



 DEPARTAMENTO DE **MicroBiologia**

 UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

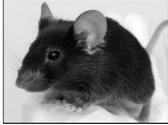
 Laboratório de Anaeróbios – ICB II

 www.icb.usp.br/bmm/mariojac

Bactérias anaeróbias do trato intestinal

M. Sc Aline Ignacio
 aline.ignacio@usp.br
 2016







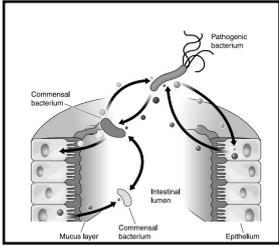

MICROBIOTA INTESTINAL RESIDENTE

Laboratório de Anaeróbios

Funções da microbiota residente

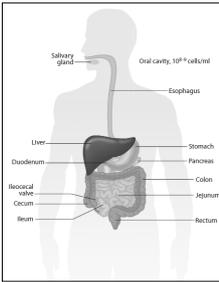
Corpo humano 10¹⁴ células

- Primeira linha de defesa (patógenos exógenos ou oportunistas)
- Disponibilização de nutrientes (vitamina K, B₁₂, fermentação de polissacarídeos)
- Tolerância imunológica



Laboratório de Anaeróbios

Habitat gastrointestinal e seus habitantes



Organ	pH gradient	Microbial biomass
Stomach	1.5-5	10 ³ cells/ml
Duodenum	5-7	10 ⁴ cells/ml
Jejunum	7-9	10 ⁵ cells/ml
Ileum	7-8	10 ⁶ cells/ml
Ileocecal valve		
Colon	5-7	10 ¹¹ cells/ml

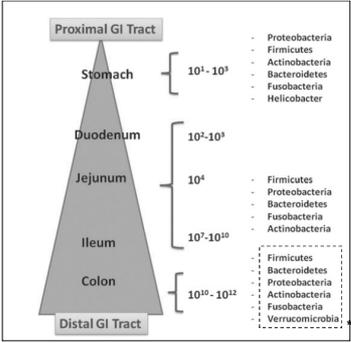
Laboratório de Anaeróbios Walter and Lee 2011

Trato intestinal

- ✓ intestino delgado
- ✓ intestino grosso

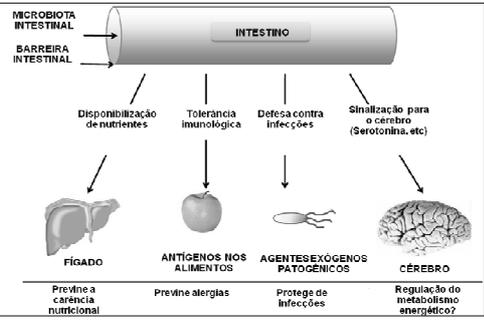
VOLUME
pH 5 + 7
Baixa [] sais biliares
Peristaltismo reduzido

MAIOR DENSIDADE CELULAR
VARIABILIDADE



Laboratório de Anaeróbios Owen and Mohamadzadeh 2013

Interações da microbiota intestinal



Laboratório de Anaeróbios Adaptado de Bischoff (2011)

Lactobacillus e alimentos fermentados

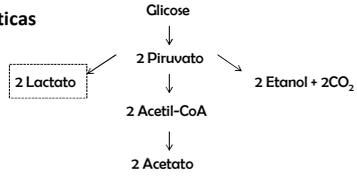
- Consumidos e produzidos há milhares de anos a.C.
- Produtos:
 - queijos
 - iogurtes



- Hexoses são ótimos substratos para fermentação – GLICOSE
- Principal via de fermentação da glicose - GLICÓLISE

Laboratório de Anaeróbios

- Bactérias ácido-láticas



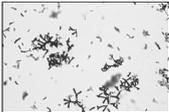
```

        graph TD
            Glucose --> P[2 Piruvato]
            P --> L[2 Lactato]
            P --> E[2 Etanol + 2CO2]
            P --> ACoA[2 Acetil-CoA]
            ACoA --> Acetato[2 Acetato]
            
```

- Garantem a textura e o sabor do alimento
- Inibem o crescimento de outros microrganismos – síntese de ácidos e bacteriocinas

Laboratório de Anaeróbios

Bifidobacterium spp.



- Bacilos gram-positivos não formadores de esporos
- Anaeróbios estritos
- Constituintes da microbiota intestinal residente do homem
 - mais prevalente em crianças < 5anos
 - leite materno
- Produtor de ácido láctico e ácido acético
 - diminui pH intestinal: eliminação de patógenos
 - produção de alimentos fermentados

Laboratório de Anaeróbios

Probióticos

- Microrganismos viáveis administrados oralmente que contribuem para o balanço microbiológico intestinal.

