 553, 554q, 567
 genoma dos, 543
 replicação dos, 421, 423q, 424q, 544
 vias de entrada dos, 433q
- Reparação de erros de emparelhamento (*mismatch*), 111
- Repetições em tandem do número variável (VNTR), 53
 análise de múltiplos *locus* das, 53
- Replicação, 106–107
 do DNA bacteriano, 106
 locais de origem e de terminação para, 106
 mecanismos de recombinação na, 107
 dos vírus, 2, 105, 420–425
 bacteriófagos, 106–107, 110
 defectiva, 426
 interferência na, 427
 na patogênese das infecções, 431
 lítica ou vegetativa, 107
- Replicação bidirecional, 106
- Replicação semiconservativa, 106
- Replicação vegetativa, 107
- Réplicons, 104
- Repressão catabólica, 21
- Repressão na expressão gênica, 107, 112
 e desrepressão, 107
- Requerimento de fator X para *Haemophilus*, 265, 266–267, 266q
- Requerimento de ferro por bactérias, 21, 69, 160
- Requerimento de fósforo para o crescimento microbiano, 69, 70
- Requerimento de magnésio, 69
- Requerimento de minerais para o crescimento microbiano, 69, 70
- Requerimento de potássio, 69
- Requerimento do fator V de *Haemophilus*, 265, 266–267, 266q
- RES (local de entrada interna do ribossomo) na replicação do picornavírus, 530
- Resfriado comum, 439q, 583q
 coronavírus, 583q, 613, 616, 617
 vírus *parainfluenza*, 595
 rinovírus, 538–539
 vírus Coxsackie, 534q, 535
- Resgate de marcador na reativação genética, 426
- Resistência a fármacos associados a plasmídeos, 5
- Resistência aos fármacos, 63, 375–378
 de bactérias gram-negativas, 27
 de enterococos, 222–224
 e resistência cruzada, 376
 e testes de suscetibilidade, 379, 381
 implicações clínicas da, 377–378
 mediada por plasmídeo, 5, 107, 109, 374, 376, 378
 para estafilococos, 00
 medidas de prevenção, 376–377
 microbiota normal afetando, 381
 na malária, 731
 origem da, 376
 para *Aspergillus*, 699
 para *Candida*, 694
 para HIV, 665
 para penicilinas, 372–373
 permeabilidade da membrana celular na, 374
 síntese da parede celular na, 372–373, 376
 síntese de proteína em, 374
 síntese do ácido nucleico na, 375
 tolerância, 373
- Respiração anaeróbia, 6, 95
- Resposta ao choque térmico, 71
- Resposta imune
 antígenos na, 128–129
 ativação do complemento na, 126, 139–140
 células B na, 127, 128f

- células T na, 127, 128f
 deficiências da, 143
 definição de, 123, 146
 e atividade de fármaco antimicrobiano, 380–381
 e mecanismos de evasão, 131–132, 478, 634
 carcinogênese nos, 634
 fatores antifagocíticos no, 159
 formação de biofilme no, 160
 heterogeneidade antigênica no, 159
 fagócito e fagocitose na, 124, 125
 inflamação na, 126–127
 interações celulares na, 127, 128f
 nas infecções virais, 432q, 435
 e carcinogênese, 634
 mecanismos de evasão, 131–132, 478, 634
 medida de, 781
 Resposta inflamatória, 126–127, 147
 e atividade de fármacos antimicrobianos, 380–381
 mediadores da, 126–127
 Resposta SOS no sistema de reparo do DNA, 111
 Retículo endoplasmático, 13
 Síntese das moléculas do MHC no, 131
 Retinite, citomegalovírus, 484
 Retrovírus, 635–641
 Aids por, 641
 classificação e características dos, 409q, 413, 637–639
 e terapia antirretroviral altamente ativa (HAART), 665, 810
 endógenos, 637
 estruturas e composição dos, 410f, 635–637, 638f, 653–654, 654f, 655f
 exógenos, 637
 faixa de hospedeiros dos, 637
 genética dos, 425, 635–636, 637–639, 638f
 hospedeiro original, 637
 propriedades dos, 635q, 637, 653–657
 replicação dos, 423, 425, 637–639, 641f, 665
 comparados com outros vírus de RNA, 423q, 424q
 mecanismos de interferência, 427
 resumo da, 424q
 via de transcrição em, 423q
 visão geral da, 640f
 resposta imune de, 435
 tipos de, 636–638, 636f, 638f
 transmissão dos, 637
 tumores associados com, 633, 633q, 635–641
 potencial oncogênico dos, 639
 vias de entrada, 433q
 Reumatismo do deserto, 687
 Reversão genotípica, 111
 Reversão, fenotípica e genotípica, 111
Rhinochlamydia aquas persa, 683
 Rhizobiaceae, fixação do nitrogênio pelas, 86–87
Rhizomucor, 701
Rhizopus oryzae, 701, 701f
Rhizopus, 673f, 701, 701f, 703, 762q
Rhodococcus equi, 194
Rhodococcus, 187, 194
Rhodospirillum rubrum, 105q
 Ribavirina, 443q
 Ribonucleoproteínas
 anticorpos para, 584
 rabdovírus, 619–620, 620f
 vírus *influenza*, 416f, 577
 Ribonucleoproteínas RNP
 anticorpos para, 584
 rabdovírus, 619–620, 620f
 vírus *influenza*, 416f, 577, 584
 Ribossomos, 102, 103f
 eucariontes e procariontes, 112
 fármacos antimicrobianos que afetam a síntese proteica nos, 374
 métodos de ribotipagem na subtipagem bacteriana, 51–52
 Ribozimas, 102
 e expressão gênica, 112
 Ribulose 5-fosfato de no ciclo de Calvin, 82, 86f
 Ribulose bifosfato carboxilase, 17
 Ribulose difosfato no ciclo de Calvin, 82, 86f
Rickettsia akari, 350q, 351, 352
Rickettsia australis, 350q
Rickettsia conorii, 350q
Rickettsia prowazekii, 104q, 349, 350q, 351, 352
Rickettsia rickettsii, 349, 350q, 352
Rickettsia sibirica, 350q
Rickettsia typhi, 350q, 351, 352
 Rifampina, 403
 efeitos colaterais da, 403
 mecanismo de ação, 375, 403
 na tuberculose, 319–320, 403, 807, 809
 resistência à, 319–320, 375, 377, 378, 403
 sensibilidade à, 49q
 Rifaximina, 403
 Rimantadina, 444
 Rinoscleroma, 235
 Rinovírus, 527, 538–539
 características dos, 530q, 538
 classificação dos, 529, 538
 epidemiologia dos, 539
 estrutura e composição dos, 527, 528f
 faixa de hospedeiros dos, 529
 genética dos, 425, 527, 538
 imunidade para, 539
 replicação dos, 529–531, 538
 resfriado comum por, 583q
 sorotipos dos, 538
 testes diagnósticos para, 776q
 tratamento e controle das infecções, 539
 Rins
 glomerulonefrite aguda pós-estreptocócica, 142, 214, 216
 infecções por *Candida*, 696
 na febre hemorrágica com síndrome renal, 567–568
 na leptospirose, 336
 na malária, 729
 nefrototoxicidade dos antibióticos aminoglicosídeos, 398
 pielonefrite nas, 769–770, 801
 transplante do, nefropatia associada ao poliomavírus nos, 644
 Ritonavir, 443q
 Rmp (*reduction-modifiable protein*) de *Neisseria gonorrhoeae*, 287, 289q
 RNA, 101
 bacteriano, 102
 agentes antimicrobianos que afetam, 376
 e expressão gênica, 112–115
 no diagnóstico molecular, 763
 no sistema de classificação, 48, 51–52
 ribotipagem do, 51–52
 classificação e característica do, 409q
 de interferência (RNAi), 102–103
 estrutura do, 101–103
 fenômeno de união, 423
 função do, 102
 microRNA nas infecções latentes pelo vírus herpes simples, 470
 no HIV, detecção, 782
 nos bacteriófagos, 106
 nos eucariontes, 13, 102
 e expressão gênica, 112
 nos vírus, 2, 105, 407, 408, 411–414, 415
 métodos de hibridização, 780
 nos tumores induzidos por vírus, 633–634, 635–641
 replicação do, 421, 422–423, 424q
 sistemas de classificação baseados no, 408, 416
 replicação do, 424q
 técnicas de amplificação, 763
 transcrição do, 112
 transferência nas eubactérias e arqueobactérias, comparação da, 49q
 viroide, 2
 RNA de dupla fita em bacteriófagos, 105, 106
 RNA de fita simples em bacteriófagos, 105, 106
 RNA mensageiro, 102
 na expressão gênica, 112, 113
 na replicação viral, 421, 423, 423q
 adenovírus, 460
 coronavírus, 614, 615f
 vírus *influenza*, 582
 paramixovírus, 594
 poxvírus, 495
 reovírus, 544
 RNA polimerase
 na expressão gênica, 112
 nas eubactérias e arqueobactérias, 49q
 nos vírus, 415, 421
 RNA ribossomal (RNAr), 102, 103f
 nas arqueobactérias, 48, 50
 nas bactérias, 102
 análise de sequência, 53
 na ribotipagem do, 51–52
 no diagnóstico molecular, 53, 763
 no sistema de classificação, 48, 48f, 51–52
 nos eucariontes, 13, 102
 Roedor *Apodemus agrarius*, vírus Hanyaan no, 567
 Roedores
 arenavírus, 569–571
 buniavírus, 567–569
 e febre da mordida do rato, 310, 337
 e infecções virais, 553, 554q, 555f, 567–573
 e riquetsiose associada à pulga do rato, 352
 febre hemorrágica por, 567–573
 filovírus, 571–573
 taxa de mortalidade, 557q
 vírus Lassa, 569
 Roedores *Calomys*, 570
 Roséola infantil, 471, 487
 Rotavírus, 543, 544–548
 animais suscetíveis a, 545
 classificação dos, 544, 545
 disseminação pelo corpo, 434f
 epidemiologia dos, 547, 547q

