



Universidade Federal do Rio de Janeiro
Instituto de Microbiologia Paulo de Góes
Concurso Público para provimento efetivo de vagas no cargo de
Professor da Carreira de Magistério Superior

Edital UFRJ nº 54, de 30 de janeiro de 2024 (Consolidado com
seus editais de retificação) Versão inicial publicada no DOU em:
02/02/2024 | Edição: 24 | Seção: 3 | Página: 71 a 80, código
MC-055 – área Bacteriologia Médica, do Departamento de
Microbiologia Médica – Instituto de Microbiologia Paulo de
Góes – CCS – UFRJ.

PROVA ESCRITA

CANDIDATO: 277608

277608

Ponto 3- Métodos fenotípicos e moleculares aplicados a identificação, diagnóstico e epidemiologia de bactérias patogênicas.

Uma das primeiras técnicas de isolamento para caracterização fenotípica por bacterioscopia foi a coloração de gram, por meio desta, o mundo acadêmico e médico pode identificar e reparar espécies bacterianas através de sua parede celular, onde as bactérias gram negativas, devido sua fina parede celular não conseguem fixar a violeta gromioma após a descoloração com álcool acetona, contudo, são coradas na contra-coloração de safranina.

Após esta primeira descoberta, que até hoje, noticia parâmetros clínicos de tratamento, visto que algumas bactérias gram negativas têm resistência intrínseca a β -lactâmicos e até a vancomicina, devido ao tamanho da droga, outras colorações também criaram seu espaço de grande relevância na microbiologia.

A coloração de Ziehl-Neelsen é uma coloração que marca bacilos, micobactérias, através de sua técnica de álcool-acido, sabemos que muitas micobactérias são frequentemente gram positivas, contudo esta não era uma técnica eixo de detecção.

Esta avaliação fenotípica passa pela caracterização do microrganismo através da bacterioscopia, onde podemos determinar características morfológicas da bactéria, se a mesma é um coco, diplococo, bacilo, ou espiriqueta.

Outro ponto importante de sua caracterização fenotípica é o crescimento em cultura, algumas bactérias como o S. aureus não requerem muito para o seu creci-

277608

20773

①

mento, apenas o meio de cultura, Água-sangue, à 37°C e em pouco tempo já terá uma colônia dourada na placa, contudo outras bactérias como o Mycobacterium leprae que é um microrganismo fastidioso, necessita de muitos nutrientes suplementados, e não cresce in vitro.

Este crescimento em meio de cultura pode variar de acordo com o tempo, e isto influencia na busca diagnóstica. Em suspeita clínica de pneumonia zoonótica alguns microrganismos podem ser suspeitos, entre eles a Klebsiella pneumoniae e o Mycobacterium Tuberculosis, além de sua diferença na patogenia e bacterioscopia podemos observar o tempo de crescimento da colônia, onde a Klebsiella em ~~3~~ um dia há visualização de colônias, o Mycobacterium demora até 8 semanas.

Uma outra forma de utilizar a morfologia como característica diagnóstica é no caso da zoonose B. canis e B. abortus, onde o morfotipo da colônia é o diferencial entre as cepas ~~uma~~ o B. canis contendo o morfotipo liso e o B. abortus o morfotipo rugoso.

No início do diagnóstico molecular, ~~se~~ na década de 70-90 se cultivava todo o material biológico obtido, após o crescimento, ~~se~~ era amplificado o DNA da bactéria, as bactérias encontradas no local. Já na década dos anos 2000 com a chegada do sequenciamento de nova geração (NGS), iniciou-se a realização do PCR para o RNA ribossomal 16S (rRNA16S), que é mais conservado em bactérias e possui uma região hipervariável que tem a capacidade de distinguir espécies e subespécies.

Além disso, com o NGS pode-se encontrar plasmídeos, genes extracromossômicos que possuem fatores de virulência e de resistência a antimicrobianos.