➤ Suplemento de alimentos: iogurtes, leite fermentado
 ➤ Formulações em cápsulas

Mais empregados

Box: Micro-organisms used in probiotics⁹

Bacteria

Bacilli

1. *Lactobacillus acidophilus, sporogenes, plantarum, rhamnosus, delbrueckii, reuteri, fermentum, lactus, cellobiosus, brevis*
2. *Bifidobacterium bifidum, infantis, longum, thermophilum, animalis*
3. *Propionibacterium*

Cocci

1. *Streptococcus lactis, cremoris, salivarius, intermedius*
2. *Leuconostoc*
3. *Pediococcus*
4. *Enterococcus*
5. *Enterococcus faecium*

Yeast and moulds

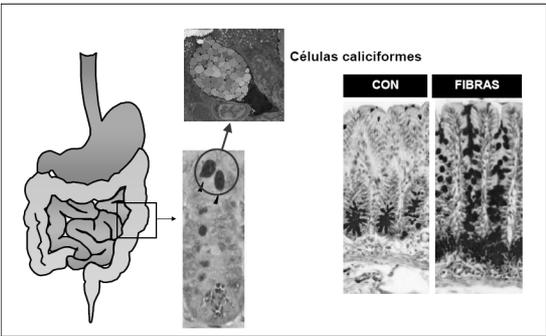
*Saccharomyces cerevisiae, Aspergillus niger, Aspergillus oryzae, Candida pintolopesii, Saccharomyces boulardii*⁹

Laboratório de Anaeróbios

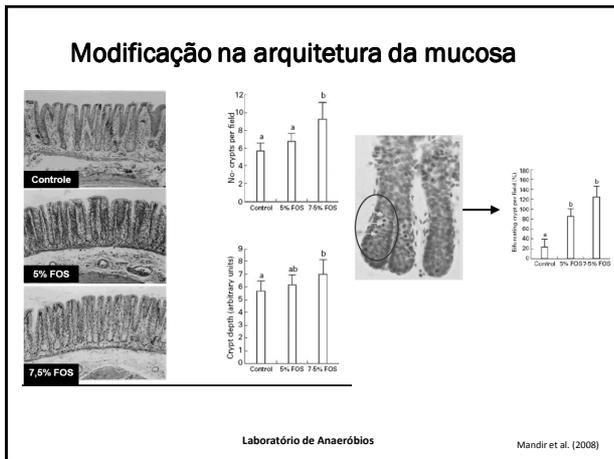
- Características
 - Capazes de sobreviver ao pH ácido do estômago e à bile
 - Resistentes a antibióticos usados frequentemente
- Formas de atuação
 - Impedem a instalação de bactérias patogênicas: competição por sítio de adesão, síntese de ácidos, produção de bacteriocinas
 - Inibem a síntese de citocinas inflamatórias
 - Estimulam a síntese de IgA secretória
 - Regulam a atividade fisiológica dos enterócitos

Entretanto, devem ser continuamente ingeridos para promoção de seus efeitos

Modificação na arquitetura da mucosa



Laboratório de Anaeróbios



Clostridium spp.

- Esporulados
- Anaeróbios estritos e aerotolerantes
- Bastonetes, mas podem ser pleomórficos
- Algumas espécies apresentam gram-labilidade
- Imóveis ou flagelo peritríquio

➤ Habitat: ubíquos na natureza mas predominam no solo e no trato intestinal de humanos e animais

Laboratório de Anaeróbios

Colonização do trato intestinal

TIPO DE PARTO

Laboratório de Anaeróbios

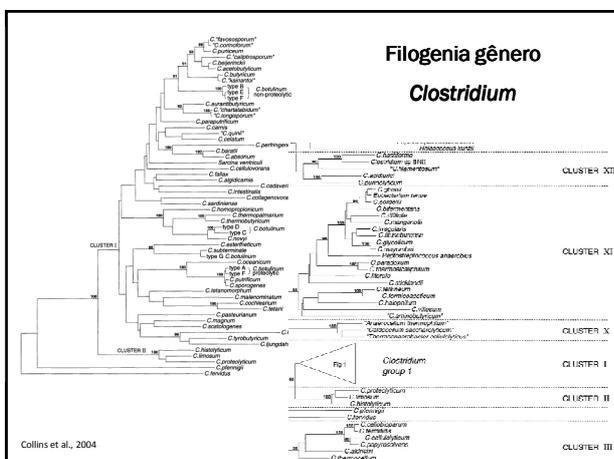
- Fatores de virulência: produção de toxinas
- Fermentam carboidratos e aminoácidos

➤ NH₃, amidas, indol e fenol → dificulta a colonização por *Bifidobacterium* spp.