- estrutura e composição dos, 543, 543f, 545, 546f, 550f
 gastroenterite por, 544–548, 547q, 796, 799q
 genoma dos, 543, 545, 546f
 imunidade para, 547
 perfil eletroforético na, 545, 546f
 propagação em cultura de células, 545–546
 replicação dos, 545, 545f
 testes diagnósticos para, 546–547, 777q
 vacina, 447q, 548
Rothia dentocariosa, 170–171, 191
Rothia mucilaginosa, 224
 Roxitromicina, 374
rpsL na resistência à estreptomicina, 320
rrs na resistência à estreptomicina, 320
- S**
- Sacarose e cárie dental, 32, 169
Saccharomyces, 703
sae e virulência estafilocócica, 203
Salmonella bongori, 238
Salmonella choleraesuis, 230q, 238, 796, 798q
Salmonella enterica, 238
Salmonella enteritidis, 239
Salmonella newington, 91f
Salmonella paratyphi, 238, 240, 796, 798q
Salmonella typhi, 238
 estrutura antigênica, 232
 gastroenterite por, 796, 798q
 imunidade para, 240
 reações bioquímicas na, 230q
 teste de Widal para, 240
 testes diagnósticos para, 757q
Salmonella typhimurium, 238
 enterocolite por, 239
 fatores de virulência da, 153q
 flagelos da, 34f
 mapa genético da, 109
 membrana externa da parede celular na, 28, 29f
 no bioterrorismo, 820
 Salpingite, 804
 Mycoplasma hominis, 344
 Neisseria gonorrhoeae, 289, 804
 Sapinho (candidíase), oral, 709
 Saquinavir, 443q, 444
 Sarampo alemão, 607–610. *Ver também* Vírus da rubéola
 Sarcoma de Kaposi, 151, 471, 488, 661, 811q, 812q
 SARS (síndrome respiratória aguda grave), 613, 615–617
 Saxitoxina, 7
Scedosporium apiospermum, 685
Schistosoma haematobium, 737q, 746
Schistosoma japonicum, 737q, 746
Schistosoma mansoni, 737q, 746, 747f
Scopulariopsis, 674f, 703
Scrapie, 2, 414, 438f, 440, 627q, 628
 Secreções respiratórias, exame das, 770–771
 Sedoreovirinae, 544
 Segurança no laboratório. *Ver* Preocupações de segurança no laboratório
 Seleção clonal, 133
 Selectinas, 126, 127, 146
 Sensibilidade a estreptolidigina, 49q
 Sensibilidade ao éter dos vírus, 409q, 420
 Sensores microbianos, 124–125
- Sepse
 Escherichia coli, 235, 387q
 estreptocócica, 214
 Pseudomonas aeruginosa, 247
 vibrio, 387q
 Yersinia, 282
 Septo
 fúngico, 672
 na divisão da célula bacteriana, 40
 Sequência com atividade aglutinante (ALS) de *Candida*, 695–696
 Sequência-líder
 na atenuação da expressão gênica, 113
 no transporte e secreção de proteínas, 22
 Sequenciamento de alto rendimento, para citomegalovírus, 482
 Sequenciamento, DNA, 46–48, 52, 118–119
 Técnica da reação em cadeia da polimerase, 119, 120
 Técnica de Maxam-Gilbert, 118–119
 Sequências de promotores, 101, 112
 no genoma do vírus da hepatite B, 510f
 Sequências intensificadoras no DNA eucariótico, 112
 no genoma do vírus da hepatite B, 510f
 Sequências repetidas, 52–53
 Seroarquiologia do vírus *influenza*, 587
Serratia marcescens, 230q, 233, 235
 Sexta doença, 487
Shigella boydii, 230q, 237q
Shigella dysenteriae, 230q, 237–238, 237q
 gastroenterite por, 798q
 no bioterrorismo, 820
Shigella flexneri, 230q, 237, 237q, 796
Shigella sonnei, 230q, 237, 237q
 Sialilação, 30
 nas infecções gonocócicas, 287
 Sialiltransferase, 30
 Sideróforos, 21, 69
 Sífilis, 327, 331
 diagnóstico diferencial na, 806, 806q
 nas infecções pelo vírus HIV e Aids, 330, 813q
 testes diagnósticos, 329, 755, 759q, 772–773, 806q
 tratamento da, 330, 388q
 Simbiose, 1, 5
 Simetria, viral, 414–415
 cúbica, 414
 helicoidal, 414–415
Simonsiella, 285
 Simportes, 20, 21f
 SINAL DC nas infecções pelo vírus HIV e Aids, 657
 Sinaptobrevina
 tetanospasmína afetando, 156, 180
 toxina botulínica afetando, 179
 Síndrome da pele escaldada, estafilocócica, 202, 203
 Síndrome de Gray por cloranfenicol, 395
 Síndrome de Reye, 584
 Síndrome do choque tóxico
 estafilocócico, 157, 202, 203
 estreptocócico, 213, 214
 Síndrome do edifício doente, 703–704
 Síndrome inflamatória de reconstituição imunológica (IRIS), 699
 Síndrome respiratória aguda grave (SARS), 613, 615–617
- Síndrome urêmica-hemolítica, 758q
 Síndrome uretral, 770
 Sinergismo na interação medicamentosa, 382–383
 Sintaxina, toxina botulínica que afeta, 179
 Síntese de grânulos de reserva, 91
 Síntese de oligonucleotídeos, química, 119, 763
 na mutagênese sítio-dirigida, 119, 120f
 no sequenciamento de DNA, 119
 Síntese do ácido fólico, agentes antimicrobianos afetando, 375, 401
 Síntese macromolecular, 70f
 Sinusite, *Haemophilus influenzae*, 266
 Sistema complemento, 139–140, 145, 146
 ativação do, 124, 126, 139f
 lipopolissacarídeo na, 158
 via alternativa, 126, 139f, 140
 via clássica, 139, 139f
 via lectínica de ligação a manose, 139f
 deficiências e evasão de patógenos na, 140
 efeitos biológicos da, 139
 lise celular mediada pela, 137
 regulação do, 140
 vias de, 139
 Sistema de citocromo nas bactérias, 5, 6, 295
 Sistema de DNA ramificado, 764
 Sistema de fosfotransferase, 21
 Sistema de transporte, bacteriano, 19–21, 21f
 Sistema enzimático de indução de vírus (ELVIS), 780
 Sistemas de transporte ativo nas bactérias, 20
 Sistemas de transportes mediados por peptídeos (TAPs), 131
 Sítio de terminação na replicação de DNA, 106
 SIV (vírus da imunodeficiência simia), 653, 655, 656, 656q, 657
 SNAP-25, toxina botulínica que afeta, 179
 Sobrevivência do microrganismo
 no ambiente natural, 55
 no crescimento lento, 57
 probabilidade de, na medida da morte, 58–59
 Sódio
 no crescimento microbiano, 69
 no mecanismo de transporte ativo, 20
 Solo
 infecções helmínticas pelo, 733, 734, 739
 isolamento de microrganismo no, 73
 Sombreamento em microscopia eletrônica, 13
 Sondas de ácido nucleico, 115, 118f, 119–120, 763.
 Ver também DNA; RNA
 para clamídia, 363–364
 para micobactérias, 319
 para vírus Epstein-Barr, 486
 Sondas de DNA, 115, 118f, 119–120
 para micobactérias, 319
 para *Chlamydia*, 363
 Sopro cardíaco, 794
 Sopro na endocardite, 794
 Soro antirrábico, equino, 624
 Sorotipos, 44
 Sorovares, 44
 Spinareovirinae, 543–544
Spirillum minor, 310, 337
Spirillum morsus muris, 337
Spirillum serpens, 34f
Splicing, RNA, 423
Sporohalobacter, 36
Sporolactobacillus, 36
Sporomusa, 36

- Sporosarcina*, 36
Sporothrix schenckii, 673q, 681, 681f, 762q
Sporotomaculum, 36
srrAB e virulência nos estafilococos, 203
Stachybotrys, 704
Staphylococcus aureus, 160, 166q, 199–205, 251
 endocardite por, 794
 enzimas produzidas por, 158, 201
 fatores de virulência, 153q, 202, 203
 gastrenterite por, 797q
 na microbiota normal, 166q
 nas infecções pelo vírus HIV e Aids, 812q
 osteomielite por, 802
 parede celular do, 200
 camada de peptidoglicano do, 24, 25f, 201
 síntese e crescimento, 31, 200
 pioderma por, 214
 pneumonia por, 791q
 resistência ao fármaco do, 204–205, 377
 à vancomicina, 200, 204, 205, 396
 testes diagnósticos para, 203–204, 756q, 757q, 759q
 toxinas de, 157, 201–202
 transmissão do, 151, 205
Staphylococcus delphini, 204
Staphylococcus epidermidis, 160, 166q, 199, 202, 204, 794
Staphylococcus hominis, 199
Staphylococcus intermedius, 204
Staphylococcus lugdunensis, 199, 201, 203
Staphylococcus saccharolyticus, 199
Staphylococcus saprophyticus, 199, 202, 801
Staphylococcus warneri, 199
Stenotrophomonas maltophilia, 246q, 249, 251
Stomatococcus mucilaginosus, 191
Streptobacillus moniliformis, 310
Streptococcus adjacens, 218
Streptococcus agalactiae, 210q, 211, 216–217
 meningite por, 786, 786q
Streptococcus alactolyticus, 217
Streptococcus anginosus, 210q, 217
Streptococcus bovis, 210q, 217, 794
Streptococcus canis, 217
Streptococcus constellatus, 210q, 217
Streptococcus defectivus, 218
Streptococcus dysgalactiae equismillis, 210q
Streptococcus equinus, 217
Streptococcus gallolyticus, 217
Streptococcus infantarius, 217
Streptococcus intermedius, 210q, 217
Streptococcus milleri, 210q, 217
Streptococcus mitis, 218
Streptococcus mutans, 32, 218, 794
Streptococcus pneumoniae, 210q, 211, 218–222, 225, 344
 meningite por, 786, 786q
 morfologia e identificação do, 219, 219f, 220f
 na microbiota normal, 221
 parede celular do, 26, 218–219
 anéis equatoriais na, 31, 31f
 síntese e crescimento, 31, 31f
 pneumonia por, 152, 221, 789, 791q
 polímeros extracelulares no, 33q
 polissacarídeo no, 33q, 211, 219
 processo infeccioso, 152, 219
 testes diagnósticos para, 221, 756q, 757q, 760
 transferência do DNA, 110
 tratamento das infecções, 221, 386q
 resistência aos fármacos, 221, 377
 vacinação, 221–222
Streptococcus pyogenes, 210q, 211–216
 fímbria do, 154
 morfologia e identificação do, 211, 211f, 212f
 parede celular do, 26, 211, 212
 polímeros extracelulares do, 33q
 síndrome do choque tóxico por, 214
 testes diagnósticos para, 215
Streptococcus salivarius, 33q, 169, 218, 794
Streptococcus sanguis, 794
Streptomyces coelicolor, 4, 16
Streptomyces erythreus, 395
Streptomyces griseus, 399
Streptomyces lincolnensis, 396
Streptomyces mediterranei, 403
Streptomyces orientalis, 396
Streptomyces roseoporus, 397
Streptomyces somaliensis, 195
Streptomyces venezuelae, 395
Streptomyces, actinomiceto de 195
Strongyloides stercoralis, 733, 735q, 736q, 739–741, 741f
 Subclones, 118
 Substância P, estreptocócica, 212
 Substância T, estreptocócica, 212
 Substituições de base, 111
 Subtipagem de bactérias, 50–51
 Succinato
 no ciclo do ácido tricarbóxico, 84f
 no ciclo do glioxilato, 85f
 Succinil-CoA, 80
 no ciclo do ácido tricarbóxico, 84f
 Sulfametoxazol, 224, 401
 Sulfametoxipiridazina, 401
 Sulfato, como fonte de enxofre, 69
 Sulfeto de hidrogênio, 69
 Sulfisoxazol, 401
 Sulfonamidas, 401
 efeitos colaterais, 401
 exame bacteriológico, 401
 mecanismo de ação, 375, 401
 na interação medicamentosa, 383
 resistência a, 375, 376, 377, 401
 Superantígenos, 131f, 132, 150, 202, 213
 Superenrolamento, de DNA, 101
 Superóxido dismutase, 71–72, 295
 Bacteroides fragilis produtor, 300
 Supressão extragênica, 111
 Supressão intragênica, 111
 Supressão, intragênica e extragênica, 111
 Surto em Sverdlovsk de antraz, 821
Synechococcus lividus, 17f
- T**
- Taenia saginata*, 735q, 741–742
Taenia solium, 737q, 741–742, 742f, 746
 Tanapox, 494q, 503–504, 503f
 Taquizoitos, *Toxoplasma*, 732
 Taxa de crescimento constante, 55–56
 Taxa de sedimentação viral na ultracentrifugação, 415
 Taxonomia
 e classificação bacteriana, 43, 43q, 46
 e classificação viral, 408–409
 Taxonomia baseada em ácido nucleico, 51–53
 Taxonomia numérica, 46
 Tecido pulmonar, consolidação, 790
 Técnica de eletroforese em gel SDS-PAGE, 144
 Técnica de espalhamento em placa, para o isolamento de microrganismos em cultura pura, 74
 Técnica de estriamento, para isolamento de microrganismo em cultura pura, 74, 75f
 Técnica de Maxam-Gilbert na análise da sequência de DNA, 118–119
 Técnica de reação em cadeia da polimerase, 351–352, 416, 418, 763–765
 amplificação do ácido nucleico na, 101, 120
 na difteria, 190
 na tuberculose, 319–320
 oligonucleotídeos sintetizados quimicamente como inicializadores na, 119
 para a doença de Lyme, 334
 para adenovírus, 463
 para calicivírus, 549
 para *Chlamydia*, 362, 367, 774
 para citomegalovírus, 483
 para *Coxiella burnetii*, 355
 para o vírus Coxsackie, 535
 para o vírus herpes simples, 474
 para parvovírus, 455
 para *pertussis*, 270
 para poxvírus, 498
 tempo real, 120, 764–765
 transcriptase reversa, 549, 764
 Técnica de *Shotgunning* no sequenciamento do DNA, 119
 Técnica *shell vial*, 780
 na detecção do vírus do sarampo, 605
 na detecção dos adenovírus, 463
 Técnicas de amplificação do sinal, 764
 Técnicas de amplificação por tempo real, 120, 764–765
 Técnicas de amplificação, 120, 763–765, 780
 na infecção por HIV e Aids, 662–663
 para *Chlamydia*, 363–364, 764, 774
 para *Neisseria gonorrhoeae*, 290, 764
 reação de cadeia polimerase. Ver Técnica de reação em cadeia da polimerase em tempo real, 120, 764–765
 transcrição-mediada, 764
 Técnicas de hibridização, 115
 gel de eletroforese nas, 116f
 na detecção viral, 417, 780
 sondas, 115, 118f, 119–120
 Técnicas de imunofluorescência, 12, 144, 755, 781–782. Ver também Teste de anticorpos fluorescentes para sífilis, 329–330
 Tecnologia do hibridoma, 50, 133
 Teicoplanina, 223, 396–397
 Telavancina, 397
 Teleomorfo, 672, 676
 Telitromicina, 374, 396
 Temperatura
 e ação antimicrobiana do calor, 64, 71
 e febre, 126–127
 e virulência bacteriana, 153–154, 155
 na cultura de microrganismos, 70–71, 71f, 73, 420
 para os vírus, 420, 495
 sensibilidade dos vírus mutantes a, 425–426
 Tempo de duplicação, 56, 56f
 Tempo de geração, 56