②

277608

2005-10

Junto a isso, foram identificados genes dos fatores de virulência de diversos microrganismos, todos estes atuando como alvos diagnóstico ~~para~~ molecular e alguns de grande interesse epidemiológico, como o gene erm responsável pela resistência a macrolídeos em micobactérias não tuberculosas.

O diagnóstico por exemplo, de micobacterioses depende tanto de um método fenotípico quanto molecular. Para M. tuberculosis, há a utilização da bacterioscopia do escarro com coloração de Ziehl-Neelsen e cultura, além dos NAATs, diagnóstico molecular, e o MALDI-TOF para detecção de resistência a isoniazida e rifampicina. Para Mycobacterium leprae também há a utilização da bacterioscopia, através da baciloscopia de linfa e biópsia de fragmento da lesão de pele e como para a tuberculose há a detecção molecular via NAAT e detecção de resistência a Rifampicina.

277608

10

Ponto 7 - Bactérias Gram-negativas de importância médica: caracterização fenotípica e molecular, patogenicidade e controle.

As bactérias são células unitárias de vida livre que podem ser divididas entre gram positivas e gram negativas. A coloração foi desenvolvida pelo cientista Hans Gram em 1882 e é utilizada até hoje para a diferenciação, ~~e~~ para o diagnóstico ~~e~~ o tratamento de diferentes bactérias.

Este método é baseado na coloração das bactérias com um corante principal, o violeta genciana que será fixado em seguida com lugol. Após a fixação ocorre a etapa de decoloração, com álcool-acetona, onde as bactérias que são gram ~~e~~ negativas descoram. Em seguida é adicionado o contra-corante safarina, que passa a dar cor as gram negativas e não atua as positivas. Desta forma as gram positivas ganham a cor roxa e as gram negativas ficam coradas.

As bactérias gram negativas possuem características pontuais como a presença de um lipopolissacarídeo ou lipoligossacarídeo na membrana, aumentando sua virulência, também possui uma camada diminuída de peptídeos glicoma na parede celular, o que atua a permeabilidade de células e possui resistência intrínseca a β -lactâmicos e a vancomicina, devido ao tamanho da droga.

Estas bactérias possuem grande relevância no contexto de saúde pública visto que muitas das bactérias envolvidas em zoonoses são gram negativas, e elevando esta relevância para o contexto de "One-Health" quando observamos o aumento de pressão seletiva em bactérias gram negativas ambientais, entrando em ciclos epidemiológicos como

zoonose.

Podemos citar como uma bactéria gram negativa de importância média a Pseudomonas aeruginosa que é um patógeno oportunista que produz catalase, oxidase e citase, o que faz desta bactéria uma aeróbia facultativa. Este microrganismo é capaz de fermentar lactose, visto isto, é cultivado também em meio diferencial de phenol-lactose, um meio vermelho que quando há a quebra da lactose pela β -lactamase bacteriana liberando glicose e lactose o meio fica laranja.

Outra característica única da P. aeruginosa é a produção de pirocina e piperacina, quelantes de ferro, ~~o~~ e dão a cor azulada/esverdeada a colônia e algumas vezes as lesões, como quimoduras. As colônias esverdeadas possuem outra característica marcante o odor adocicado de urvas.

Esta bactéria é resistente a dissecação, porém tem preferência a ambientes úmidos optando por se manter, quando em ambientes hospitalares, em respiradores, nebulizadores, sondas e cateteres, quando em sociedade, caixas para lente de contato, piscinas e hidromassagem, também conhecida como a doença do nadador, por causar otite média e a doença da hidromassagem, ~~é~~ por causar foliculite.

A P. aeruginosa ~~não coloniza diretamente~~ produz diversos fatores de virulência, como a presença do lipídio A no lipopolissacarídeo (LPS), assim como a exotoxina A que realiza a parada da síntese proteica na célula hospedeira. Outro fator de virulência produzido é a Elastase que degrada o colágeno levando ao dano tecidual e unindo a ação de neutrófilos, ~~é~~ a Bactericína que leva a morte da microbiota local e produz biofilme.