- Produzem bacteriocinas: antagoniza a colonização de espécies comensais

MULTIPLICAÇÃO EM PROCESSOS INFECCIOSOS

Laboratório de Anaeróbios



Clostridium perfringens

- Espécie do gênero mais isolada de amostras clínicas: queimaduras, feridas por traumas, infecções pós-abortivas, entre outras.
- Dupla hemólise em ágar sangue: zona clara interna (teta-toxina) e zona externa (alfa-toxina).

Laboratório de Anaeróbios

Produce mais de 17 toxinas
 ↓
 PRINCIPAIS
 alfa, beta, epsilon, iota

TOXINOTIPO	alfa	beta	epsilon	iota
A	+			
B	+	+	+	
C	+	+		
D	+		+	
E	+			+

Laboratório de Anaeróbios

IMPORTÂNCIA CLÍNICA
Mionecrose – Gangrena gasosa

- Dano tecidual e contaminação por esporos de *C. perfringens* tipo A
- Inflamação, diminuição da oxigenação e Eh
- Germinação dos esporos
- Produção de gás e toxinas (alfa) – MORTE CELULAR

Laboratório de Anaeróbios

Bolhas de gás

Gangrena gasosa por *C. perfringens*

Laboratório de Anaeróbios

IMPORTÂNCIA CLÍNICA

C. perfringens tipo A - enterotoxina → Contaminação de carnes e frangos → Esporulação – produção de enterotoxina

Diarreia auto-limitante, Cólicas, Dores abdominais.

Laboratório de Anaeróbios

Clostridium difficile

➤ Baixo número de células na microbiota intestinal de humanos (10^4 cel/g fezes).

➤ Fatores de virulência

- Toxina A: enterotoxina
- Toxina B: citotoxina
- Toxina binária: citotoxina

Laboratório de Anaeróbios

BI/NAP1/027, toxinotype III

Enterocolitis Due to *C. difficile*, 1999–2006

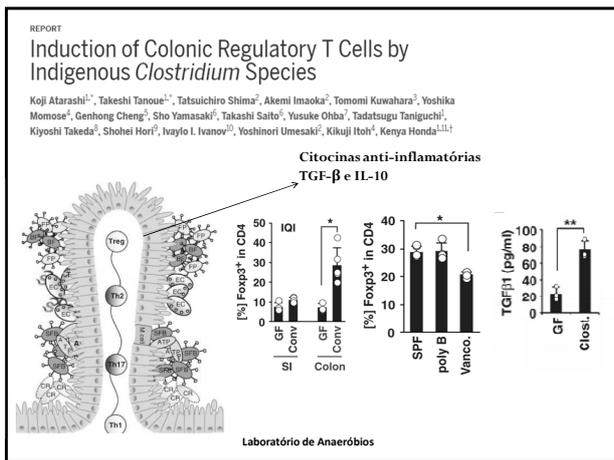
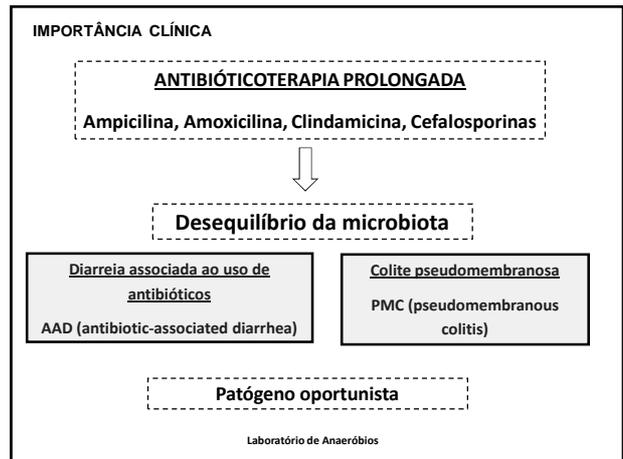
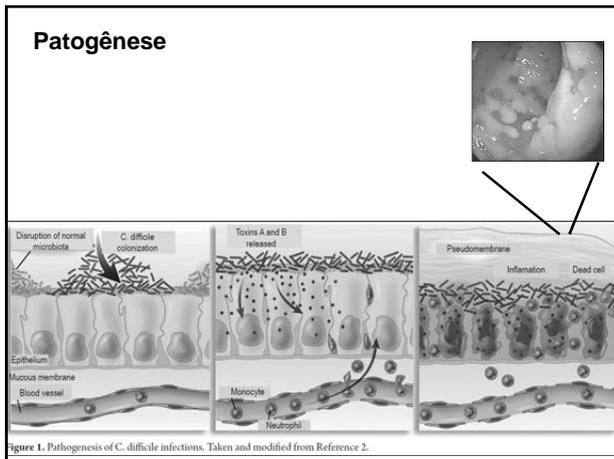
Rate (per 100,000 US standard population)