- Tênia bovina, 741–742
 Tênia do cão, 743
 Tênia do peixe, 742
 Tênia suína, 741–742
 Tênicas, 716q, 719, 735q
 Terapia antimicrobiana profilática, 383–384
 em infecções estreptocócicas, 216, 383
 em infecções pelo *Vibrio cholerae*, 258
 em infecções por *Haemophilus influenzae*, 267
 em infecções por *Shigella*, 238
 Terapia antirretroviral altamente ativa (HAART), 653, 665, 699, 810
 Terapia de combinação de antibiótico, 382–383
 Terapia gênica
 adenovírus na, 461
 vírus vacínia na, 493
 Terapia imunossupressora, e complicações
 infeciosas nos receptores de transplante, 813–817
 Terbinafina, 681, 708f, 709
 Terconazol, 709
 Terminador Rho-independente, 113, 114f
 Termófilos, faixa de temperatura ideal para, 70
 Teste bioquímico, e classificação bacteriana, 44, 45f, 45q
 Teste cutâneo da tuberculina, 142, 317–318, 321, 808
 Teste da reagina plasmática rápida (RPR) para sífilis, 329
 Teste da toluidina vermelha com soro não aquecido (TRUST) para sífilis, 329
 Teste de aglutinação da diluição em tubo para salmonella, 240
 Teste de aglutinação em látex, 760
 na criptococose, 699
 Teste de aglutinação
 para *Brucella*, 272–273
 para *Salmonella*, 240
 para *Treponema pallidum*, 330
 Teste de anticorpo fluorescente, 12, 144, 755, 781–782
 em infecções por clamídia, 362, 364, 366, 367
 nas riquetsioses, 349, 351
 para *Treponema pallidum*, 330, 773
 para *Bordetella pertussis*, 269, 755
 para *Borrelia burgdorferi*, 334
 para *Legionella pneumophila*, 12, 306f, 307, 755
 para vírus herpes simples, 475
 Teste de CAMP para *Streptococcus*, 216
 Teste de difusão em disco, 204, 379, 766
 Teste de fita reagente, urinário, 769
 Teste de fixação do complemento
 Teste de Limulus para níveis de endotoxina, 158
 Teste de microdiluição em caldo, 204, 379
 Teste de Microhemaglutinação para *Treponema pallidum*, 330
 Teste de microimunofluorescência para *Chlamydia*, 361, 362, 367, 774–775
 Teste de oxidase, e classificação bacteriana, 44
 Teste de precipitina em tubo para
 coccidioidomicose, 690q
 Teste de suscetibilidade, 379, 381
 de estafilococos, 204
 de micobactérias, 318–319, 320, 321
 na melioidose, 250
 Teste de tumefação para cápsula de *Streptococcus pneumoniae*, 219, 220f, 221
 Teste de VDRL para sífilis, 329–330
 Teste de Widal para *Salmonella*, 240
 Teste do nitroblue tetrazolium (NBT), 143
 Teste imunológico, e classificação bacteriana, 44
 Teste RPR para sífilis, 329
 Testes cutâneos
 blastomicina, 693
 coccidioidina, 688
 histoplasmina, 691
 na leishmaniose, 726
 nas reações de hipersensibilidade, 141, 142
 paracoccidioidina, 693
 tricotina, 680
 tuberculina, 142, 317–318, 321, 808
 Testes de detecção de antígenos, 760
 nas infecções clamidiais, 360–361, 367, 760, 773–775
 nas infecções estreptocócicas, 215
 nas infecções virais, 441, 442f, 780
 HIV, 780
 no líquido cefalorraquidiano, 770
 Testes de diluição em caldo, 204, 379
 Testes de floculação para sífilis, 328
 Testes de imunodifusão, 781–782
 na blastomicose, 690q, 693
 na coccidioidomicose, 688, 690q
 na histoplasmose, 690q, 691
 na paracoccidioidomicose, 690q, 693
 Testes de neutralização, 781
 para alfavírus, 559
 para o vírus da dengue, 565
 Testes não treponêmicos para sífilis, 329–330
 Testes por diluição em ágar, 379
 Testes sorológicos
 na amebíase, 722
 na aspergilose, 701
 na blastomicose, 690q, 693
 na candidíase, 697
 na coccidioidomicose, 688, 690q
 na criptococose, 699
 na histoplasmose, 690q, 691
 na infecção pelo vírus HIV, 662
 na paracoccidioidomicose, 690q, 693
 na sífilis, 329–330
 na toxoplasmose, 732
 nas infecções clamidiais, 362, 364, 366, 367, 774–775
 para febre Q, 355
 para adenovírus, 463
 para arbovírus, 559
 dengue, 565
 febre amarela, 563
 para as riquetsioses, 349, 351
 para *Brucella*, 272
 para coronavírus, 535–536, 616
 para esporotricose, 682
 para estreptococos, 215
 para *Francisella tularensis*, 274
 para *Legionella*, 307
 para *Leptospira*, 337
 para micoplasmas, 343
 para *Neisseria gonorrhoeae*, 290
 para o citomegalovírus, 483
 para o parvovírus, 455
 para o poxvírus, 499
 para o vírus da caxumba, 602
 para o vírus da hepatite, 515–517
 para o vírus da raiva, 622
 para o vírus da rubéola, 608
 para o vírus do sarampo, 605
 para o vírus Epstein-Barr, 486–487, 486f
 para o vírus herpes simples, 474
 para o vírus *influenzae*, 585
 para o vírus *parainfluenzae*, 598
 para o vírus sincicial respiratório, 599
 para *Salmonella*, 240
 para *Shigella*, 237
 para *Yersinia*, 280, 282
 para *Borrelia burgdorferi*, 334
 sorogrupos, 44
 e subtipos de bactérias, 50
 Testes treponêmicos para a sífilis, 330
 Tétano, 175, 180–181, 299
 antitoxina, 181
 toxina no, 156, 180–181
 tratamento do, 181, 387q
 Tetanospasmina, 156, 180, 299
 Tetraciclinas, 394
 mecanismo de ação, 374, 394
 resistência à, 374, 375, 377
Thermus aquaticus, 50
 Ticarcilina, 389f, 390
 Tifo de esfregaço, 350q, 351, 352
 Tifo do carrapato de Queensland, 350q, 353
 Tifo do carrapato do norte da Ásia, 350q, 353
 Tifo, 349, 350q
 carrapato, 350q
 endêmico, 350q, 351, 353
 epidêmico, 350q, 351, 352
 epidemiologia do, 352
 esfregaço, 350q, 351, 352
 murino, 351, 353
 prevenção do, 353
 Tigeciclina, 374, 394–395
 Tilacoides, 14, 16
 Timina, na estrutura do DNA, 101, 103f
 Timo, desenvolvimento da célula T no, 137, 147
 Timócitos, 147
Tinea capitis, 680
 Tínea crural, 679q, 680
 Tínea da barba, 679q, 680
 Tínea do corpo, 679, 679q, 681
 Tínea do couro cabeludo, 679q, 680, 681
 Tínea do pé, 679, 679q, 681
 Tínea *manus*, 680
 Tínea *nigra*, 673q, 677
 Tínea ungueal, 679, 679q, 681
 Tioconazol, 709
 Tobramicina, 398–399
 na terapia medicamentosa, 382
 Togavírus, 554q, 555–562, 591, 607
 classificação e características dos, 409q, 412, 555–557
 forma e tamanho dos, 410f, 555f
 genoma dos, 415
 patogênese e patologia dos, 558–559
 propriedades antigênicas dos, 558
 replicação dos, 423q, 424q, 558
 vias de entrada, 433q
 Tolerância como mecanismo de resistência, 373
 dos estafilococos, 200
 Tolnaftato, 709–710
 Topoisomerasas, 106
 Torovírus, 550f, 613
 Toxicidade seletiva, dos agentes antimicrobianos, 371

- Toxigenicidade dos microrganismos, definição de, 149
- Toxina adenilato ciclase de *Bordetella pertussis*, 269
- Toxina botulínica, 156, 179, 299
em bioterrorismo, 180, 819–820
- Toxina da síndrome do choque tóxico-1, 157, 202, 203
- Toxina dermonecrótica de *Bordetella pertussis*, 269
- Toxina do edema no antraz, 176
- Toxina *pertussis*, 270
- Toxina Shiga, 237, 797q
- Toxina teta do *Clostridium perfringens*, 157, 182
- Toxinas, bacterianas, 155–158, 161
endotoxinas. Ver Endotoxinas
exotoxinas. Ver Exotoxinas
- Toxinas epidermolíticas, estafilocócicas, 202
- Toxinas eritrogênicas, 213
- Toxinas esfoliativas, estafilocócica, 202
- Toxina- δ , estafilocócica, 201
- Toxina- α , clostridial, 157, 182, 299
- Toxina- β , estafilocócica, 201
- Toxocara*, 736q
- Toxoide diftérico, 191, 267
- Toxoide líquido na imunização para difteria, 191
- Toxoide tetânico, 181, 191, 267, 299
- Toxoides, 155
difteria, 191
tétano, 181, 191, 267, 299
- Toxoplasma gondii*, 718q, 732
morfologia e identificação do, 732
nas infecções pelo vírus HIV e Aids, 732, 812q
- Toxoplasmose, 718q, 732
nas infecções pelo vírus HIV e Aids, 732, 812q
- Tracoma, 362–363, 774
- Transacetilase, 114
- Transaldolase
e metabolismo dos carboidratos, 81f
no desvio do monofosfato de hexose, 82f
- Transcapsidação, 426
- Transcetolases
e metabolismo dos carboidratos, 78, 81f
no ciclo de Calvin, 86f
no desvio do monofosfato de hexose, 82f
- Transdução
e cotransdução, 110
na transferência de DNA, 107, 110
sensorial, 36
- Transdução sensorial, 36
- Transferência de DNA, 107–111
conjugação na, 107, 108–109
lateral, 107
não recíproca, 107
transdução na, 107, 110
transformação na, 108, 110–111
- Transferência de RNA, 102
na expressão genética, 112, 113f
nas eubactérias e arqueobactérias, 49q
- Transferrina, 21, 160
- Transformação
fatores de competência na, 110
na carcinogênese viral, 635, 639
na engenharia genética, 108, 110, 116
na transferência do DNA, 107–108, 110–111
transformação forçada na, 108, 111
transformação natural na, 110–111
- Transfusões, infecções transmitidas no
citomegalovírus, 482, 484
vírus da hepatite B, 521
vírus da hepatite C, 512, 514q, 521
- Translocação, grupo, e metabolismo vetorial, 20, 92
- Transplante de células-tronco, complicações
infeciosas no, 816f
- Transplante de córnea, transmissão da raiva no, 625
- Transplante de medula óssea, complicações
infeciosas no, 816–817, 816f
- Transportadores associados ao processamento de antígeno (TAPs), 131
- Transporte acoplado ao ferro, 21f
força próton motriz no, 20, 67
- Transporte de elétrons em bactérias, 21
- Transporte tipo ABC, 20
- Transpósons, 105
e fatores de virulência bacterianos, 152
- Traqueobronquite, viral, 439q
- Trato gastrointestinal
Campylobacter infecções do, 260, 799q
causas comuns das infecções, 796, 797q
Cryptosporidium infecções do, 722–723
diagnóstico das infecções, 758q, 771–772, 777q, 796, 797q
doença de Whipple do, 53, 151, 310, 763
flagelados no, 716q
Helicobacter pylori no, 261
infecções amebianas do, 799q
infecções virais do, 433q, 438–439, 796, 799q
adenovírus, 461, 462, 463, 547q
calicivírus, 547q, 548–551
rotavírus, 544–548, 547q, 796, 799q
vírus Coxsackie, 534q, 535
microbiota normal do, 171–172, 772, 795–796
Enterobacteriaceae no, 233, 236
estreptococos no, 218
fármacos afetando, 171–172, 381
microrganismos no, 166q, 171
microsporidial infecções do, 733
mucosa como barreira no, 124, 152
nas complicações das infecções pelo vírus HIV, 813q
Salmonella no, 239, 239q, 241, 796, 798q
Shigella no, 236–238, 796, 798q
Vibrio infecções do, 257, 258, 796, 798q
Yersinia infecções de, 281, 796, 799q
- Trato genitourinário
diagnóstico diferencial das, 804
diagnósticos das infecções, 759q, 771–772, 774, 800
doenças sexualmente transmissíveis no, 803–806
infecções de *Chlamydia trachomatis* no, 363–364, 365, 801, 804
infecções pelo vírus herpes simples no, 470, 472q, 473, 806, 806q
na gravidez, 475
recorrente, 475
infecções por bactérias anaeróbias do, 301q
micoplasma no, 342, 345
microbiota normal do, 172
fármacos antimicrobianos afetando, 381
microrganismos no, 166q
Ureaplasma urealyticum no, 345
- Trato respiratório
citomegalovírus, 484
como complicação da infecção pelo vírus HIV, 813q
diagnósticos das infecções, 770–771, 773, 776q
infecções bacterianas do, 320, 789
anaeróbias, 301q, 773
Bacillus anthracis, 176–177
Bordetella pertussis, 269
Chlamydia pneumoniae, 365–366
Chlamydia psittaci, 366–368
Chlamydia trachomatis, 364
diagnóstico de, 770–771, 773
estreptocócicas, 214, 218
Haemophilus, 266, 268, 387q
Klebsiella pneumoniae, 235
Legionella, 305–308, 387q
micoplasma, 342, 343–344
na melioidose, 248
nocardiose, 194
Pasteurella, 282
Pseudomonas aeruginosa, 247
quimioprofilaxia antimicrobiana nas, 383
infecções fúngicas do
aspergilose, 700
blastomicose, 692
Corynebacterium diphtheriae, 189
criptocócica, 698
infecções virais do, 433q, 438, 439q, 789–793
adenovírus, 461, 462, 463–464
comparação de, 583q
coronavírus, 615–617
testes diagnósticos, 776q
vírus Coxsackie, 534q, 535
microbiota normal do, 166q, 167, 169–172
Haemophilus influenzae no, 265, 266
vírus sincicial respiratório, 598–600
mucosa como barreira no, 124, 152
síndrome pulmonar por hantavírus nas, 568–569
metapneumovírus, 600–601
paramixovírus, 591
rinovírus, 538
vírus *influenza*, 577–588
vírus *parainfluenza*, 594–598
síndrome respiratória aguda grave nas, 613, 615–617
- Trematódeo do fígado chinês, 737q, 745
- Trematódeo do fígado de ovelhas, 737q
- Trematódeo do pulmão, 737q
- Trematódeo hepático, 745
- Trematódeos, 716q, 719, 741, 745–746
hepático, 745
intestinal gigante, 735q, 741
pulmonar, 746
- Treonina, 88, 89f, 97, 97f
- Treponema carateum*, 327, 331, 331
- Treponema pallidum*, 70, 150, 327–331
exame de campo escuro do, 11, 12f, 327, 329, 755, 772
fármacos de escolha para, 330, 388q
genoma do, 104q, 327–328
morfologia e identificação do, 327–328, 328f
nas infecções pelo vírus HIV e Aids, 330, 813q
subspécies de, 327, 328f, 330, 331
testes diagnósticos para, 329–330, 755, 759q, 772–773, 806q
úlceras genitais por, 806q