Year

Legend: Male, Female, White, Black, Entire

Observed vs Projected cases of *C. difficile* per 1000 Discharges by age group (18-44, 45-64, 65-84, ≥85 yr) from 2000 to 2014.

CDC



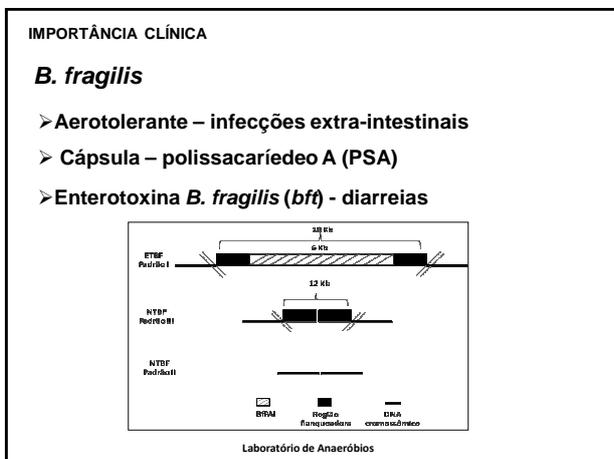
Bacteroides spp.

- Microbiota do colon
- Resistente a sais biliares
- Resistentes aos antibióticos e metais pesados
- Espécies: *B. fragilis*, *B. vulgatus*, *B. ovatus*, *B. uniformis*, *B. caccae*, *B. thetaiotaomicron*, *B. egerthii*, *B. stercoris*.

PATOLOGIAS ASSOCIADAS

- Abscessos e infecções extra-intestinais
- Infecções polimicrobianas
- Resistência aos antibióticos: aminoglicosídeos, β -lactâmicos.

Laboratório de Anaeróbios



Inducible Foxp3⁺ regulatory T-cell development by a commensal bacterium of the intestinal microbiota
 Xiao L, Round and Sano K. *Mucosal Immunol* 2013; 6(4): 399-410

Produção de IL-10 é deficiente em animais GF e *B. fragilis*

Animais Foxp3⁺ gavados com PSA e expressão de marcadores (MNL)

Laboratório de Anaeróbios

Anaeróbios predominantemente orais...

Peptostreptococcus spp. e *Peptococcus* spp.

- cocos gram-positivos
- Patologias associadas:
 - Abscessos cerebral e pulmonar
 - Osteomielite
 - Infecções endodônticas
 - Endocardite após procedimento odontológico

INFEÇÕES MISTAS

DÍFICIL ISOLAMENTO

PATOGENICIDADE POUCO ESTUDADA

Laboratório de Anaeróbios

***Fusobacterium* spp.**

- bacilo gram-negativo

PATOLOGIAS ASSOCIADAS

- Abscessos cerebrais;
- Meningites; e
- Infecções bucais
 - Gingivite
 - Periodontite
 - GUN (gingivite úlcero-necrosante)
- cancer de cólon

Laboratório de Anaeróbios

Immunity Article

Binding of the Fap2 Protein of *Fusobacterium nucleatum* to Human Inhibitory Receptor TIGIT Protects Tumors from Immune Cell Attack

Laboratório de Anaeróbios

***Prevotella* spp.**

- Microbiota residente oral e intestinal
- Pigmentados
- Sacarolíticas

PATOLOGIAS ASSOCIADAS

- Infecções de cabeça e pescoço
- Infecções bucais: gengivite, periodontite, perimplantite
- Infecções por mordidas de animais

Laboratório de Anaeróbios

PERGUNTAS PARA ESTUDO

1. Cite três características do trato intestinal que justifique a alta densidade e variabilidade bacteriana encontrada neste local.
2. Explique como bactérias orais podem colonizar trato intestinal.
3. Mencione exemplos de bactérias consideradas probióticos.
4. Você aprendeu o que são probióticos. Agora explique a diferença entre probióticos e prebióticos.

Laboratório de Anaeróbios

OBRIGADA!