- Treponema pertenuae*, 388q
Trichinella spiralis, 735q, 736q, 741, 741f
 Trichinella, 741
Trichomonas vaginalis, 716q, 723, 804, 805, 805q
 morfologia e identificação do, 14, 716q
Trichophyton equinum, 678
Trichophyton mentagrophytes, 678, 679q
Trichophyton rubrum, 678, 679q
Trichophyton schoenleinii, 680
Trichophyton tonsurans, 678, 678f, 680
Trichophyton verrucosum, 678
Trichophyton violaceum, 680
 Trichophyton, 673q
Trichosporon, 673q, 677, 677f
Trichuris trichiura, 733, 734, 735q, 739f
 Triclosan, ação antimicrobiana do, 61q, 64
 Tricofitina, 679, 680
 Tricomoniase, 805, 805q
 Trifluridine, 443q
 Trifosfato de adenosina, 67
 e assimilação de nitrogênio, 85–87, 86f, 87f, 88f
 e cassete de transporte ligado à ATP, 20
 e ligações anídricas, 67, 77, 80, 91
 e metabolismo do fosfoenolpiruvato, 78–80
 e metabolismo produtor de energia, 91–96
 e processo de fermentação, 67
 e transporte de elétrons, 21
 na fotossíntese, 96
 na respiração, 94–95, 96f
 na via Embden-Meyerhof, 92, 93f
 no ciclo de Calvin, 84, 86f
 produção de, 14
 Trimetoprima, 384, 401
 na terapia medicamentosa, 224, 383
 mecanismo de ação, 375
 resistência ao, 224, 375, 376, 377
 Trimetoprima-sulfametoxazol, 693, 694
 Trimetrexato, 375, 401
 Triquinelose, 735q
 Trissulfapirimidinas, 401
 Trofozoítos, 720f, 721, 721f
Tropheryma whipplei, 53, 151, 310, 763
Trypanosoma brucei brucei, 724–725
Trypanosoma brucei gambiense, 724–725, 724f
Trypanosoma brucei rhodesiense, 724–725
Trypanosoma cruzi, 725, 725f
Trypanosoma, 723–725
 versus *Leishmania*, 724q
Tsukamurella, 187
 Tubérculo, 316
 Tuberculose extrapulmonar, 808–809
 Tuberculose, 313–321, 806–809
 achados clínicos na, 318, 807
 diagnóstico na, 318–320, 763, 808
 doença caviária apical, 808
 ensaio de liberação de interferon- γ para, 318
 extrapulmonar, 808–809
 fármacos na terapia da, 320, 321, 388q, 402–403, 807, 808
 imunidade na, 317
 infecção primária, 316–317, 808
 lesão exsudativa na, 316
 lesões produtivas na, 316
 meningite na, 318, 786
 miliar, 316, 318, 807–809
 na infecção pelo vírus HIV, 320, 321, 322, 659, 807, 811q
 patogênese da, 316
 patologia da, 316
 prevenção e controle da, 321
 quimioprofilaxia na, 383
 reativação, 316–317, 808
 resistência, 320, 378
 epidemiologia da, 320–321
 teste cutâneo para, 142, 317–318, 321, 808
 transmissão da, 151, 808
 vacina BCG, 321
 Tubulina, 14
 Tularemia, 273–275
 Tumores
 adenovírus na terapia oncológica, 461
 carcinogênese nos, 633–635, 634q
 oncogenes celulares nos, 633–634, 638–639, 641–642
 vírus associados com
 adenovírus, 461, 469q, 633, 647–648
 genes supressores de tumor nos, 633
 Herpes-vírus, 471, 633, 633q, 648
 interações hospedeiro-vírus nos, 634–635
 nas infecções pelo vírus HIV e AIDS, 661, 810, 812q
 papilomavírus, 411, 438f, 633, 633q, 642f, 644–647, 647f
 poliomavírus, 633q, 642–644
 poxvírus, 502, 503–504, 648
 retrovírus, 633, 633q, 635–641
 vírus da hepatite, 507, 507q, 512, 513, 633, 633q, 648–649
 vírus Epstein-Barr, 471, 485–486, 633, 633q, 642f, 648
 Turbidez da cultura e contagem de células viáveis, 55
- U**
- Úlcera péptica, *Helicobacter pylori* na, 261
 Ultracentrifugação, taxa de sedimentação dos vírus na, 415
 Uniportes, 20, 21f
 Uracila, 89f, 101
Ureaplasma urealyticum, 341, 342, 345, 804
 Urease
 Uretra, microbiota normal da, 172
 Uretrite não gonocócica, 363
 Uretrite, 804
 clamídia, 363, 388q, 774, 804
 diagnóstico da, 758q, 774
 gonocócica, 804
Mycoplasma genitalium, 345
 não gonocócica, 804
Neisseria gonorrhoeae, 289, 804
Ureaplasma urealyticum, 345, 804
 Uridina difosfato ácido N-acetilmurâmico na síntese de peptidoglicano da parede celular, 89, 90f
 Uso de luvas nas precauções padrão, 522
 Utilização de benzoato, 84–85, 87f
- V**
- Vaca, vírus da imunodeficiência em, 656q
 Vacina BCG na tuberculose, 321
 Vacina conjugada, 267
 Vacina contra o bacilo de Calmette-Guérin na tuberculose, 321
 Vacina PCV-13, 222
 Vacina PCV-7, 222
 Vacina PPSV-23, 222
 Vacina Salk, 533
 Vacinação, 147, 445–449
 adenovírus, 447q, 462, 464
 antraz, 177
Brucella, 273
 caxumba, 446f, 447q, 603, 606
 cólera, 258
 contaminação com o vírus SV40, 644
Coxiella burnetii, 355
 difteria, 191, 267
 encefalite Japonesa, 561
 engenharia genética na, 120–121
 febre amarela, 447q, 563–564
 contaminação pelo vírus da hepatite B na, 433
Francisella tularensis, 275
Haemophilus influenzae, 267, 787
 hepatite A, 447q, 520, 522
 hepatite B, 447q, 523, 649
 HIV, 665–666
 malária, 731
Neisseria meningitidis, 786
 no surto da Iugoslávia, 818–819
 papilomavírus, 647
 para doença mediada por exotoxina, 155
 perspectivas futuras na, 448–449
pertussis, 191, 270
 poliomielite, 446f
 poliovírus, 447q, 533
 preparações aprovadas, 447q
 raiva, 447q, 623–625, 623q, 625–626
 recomendações sobre, 448
 resposta de anticorpos para, 446, 447f
 rotavírus, 447q, 548
 rubéola, 446f, 447q, 603, 608–609
Salmonella, 241
 sarampo, 435, 446f, 447q, 603, 606
Streptococcus pneumoniae, 221–222
 tétano, 181, 191, 267, 299
 varicela-zóster, 447q, 479–480
 varíola, 447q, 493, 496–497, 498, 499–500
 vírus atenuados, 447f, 447q, 448
 vírus do Nilo Ocidental, 560
 vírus herpes simples, 476
 vírus inativados, 446–447, 447f, 447q
 vírus influenza, 447q, 587–588
 vírus sincicial respiratório, 600
Yersinia pestis, 281
 Vacinas com vírus inativados, 446–447, 447q
 comparadas à vacinas com vírus atenuados, 447f, 447q
 respostas de anticorpos para, 446, 447f
 Vacinas de vírus atenuados, 447q, 448
 comparadas a vacinas de vírus inativados, 447f, 447q
 resposta de anticorpos para, 447f, 448
 Vagina
 diagnóstico das infecções, 773, 805, 805q
 fármacos antimicrobianos afetando, 381
 infecção por *Candida* da, 696, 709, 805, 805q
 microbiota normal da, 172, 298
 no mecanismo de interferência bacteriana, 124
 tricomoníase na, 805, 805q

- Vaginose bacteriana, 172, 297–302
- Vaginose, bacteriana, 297–302, 804–805
diagnóstico na, 773
- Valaciclovir, 443q
- Valinomicina, 373
- Vancomicina, 396
concentração inibitória mínima, 200
dos enterococos, 222–223
dos estafilococos, 200
e síntese do peptidoglicano da parede celular, 90f, 396
resistência à, 204, 205, 377–378, 396
- Vapor, ação antimicrobiana do, 64
para vírus, 420
- Varicellovirus, 468
- Variola aviária, 327, 331, 388q
- Variola de Yaba, 494q
- Variola por *Rickettsia*
epidemiologia da, 351, 352
prevenção da, 353
- Vegetações da valva cardíaca, 794
- Veillonella, 296q, 297
- Verme cilíndrico do guaxinim, 737q
- Verme da Guiné, 744–745
- Verme em forma de chicote, 733, 734, 735q
- Verruga peruana, 308, 310
- Verrugas, papilomavírus, 411, 434f, 645f, 646, 646q
- Vertebrado inferior — ciclo dos artrópodes, 427
- Vesículas gasosas em bactérias, 17, 19f
- Vesículas nas infecções virais, 439
- Vetores recombinantes
virais, 426, 427, 461
- Vetores
nas infecções por arbovírus, 553
recipiente, 117f
recombinante, viral, 427, 461, 493
- Via de secreção dependente de contato, 23
- Via Embden-Meyerhof, 67, 92, 93f, 96q
- Via Entner-Doudoroff, 92–93, 94f, 95f
- Via lectínica ligada a manose na ativação do complemento, 139f, 140
- Vias de assimilação, 68, 77, 80–81
benzoato, 84–85
carbono, 82, 84, 86f
ferro em, 160
fosfato em, 69
nitrogênio em, 68, 85–88
sulfeto de hidrogênio em, 69
- Vias de dissimilação, 68–69
- Vias metabólicas redutoras, 85
- Viável mas não cultivável (VBNC), 58
- Vibrio alginolyticus*, 258
- Vibrio anginolyticus*, 256q
- Vibrio cholerae*, 154, 157, 255–258
estrutura celular do, 17
gastrenterite por, 796, 798q
infecções epidêmicas, 50, 110, 257–258
morfologia e identificação do, 255, 256f
no bioterrorismo, 820
processo infeccioso, 152
sorogrupos de, 50, 157, 159, 255–256, 256q
testes diagnósticos para, 257, 758q, 760
toxinas de, 157, 256
transmissão do, 151, 258
tratamento das infecções, 257, 387q
virulência do, 50, 110, 153, 153q
- Vibrio cincinnatiensis*, 256q
- Vibrio damsela*, 256q, 258
- Vibrio fluvialis*, 256q, 258
- Vibrio hollisae*, 256q, 258
- Vibrio metschnikovii*, 34f, 256q
- Vibrio mimicus*, 256q, 258
- Vibrio parahaemolyticus*, 256q, 258, 798q
- Vibrio vulnificus*, 256q, 258
- Vidarabina, 443q
- Viremia, 431, 432q
- Vírião, 407, 408
aderência ao sítio do receptor, 421
classificação do, 408, 409q
desnudado, 409q
envelopado, 409q, 416
no ciclo de replicação, 424q
- Virófagos, 2
- Viroides, 2, 414
características de diferenciação dos, 4q
- Virulência, 149–150
bacteriana, 152, 153–161
viral, 431
- Vírus, 2. *Ver também vírus específicos*
ácidos nucleicos nos. *Ver* Ácidos nucleicos, virais
anfotrópico, 637
campo ou isolados primários, 425
características de diferenciação dos, 4q
classificação dos, 408–414
coloração dos, 775
como vetores, 427, 461, 493
adenovírus nas, 461
composição química dos, 415–416
culturas de, 417, 775, 779–780
diagnósticos das infecções, 417–418, 441, 442f, 775–783
nas infecções pelo vírus HIV e Aids, 662–663, 662f, 781–783
disseminação hematogênica, 431–432, 435f
disseminação pelo corpo, 431–432, 434f, 438–439
DNA no, 105. *Ver também* DNA, nos vírus
dose infectante, 418
e eucariontes, 105
e procariontes, 105
ecotrópicos, 637
efeitos citopáticos dos, 417, 417f, 418, 470f, 778q, 779
do adenovírus, 460, 461f
do herpes-vírus, 417f, 470
em doenças emergentes, 428
envelopes dos. *Ver* Envelope, viral
estágios de infecções, 775, 775q
estrutura dos, 407f, 414–415
simetria na, 414–415
subunidades na, 408
unidades proteicas, 408
genoma dos, 104q, 105–106
história natural das infecções, 427–428
hospedeiro dos. *Ver* Hospedeiro
infecções congênitas, 440–441, 440f. *Ver também* Infecções congênitas, virais
infecções crônicas, 436–437
infecções por vírus lentos, 626–627
infecções subclínicas, 437
interações entre, 426–427
isolamento e identificação dos, 418–419, 775
mecanismos de brotamento. *Ver* Mecanismos de brotamento dos vírus
medição, 409q, 410f, 415
meningite por, 786
métodos de inativação, 419–420
microscopia dos, 775
microscopia eletrônica, 414
nas infecções virais
e carcinogênese, 634
mecanismos de evasão, 132, 477
medição da, 781
resposta imune aos, 435
no bioterrorismo, 428
origem evolucionária dos, 408
patogênese das infecções, 431–441
estágio de excreção na, 433–434, 434f
lesão celular e doença clínica em, 432–433
mecanismos de recuperação dos, 433
replicação primária na, 431
patogênicos, 431
perspectivas futuras nas, 448–449
uso recomendado de, 448
vírus atenuados, 447f, 447q, 448
vírus inativados, 446–447, 447f, 447q
preparações aprovadas, 447q
prevenção e tratamento das infecções, 441–449
propriedades gerais dos, 407–428
purificação dos, 418–419
quantificação dos, 418
reações a agentes físicos e químicos, 419–420
replicação dos, 420–425, 422f
células permissivas na, 635
defectivos, 408, 426
interferência na, 427
na patogênese da infecção, 431
nos bacteriófagos, 106–107
RNA nos, 105. *Ver também* RNA, vias de penetração dos vírus, 431, 433q
selvagem, 425
sensibilidade ao éter dos, 409q, 420
simetria dos, 414–415
cúbica, 414
helicoidal, 407f, 414–415
terminologia relacionada aos, 407–408
transmissão dos, 427–428
tropismo celular e tecidual, 431–432
tumores associados aos, 633–649
vacinas contra os, 445–449
virulência dos, 431
xenotrópico, 637
- Vírus anfotrópicos, 637
- Vírus Bayou, 568
- Vírus BK, 411, 644, 778q
- Vírus Chikungunya, 560
- Vírus Choclo, 568
- Vírus Coxsackie, 529, 530q, 531–536, 583q, 786
- Vírus da caxumba, 591, 601–603, 610
achados clínicos do, 601–602
características do, 593q
disseminação pelo corpo, 434f
epidemiologia do, 602–603
imunidade para, 602
patogênese e patologia nas infecções, 601
replicação do, 594
testes diagnósticos para, 602, 778q
vacinação, 446f, 447q, 603, 606
- Vírus da coriomeningite linfocítica, 438f, 554q, 570–571
testes diagnósticos para, 776q
- Vírus da doença de Borna, 626, 626q

- Vírus da estomatite vesicular, 427, 619, 620f
- Vírus da febre catarral, 554q, 567
- Vírus da febre do transporte, 592
- Vírus da floresta de Semliki, 554q, 555f, 558
- Vírus da hepatite A, 507–509, 513–514
 anticorpos para, 508q, 515, 515q
 característica do, 507–508, 507q
 classificação do, 528, 529
 e interação com o hospedeiro, 517
 epidemiologia do, 513q, 519f–520f, 520
 estrutura e composição do, 507, 508q, 529
 imunidade ao, 520
 isolamento e identificação do, 508–509
 nomenclatura e definições relacionadas ao, 508q
 período de incubação, 513q
 prevenção e controle do, 522–523
 resultado das infecções, 514, 514q
 testes diagnósticos para, 515, 515f, 515q, 777q
 transmissão do, 507q, 520
 vacina, 447q, 520, 522
- Vírus da hepatite B, 2, 426, 427, 507, 513–514, 516f, 633q
 características do, 507q, 509–511
 carcinoma hepatocelular associado com, 521
 disseminação atrás do corpo, 434f
 e interações com o hospedeiro, 517
 e vírus da hepatite D, 517, 518f, 522
 epidemiologia do, 513q, 519f–520f, 521
 estrutura e composição do, 509–511, 509f, 510f
 genoma do, 507q, 509–510, 510f
 infecções congênicas e perinatais, 440, 441q, 514q, 518, 521, 523
 infecções crônicas e persistentes, 437, 438f, 512–513, 514, 514q, 515, 648–649
 na contaminação da vacina contra a febre amarela, 433
 nomenclatura e definições relacionadas ao, 508q
 oculto, na doença crônica pelo vírus da hepatite C, 517
 patologias nas infecções, 512–513
 período de incubação, 513q, 521
 portadores do, 512–513, 521
 prevenção e controle do, 523
 replicação do, 511, 511f
 resposta imune ao, 521
 resultado de infecções, 514, 514q
 testes diagnósticos para, 515, 516f, 777q
 transmissão do, 507q, 514q, 521, 523
 tratamento das infecções, 522
 vacina, 447q, 522, 523, 649
- Vírus da hepatite C, 507, 513–514
 anticorpos, 508q, 515q, 517
 características do, 507q, 511–512
 carcinoma hepatocelular associado ao, 512, 513, 514, 517f, 633q, 648–649
 classificação do, 557
 e transplante hepático, 814
 e vírus da hepatite B oculto, 517
 epidemiologia do, 513q, 521
 genética do, 512, 512f, 518
 infecção crônica, 512
 na resposta imune ao, 518
 nas infecções pelo vírus HIV e Aids, 518, 521, 659
- nas interações com o hospedeiro, 518
 nomenclatura e definições relacionadas ao, 508q
 patologias nas infecções, 513
 período de incubação, 513q, 521
 prevenção e controle do, 523
 resultados das infecções, 514
 testes diagnósticos do, 515q, 516–517, 517f, 777q
 transmissão do, 507q, 521
 tratamento das infecções, 522
- Vírus da hepatite D, 2, 426
 anticorpos para, 517
 características do, 507q, 512
 e coinfeção pelo vírus da hepatite B, 512, 517, 518f, 522
 epidemiologia do, 521–522
 genoma do, 512
 nomenclatura e definições relacionadas ao, 508q
 patologia das infecções, 513
 prevenção e controle do, 523
 testes diagnósticos do, 515q, 517, 518f, 777q
 transmissão do, 507q, 522
- Vírus da hepatite E, 412, 507
 característica do, 507q, 512
 genoma do, 512
 nomenclatura e definições relacionadas ao, 508q
 transmissão do, 507q
- Vírus da hepatite murina, 614f, 615, 615f
- Vírus da imunodeficiência símia (SIV), 653, 655, 656, 656q, 657
- Vírus da imunodeficiência
 em animais, 655, 656–657, 656q, 666
 nos humanos, 653–667
- Vírus da leucemia murina, 638f
- Vírus da leucemia, 638f, 639
- Vírus da leucose aviária, 638f
- Vírus da mielocitomatose aviária, 638f
- Vírus da pneumonia progressiva, 626
- Vírus da raiva, 619–626, 629
 classificação do, 619
 corpos de Negri no, 418, 621–622, 623f, 625
 em animais, 623q, 625
 epidemiologia do, 625
 estrutura e composição do, 619, 620f
 imunidade para, 623–624
 isolamento e identificação do, 622–623
 prevenção da infecção, 623–625, 623q
 pós-exposição, 623q, 624–625,
 pré-exposição, 624,
 propagação pelo corpo, 434f
 propriedade do, 619–621, 619q
 propriedades antigênicas do, 620–621
 replicação do, 619–620, 621f
 suscetibilidade de animais ao, 620, 622q
 testes diagnósticos para, 622–623, 777q
 transmissão do, 620, 625
 vacina, 447q, 623–625, 623q, 625–626
- Vírus da rinotraqueíte bovina, 468
- Vírus da rubéola, 583q, 607–610
 achados clínicos do, 608, 609
 classificação do, 556, 607
 disseminação pelo corpo, 434f
 efeito citopático do, 608
 epidemiologia do, 608
- história natural das infecções, 607f, 608
 imunidade para, 608, 609
 infecções congênicas, 440–441, 609, 778q
 infecções perinatais, 441q
 infecções persistentes, 437
 infecções pós-natal, 607–609
 patogênese e patologia nas infecções, 607, 609
 testes diagnósticos para, 608, 778q
 transmissão do, 607
 vacinação, 446f, 447q, 603, 608–609
- Vírus da vacínia
 classificação do, 494, 494q
 como vetor na terapia gênica, 493
 comparação com o vírus da varíola, 497
 estrutura e composição, 493, 494f
 genoma do, 104q, 496, 497
 na vacinação da varíola, 495, 496–497, 498, 499–500
 recombinante, na febre Lassa, 569
 replicação do, 495, 496f
 testes diagnósticos para, 778q
- Vírus da varicela-zóster, 467, 470–471, 476–480, 583q
 classificação do, 468, 468q
 disseminação pelo corpo, 434f
 efeitos citopáticos do, 470f, 476
 epidemiologia do, 479
 estrutura e composição do, 468f, 476
 evasão da resposta imune, 478
 imunidade para, 478
 infecções congênicas e perinatais, 440, 441q, 477–478
 infecções latentes, 437, 437f, 470–471, 477
 mudanças histológicas nas infecções, 477f
 nas infecções pelo vírus HIV e Aids, 478, 812q
 patogênese e patologia das infecções, 476–477, 476f
 propriedades do, 476
 reativação do, 476
 testes diagnósticos para, 477f, 478–479, 479f, 778q
 tratamento das infecções, 480
 vacinação, 447q, 479–480
- Vírus da varíola bovina, 494q, 497, 501
- Vírus da varíola bovina, 497, 501, 502f
 classificação do, 494, 494q
 testes diagnósticos para, 498, 778q
- Vírus da varíola murina, 435–436, 436f, 494, 497
- Vírus da varíola, 494, 496–500
 achados clínicos do, 497, 498f
 classificação do, 493–494, 494q
 comparado com o vírus da vacínia, 497
 diagnóstico diferencial do, 498
 diagnóstico do, 498–499
 epidemiologia do, 496, 499
 genoma do vírus, 497
 imunidade para, 497–498
 no bioterrorismo, 818–819, 820
 tipos de hospedeiro para, 497
 tratamento para, 499
 vacinação, 447q, 493, 496–497, 498, 499–500
 surto na Iugoslávia, 818–819
- Vírus das células de Merkel, 633q, 644
- Vírus de Norwalk, 547q, 548–551
 epidemiologia do, 547q, 549
 estrutura e composição do, 549f, 550f
 gastroenterite por, 796

- testes diagnósticos para, 777q
transmissão do, 551
- Vírus defeituoso, 408, 426
- Vírus do Canal Black Creek, 568
- Vírus do fibroma de Shope, 496, 648
- Vírus do sarampo, 583q, 591, 603–606, 610
achados clínicos para, 603–605
análise genética, 425, 592f
características do, 593q
classificação do, 591
disseminação pelo corpo, 434f
e encefalite, pós-infecciosa, 438f, 440, 604f, 605
epidemiologia do, 605–606
formação sincicial, 596f
história natural das infecções pelo, 603, 604f
imunidade para, 605
inclusões produzidas pelo, 594, 596f, 603
infecções clínicas, 438f
infecções persistentes ou latentes, 438f
patogênese e patologia das infecções, 603, 604f
testes diagnósticos para, 605, 778q
vacinação, 435, 446f, 447q, 603, 606
- Vírus do sarcoma de Rous, 638f
- Vírus do sarcoma murino de Harvey, 638f
- Vírus do sarcoma murino de Moloney, 638f
- Vírus do tumor mamário murino, 637, 638f
- Vírus Dobrava, 567
- Vírus Ebola, 554q, 555f, 567, 571–573
febre hemorrágica pelo, 571–573
genoma do, 104q, 572f
- Vírus ectrópicos, 637
- Vírus entérico bovino, 548
- Vírus Epstein-Barr, 143, 467, 471, 484–487, 648
antígenos, 485
biologia do, 484–489
classificação dos, 468, 468q
epidemiologia do, 487
estrutura e composição do, 468f, 484–489
estudos em animais para, 485
genoma do, 484–489
infecções latentes, 485
infecções orais, 438
isolamento e identificação do, 486
mononucleose pelo, 485, 487, 583q, 648
nas infecções pelo vírus HIV e Aids, 486, 661, 813q
reativação do, 485
replicação do, 421, 485
resposta imunológica ao, 486, 634
testes diagnósticos para, 486, 777q
tratamentos das infecções, 487
tumores associados ao, 471, 485–486, 633, 633q, 642f, 648
- Vírus espumosos, 637, 641
- Vírus Guanarito, 554q, 569, 570
- Vírus Hantaan, 554q, 567–568
- Vírus Hendra, 593, 593q, 606–607, 610
- Vírus Herpes B, 467, 471, 488
- Vírus Herpes simples, 467, 470, 471–476
classificação do, 467–468, 468q
comparação do tipo 1 e do tipo 2, 468, 468q, 470, 471, 472q
efeitos citopáticos do, 470f, 471
epidemiologia do, 475
estrutura e composição do, 467, 468f, 471, 472q
fármacos antivirais para, 475
genoma do, 467, 471
- imunidade para, 474
- infecção primária, 471–472, 474
- infecções congênitas e perinatais, 440–441, 441q, 475
- infecções genitais, 470, 471, 472q, 473, 806, 806q
na gravidez, 475
recorrente, 474
- infecções orais, 438, 471, 473, 473f, 583q
- infecções recorrentes, 472–473, 473f, 475
- isolamento e identificação do, 475
- latência e infecções persistentes, 437, 437f, 470–471, 474
- nas infecções pelo vírus HIV e Aids, 474, 475, 811q, 812q, 813q
- prevenção das infecções pelo, 476
- reativação do, 438f, 472–473, 474
- replicação do, 469f
- testes diagnósticos do, 474–475, 777q, 778q, 806q
- vacinação contra, experimental, 476
- via clássica do complemento e infecção pelo, 139
- Vírus *influenza*, 577–588, 579q
achados clínicos nas infecções, 584
análise genética, 425, 577
atribuições codificadas pelos segmentos de RNA, 577, 579q
aviário, 586–587
classificação do, 578
e síndrome de Reye, 584
epidemiologia do, 585–587, 597f
estrutura e composição do, 577–578
glicoproteínas no, 416, 416f, 577–578
estrutura e funções das, 578–580, 580f
mudanças antigênicas nas, 579q, 581, 586
hemaglutinina no, 416f, 577
anticorpos para, 585
estrutura e funções da, 578–580, 580f
mudanças antigênicas na, 578q, 581
no ciclo de replicação, 579–581, 580f, 581
imunidade para, 584–585
infecções epidêmicas, 586, 587
infecções históricas, 587
infecções subclínicas e clínicas, 438f
isolamento e identificação do, 585
mudança antigênica no, 424, 581, 581f, 586
e epidemiologia das infecções, 586
neuraminidase no, 416f, 577–578
anticorpos para, 585
estrutura e funções da, 580f, 581
mudanças antigênicas da, 579q, 581
no ciclo de replicação, 580f, 581, 582
patogênese e patologia das infecções, 583–584
pneumonia por, 584
prevenção e tratamento das infecções, 587–588
propagação no corpo, 434f
reação de hemadsorção, 417, 585
replicação do, 581–583, 582f
brotamento do, 416f, 581
sistema de nomenclatura para, 578
testes diagnósticos para, 585, 776q
na sorologia, 587
transmissão do, 586
vacina, 447q, 587–588
- Vírus *influenza* aviária, 586–587
- Vírus *influenza* de Hong Kong, 578, 578q, 587
- Vírus JC, 626–627, 628, 644
nas infecções pelo vírus HIV e Aids, 626–627, 644, 811q, 812q
testes diagnósticos para, 778q
- Vírus Junin, 554q, 567, 569, 570
- Vírus KI, 644
- Vírus Lassa, 554q, 567, 569
testes diagnósticos para, 776q
- Vírus Machupo, 554q, 567
- Vírus Maedi, 626, 655, 656
- Vírus Marburg, 554q, 567
febre hemorrágica pelo, 571–573
genoma do, 572f
- Vírus na varíola do macaco, 501
classificação dos, 493, 494q
testes diagnósticos para, 498, 778q
- Vírus New York, 568
- Vírus Nipah, 592f, 593, 593q, 606–607, 609
- Vírus Orf, 494q, 495f, 501, 502f
- Vírus órfão humano citopatogênico entérico, 536. *Ver também* Echovírus
- Vírus *parainfluenza* símio 5, 592, 592f
- Vírus *parainfluenza*, 592–593, 594–598, 609–610
achados clínicos do, 596–597
análise genética, 425
aviário, 592, 597
característica do, 593q
classificação do, 592–593
crupe por, 583q, 595, 596
epidemiologia por, 597f, 598
estrutura e composição do, 592f
imunidade para, 597
isolamento e identificação do, 597–598
patogênese e patologia nas infecções, 595–596
reação de hemadsorção, 417, 598
replicação do, 595
testes diagnósticos para, 597–598, 776q
transmissão do, 598
tratamento e prevenção do, 598
- Vírus Pichinde, 569
- Vírus Pumala, 567
- Vírus Rinderpest, 606
- Vírus Sabiá, 554q, 569, 570
- Vírus sem nome, 151, 554q, 567, 568
- Vírus semelhante ao da Hepatite E, 512
- Vírus semelhante ao Sapporo, 548, 549
- Vírus Sendai, 592, 592f
- Vírus Seoul, 554q, 567–568
- Vírus silvestre, 425
- Vírus sincicial respiratório, 591, 598–600, 609
achados clínicos nos, 598–599
bronquiolite por, 583q, 598, 599, 600
características dos, 593q
classificação dos, 593
desenvolvimento de vacina, 600
epidemiologia dos, 597f, 600
indução de formação de sincícios, 596f
mapa genético dos, 592f
patogênese e patologia nas infecções, 598
pneumonia por, 598
testes diagnósticos para, 599, 776q
tratamento e prevenção, 600
- Vírus Sindbis, 427
- Vírus SV40, 411, 642f, 643–644, 643f
- Vírus Tacaribe, 555f

Vírus T-linfotrófico, humano
 epidemiologia do, 640, 641f
 organização genética do, 638f
 replicação do, 639, 640f
 tipos, 639, 640f
 tumores associados com, 639–640

Vírus transmitidos por artrópodes, 553–573
 arbovírus. *Ver* Arbovírus
 classificação e propriedades dos, 554q
 transmissão dos, 427–428, 553

Vírus transmitidos por roedores, 412

Vírus Visna-maedi, 626, 627q, 655, 656

Vírus Whitewater Arroyo, 554q, 569

Vírus WU, 644

Vírus xenotrópicos, 637

Vírus Yaba, 496, 503–504, 648

Vitamina A, no sarampo, 606

Voriconazol, 705q, 706–709, 707, 707f

Vulvovaginite por *Candida*, 805

Vulvovaginite, 805, 805q
 na candidíase, 696, 805, 805q

W

Wangiella dermatitidis, 684

Web site sobre tratamento e prevenção da malária, 731

Wuchereria bancrofti, 736q, 743

X

Xenopsylla cheopis, 281

Xilulose 5-fosfato, 81f, 94f

Y

Yersinia enterocolitica, 279, 281–282, 796
 fármacos de escolha para, 387q
 gastroenterite por, 796, 799q
 motilidade de, 154, 281
 processo aderência-invasão, 155

testes diagnósticos para, 758q

Yersinia pestis, 279–281, 820
 estrutura antigênica, 279
 fármacos de escolha para, 281, 387q
 fatores de virulência, 153q, 154, 279
 morfologia e identificação da, 279, 280f
 no bioterrorismo, 819
 testes diagnósticos para, 280
 transmissão da, 151

Yersinia pseudotuberculosis, 279, 281–282

Z

Zalcitabina, 443q

Zidovudina, 443q, 665

Zigomicetos, 701

Zigomicose, 673q, 701–702, 762q

Zigosporos, 672

Zóster. *Ver* vírus da varicela-zóster

Zygomycota (zigomicetos), 7, 701

MICROORGANISMOS CLINICAMENTE IMPORTANTES

I. BACTÉRIA

BACTÉRIAS AERÓBIAS E FACULTATIVAS

COCOS GRAM-POSITIVOS

Catalase-Positivo

Staphylococcus aureus
Staphylococcus epidermidis
Staphylococcus intermedius
Staphylococcus lugdunensis
Staphylococcus saprophyticus
Staphylococcus spp.

CATALASE-NEGATIVO

Aerococcus spp.
Enterococcus faecalis
Enterococcus faecium
Enterococcus spp.
Gemella spp.
Lactococcus spp.
Leuconostoc spp.
Pediococcus spp.
Streptococcus agalactiae (Grupo B)
Streptococcus canis (Grupo G)
Streptococcus gallolyticus (Grupo D, anteriormente *S. bovis*)
Streptococcus infantarius (Grupo D, anteriormente *S. bovis*)
Streptococcus pneumoniae
Streptococcus pyogenes (Grupo A)
Grupo Viridans streptococci
Streptococcus anginosus
Streptococcus constellatus
Streptococcus intermedius
Streptococcus mitis
Streptococcus mutans
Streptococcus salivarius
Streptococcus sanguis
Abiotrophia spp. (estreptococos nutricionalmente variantes)
Granulicatella spp. (estreptococos nutricionalmente variantes)

COCOS GRAM-NEGATIVOS

Moraxella catarrhalis
Neisseria gonorrhoeae
Neisseria meningitidis
Neisseria spp.

BACILOS GRAM-POSITIVOS

Arcanobacterium spp.
Bacillus anthracis
Bacillus cereus
Corynebacterium diphtheriae
Corynebacterium jeikeium
Corynebacterium spp.
Corynebacterium urealyticum
Erysipelothrix rhusiopathiae
Gardnerella vaginalis
Gordonia spp.
Listeria monocytogenes
Mycobacterium avium
Mycobacterium abscessus
Mycobacterium bovis
Mycobacterium chelonae
Mycobacterium fortuitum
Mycobacterium intracellulare
Mycobacterium kansasii
Mycobacterium leprae
Mycobacterium marinum
Mycobacterium tuberculosis
Mycobacterium spp.

Nocardia asteroides
Rhodococcus equi
Tropheryma whippeli
Tsukamurella spp.

BACILOS GRAM-NEGATIVOS

Enterobacteriaceae

Citrobacter freundii
Citrobacter koseri
Citrobacter spp.
Cronobacter sakazakii
Edwardsiella tarda
Enterobacter aerogenes
Enterobacter cloacae
Escherichia coli
Escherichia spp.
Klebsiella oxytoca
Klebsiella granulomatis
Klebsiella pneumoniae
Klebsiella pneumoniae subsp. *rhinoscleromatis*
Morganella morganii
Plesiomonas shigelloides
Proteus mirabilis
Proteus vulgaris
Providencia alcalifaciens
Providencia rettgeri
Providencia stuartii
Salmonella Choleraesuis
Salmonella Paratyphi A
Salmonella Paratyphi B
Salmonella Typhi
Salmonella spp.
Serratia liquefaciens
Serratia marcescens
Shigella boydii
Shigella dysenteriae
Shigella flexneri
Shigella sonnei
Sorotipos *Salmonella*
Yersinia enterocolitica
Yersinia pestis
Yersinia pseudotuberculosis

Não Enterobacteriaceae —

Bacilo Fermentador

Aeromonas caviae
Aeromonas hydrophila
Aeromonas spp.
Aeromonas veronii biovar *sobria*
Pasteurella multocida
Vibrio cholerae
Vibrio parahaemolyticus
Vibrio spp.
Vibrio vulnificus

Não Enterobacteriaceae —

Bacilo Não Fermentador

Acinetobacter spp.
Alcaligenes spp.
Brevundimonas spp.
Burkholderia cepacia
Burkholderia mallei
Burkholderia pseudomallei
Chryseobacterium spp.
Comamonas spp.
Eikenella corrodens
Moraxella spp.
Pseudomonas aeruginosa
Pseudomonas fluorescens
Pseudomonas spp.
Ralstonia pickettii
Roseomonas spp.
Shewanella putrefaciens
Sphingobacterium spp.
Sphingomonas spp.
Stenotrophomonas maltophilia

OUTROS BACILOS E COCOBACILOS

GRAM-NEGATIVOS

Aggregatibacter (Actinobacillus) actinomycetemcomitans
Aggregatibacter (Haemophilus) aphrophilus
Arcobacter spp.
Bartonella bacilliformis
Bartonella henselae
Bartonella spp.
Bordetella bronchiseptica
Bordetella parapertussis
Bordetella pertussis
Bordetella spp.
Brucella melitensis
Brucella spp.
Campylobacter fetus
Campylobacter jejuni
Campylobacter spp.
Capnocytophaga spp.
Cardiobacterium hominis
Chlamydophila pneumoniae
Chlamydophila psittaci
Chlamydia trachomatis
Ehrlichia chaffeensis
Francisella tularensis
Haemophilus aegyptius
Haemophilus ducreyi
Haemophilus influenzae
Haemophilus parainfluenzae
Haemophilus spp.
Helicobacter pylori
Kingella kingae
Legionella micdadei
Legionella pneumophila
Legionella spp.
Orientia tsutsugamushi
Streptobacillus moniliformis

MICOPASMAS

Mycoplasma genitalium
Mycoplasma hominis
Mycoplasma pneumoniae
Mycoplasma spp.
Ureaplasma urealyticum

RIQUÉTSIAS E ORGANISMOS

RELACIONADOS

Anaplasma

Ehrlichia

Ehrlichia chaffeensis
Ehrlichia ewingii

Rickettsia

Rickettsia akari
Rickettsia conorii
Rickettsia mooseri
Rickettsia prowazekii
Rickettsia rickettsii

ORGANISMOS ESPIRALADOS

Borrelia burgdorferi
Borrelia recurrentis
Leptospira interrogans
Treponema pallidum

BACTÉRIA ANAERÓBIA

BACILO GRAM-NEGATIVO

Grupo *Bacteroides fragilis*
Bacteroides ovatus
B. distasonis
B. thetaiotaomicron
B. vulgatus
Bacteroides spp.
Fusobacterium necrophorum
Fusobacterium nucleatum
Mobiluncus spp.
Porphyromonas spp.
Prevotella melaninogenica
Prevotella spp.

COCOS GRAM-NEGATIVOS

Veillonella parvula

BACILOS GRAM-POSITIVOS AERÓBIOS NÃO FORMADORES DE ESPOROS

Actinomyces israelii
Actinomyces spp.
Bifidobacterium spp.
Eggerthella spp.
Eubacterium spp.
Lactobacillus spp.
Propionibacterium acnes
Propionibacterium spp.

BACILOS GRAM-POSITIVOS FORMADORES DE ESPOROS

Clostridium botulinum
Clostridium difficile
Clostridium perfringens
Clostridium tetani
Clostridium spp.

COCOS GRAM-POSITIVOS

Peptococcus niger
Peptostreptococcus spp.
Peptoniphilus spp.

II. VÍRUS

VÍRUS DNA

Adenoviridae
Mastadenovirus
Adenovirus humano
Hepadnaviridae
Orthohepadnavirus
Vírus da hepatite B
Herpesviridae
Alphaherpesvirinae
Simplexvirus
Vírus herpes B
Vírus herpes simples 1 e 2
Varicellovirus
Vírus varicella-zóster
Betaherpesvirinae
Cytomegalovirus
Roseolovirus
Herpes-vírus humano 6 e 7
Gammaherpesvirinae
Lymphocryptovirus
Vírus Epstein-Barr
Rhadinovirus
Herpes-vírus humano 8
Papillomaviridae
Papillomavirus
Papilomavírus humano
Parvoviridae
Bocavirus
Bocavírus humano
Erythrovirus
Parvovírus humano 819
Polyomaviridae
Polyomavirus
Vírus BK, JC, Merkel
Poliomavírus SV40
Poxviridae
Molluscipoxvirus
Orthopoxvirus
Variola bovina
Variola dos macacos
Variola
Vírus vacinia
Parapoxvirus
Vírus Orf
Pseudovariola de vacas
Yatapoxvirus
Molusco contagioso
Yabapox etanapox viroses

(Continua)

MICROORGANISMOS CLINICAMENTE IMPORTANTES (Continuação)

VÍRUS RNA

Arenaviridae
Arenavirus
 Vírus Junin
 Vírus da coriomeningitelinfocítica
 Vírus de Lassa
 Vírus Machupo
 Astroviridae
Astrovirus
 Astrovírus humano
 Bornaviridae
Bornavirus
 Vírus da doença de Borna
 Bunyaviridae
Hantavirus
 Vírus Hantaan
 Vírus Seoul
 Vírus SinNombre
Nairovirus
 Vírus da febre hemorrágica do Congo-Crimeia
 Outros sorogrupos
Orthobunyavirus
 Sorogrupo Bunyamwera
 Sorogrupo California
 Outros subgrupos
Phlebovirus
 Vírus da febre do Vale do Rift
 Vírus da febre do mosquito-pólvora
 Caliciviridae
Norovirus
 Vírus Norwalk
Sapovirus
 Vírus Sapporo
 Coronaviridae
Coronavirus
 Coronavírus humano
 Coronavírus SARS
Torovirus
 Torovírus humano
 Filoviridae
Ebolavirus
 Vírus Ebola
Marburgvirus
 Vírus Marburg
 Flaviviridae
Flavivirus
 Arbovírus do Grupo B, vírus transmitidos por mosquitos, vírus da encefalite, febre amarela e vírus da dengue
 Vírus da encefalite transmitida por carrapato
Hepacivirus
 Vírus da hepatite C
 Hepeviridae
Hepevirus
 Vírus da hepatite E
 Orthomyxoviridae
Influenzavirus A, B
 Vírus Influenza tipos A e B
Influenzavirus C
 Vírus influenza tipo C
 Paramyxoviridae
Respirovirus
 Vírus parainfluenza
Rubulavirus
 Vírus do sarampo
 Vírus parainfluenza

Morbillivirus
 Vírus da caxumba
Pneumovirus
 Vírus sincial respiratório
Henipavirus
 Vírus Hendra
 Vírus Nipah
Metapneumovirus
 Metapneumovírus humano
 Picornaviridae
Enterovirus
 Vírus Cocksackie A
 Vírus Cocksackie B
 Ecovirus
 Enterovírus
 Poliovírus
Hepatovirus
 Vírus da hepatite A
Parechovirus
 Parecovírus
Rhinovirus
 Vírus do resfriado comum
 Reoviridae
Coltivirus
 Vírus da febre do carrapato do Colorado
Rotavirus
 Rotavírus humano
 Retroviridae
Deltaretrovirus
 Vírus T linfotrópico humano 1 e 2
Gammaretrovirus
 Retrovírus XMRV
Lentivirus
 Vírus da imunodeficiência humana 1 e 2
 Rhabdoviridae
Lyssavirus
 Vírus da raiva
Vesiculovirus
 Vírus da estomatite vesiculosa
 Togaviridae
Alphavirus
 Arbovírus do Grupo A, vírus transmitidos por mosquitos, vírus da encefalite equina
Rubivirus
 Vírus da rubéola

VÍRUS HUMANOS NÃO CLASSIFICADOS

AGENTES NÃO CONVENCIONAIS (PRÍONS)

Agente Creutzfeldt-Jakob

III. FUNGOS

DERMATÓFITOS

Epidermophyton floccosum
Microsporum canis
Microsporum gypseum
Microsporum spp.
Trichophyton mentagrophytes
Trichophyton rubrum
Trichophyton tonsurans
Trichophyton verrucosum
Trichophyton spp.

LEVEDURAS E LEVEDURAS TIPO FUNGOS

Candida albicans
Candida dubliniensis

Candida glabrata
Candida guilliermondii
Candida krusei
Candida lusitanae
Candida parapsilosis
Candida tropicalis
Candida spp.
Cryptococcus gattii
Cryptococcus neoformans
Geotrichum spp.
Malassezia spp.
Pneumocystis jirovecii
Rhodotorula spp.
Saccharomyces spp.
Trichosporon spp.

FUNGOS DIMÓRFICOS

Blastomyces dermatitidis
Coccidioides immitis
Coccidioides posadasii
Histoplasma capsulatum
Paracoccidioides brasiliensis
Penicillium marneffeii
Sporothrix schenckii

HIFAS HIALINAS

Acremonium spp.
Aspergillus flavus
Aspergillus fumigatus
Aspergillus lentulus
Aspergillus niger
Aspergillus terreus
Aspergillus spp.
Scedosporium apiospermum
Fusarium spp.
Paecilomyces spp.
Pseudallescheria boydii
Scopulariopsis spp.

FUNGO DEMÁCIO

Alternaria spp.
Aureobasidium spp.
Bipolaris spp.
Cladophialophora bantiana
Cladophialophora spp.
Cladosporium spp.
Curvularia spp.
Exophiala spp.
Exserohilum spp.
Fonsecaea pedrosoi
Fonsecaea spp.
Hortaea werneckii
Madurella spp.
Phialophora verrucosa
Phialophora spp.
Piedraia hortae
Rhinochlamydia aquaspera
Scedosporium prolificans
Wangiella dermatitidis

ORDEM MUCORALES

Lichtheimia spp.
Cunninghamella spp.
Mucor spp.
Rhizomucor spp.
Rhizopus oryzae
Rhizopus spp.

IV. PARASITOS

PROTOZOA

Amebóides

Acanthamoeba castellanii
Acanthamoeba spp.
Balamuthia mandrillaris
Endolimax nana
Entamoeba dispar

Entamoeba histolytica
Entamoeba moshkovskii
Entamoeba spp.
Hartmanella spp.
Iodamoeba butschlii
Naegleria fowleri

Ciliados

Balantidium coli

Flagelados

Giardia lamblia
Leishmania braziliensis
Leishmania donovani complex
Leishmania major
Leishmania mexicana complex
Leishmania tropica
Leishmania spp.
Trichomonas vaginalis
Trypanosoma brucei gambiense
Trypanosoma brucei rhodesiense
Trypanosoma cruzi

Esporozoário

Babesia microti
Cryptosporidium hominis
Cryptosporidium parvum
Cyclospora cayentanensis
Plasmodium falciparum
Plasmodium malariae
Plasmodium ovale
Plasmodium vivax
Toxoplasma gondii

MICROSPORA

Bracheola spp.
Encephalitozoon cuniculi
Encephalitozoon heilum
Encephalitozoon intestinalis
Encephalitozoon spp.
Enterocytozoon bieneusi
Nosema spp.
Pleistophora spp.
Trachipleistophora hominis
Vittaforma corneae

HELMINTOS

Cestódeos

Diphyllobothrium latum
Dipylidium caninum
Echinococcus granulosus
Hymenolepis nana
Taenia saginata
Taenia solium

Nematódeos

Ancylostoma duodenale
Ancylostoma caninum
Anisakis simplex
Ascaris lumbricoides
Baylisascaris procyonis
Brugia malayi
Dracunculus medinensis
Enterobius vermicularis
Necator americanus
Onchocerca volvulus
Strongyloides stercoralis
Toxocara canis
Trichinella spiralis
Trichuris trichiura
Wuchereria bancrofti

Trematódeos

Clonorchis sinensis
Fasciola hepatica
Fasciolopsis buski
Paragonimus westermani
Schistosoma haematobium
Schistosoma japonicum
Schistosoma mansoni