277608

4

Esta bactéria ainda produz enzimas de resistência como a β -lactamase, a enzima inibitória de aminoglicosídeos e a enzima inibitória de tetraciclinas, desta forma podendo ser detectado molecularmente pelo gene braZ para β -lactamases. Outra forma de detecção é através de PCR ~~para~~ DNA ou PCR ~~para~~ a detecção do rRNA 16S a fim de determinar a espécie que está trabalhando.

A P. aeruginosa pode gerar desde uma bronquite até uma vasta pneumonia, especialmente em indivíduos suscetíveis como pessoas que sofreram queimaduras. A partir disto que surge o paradoxo da Pseudomonas aeruginosa, apesar de possuir muitos fatores de virulência ~~por~~ e resistência, porém esta bactéria é considerada oportunista. Trabalhos mostram que apesar de todo aparato patogênico, a P. aeruginosa não é capaz de invadir e colonizar com eficiência, assim se mantendo como oportunista.

Não há vacinas para Pseudomonas, logo seu controle é realizado através das boas práticas de higienização e o tratamento de indivíduos infectados, contudo devido sua resistência intrínseca, se faz necessário a realização do teste de sensibilidade a antimicrobianos (TSA).

Outra bactéria de relevância médica é a Helicobacter pylori, que contamina a população via oral-fecal, oral-ambiental, e oral-oral, ou como é mais conhecido através de alimentos manipulados mal-lavados, e infecta mais de 50% da população de forma assintomática, onde apenas a minoria acaba desenvolvendo a forma sintomática da infecção.

Ao acessar o estômago a bactéria migra para a área mais distal do órgão onde não há muito contato com

244608

o ácido estomacal e se adere utilizando suas pequenas fímbrias, onde passa a produzir urease que converte o ~~H+~~ ácido estomacal em ureia e monóxido de carbono, criando um ambiente favorável para seu crescimento.

A H. pylori é uma bactéria que por estar no estômago quase não se é feita cultura, por isto o diagnóstico é clínico com o auxílio laboratorial através de endoscopia e da biópsia do tecido estomacal; Onde pode ser feito a bacterioscopia com a presença da do bacilo com os ~~3~~ 6. seus 3 a ~~6~~ 6 flagelos.

Além disso, a bactéria produz dois genes que são tanto utilizados para diagnóstico quanto para produção de fatores de virulência o gene cagA responsável pela desenvolvimento da gastrite e o gene vacA responsável pelo desenvolvimento da ~~gastrite~~ úlcera na patologia. Apesar destes ~~genes~~ terem potenciais patogênicos o real impulsionador a infecção ao H. pylori é o desenvolvimento de um adenocarcinoma ou um linfadenocarcinoma.

O controle desta infecção passa pelo saneamento e higienização correta dos alimentos, além do tratamento de indivíduos afetados com uma poliquimioterapia com a presença de um inibidor de bomba de prótons e dois antimicrobianos, uma tetraciclina e um β -lactâmico (ou macrolídeo).

A Escherichia coli é uma enterobactéria que faz parte da microbiota, nos colonizando após a introdução alimentar e de água. É caracterizada quatro serotipos que definem o antígeno e o soro de onde a cepa foi ~~isto~~ isolada; ~~por~~

27/608

el

Além destas caracterizações estas são divididas em grupos de infecção: "STEC - Shiga-like E. coli"; "entero EPEC - enteropatogênica"; "ETEC - enterotoxigênica"; "EIEC - enteroinvasiva"; "EUEU - enterouurinária"

O controle ~~e~~ destas pode ser realizado através de isolamento e o diagnóstico através de PCR 16S rRNAs. A E. coli possui grande importância na biotecnologia, pois todo seu genoma foi descrito, atualmente esta é utilizada na produção de insulina e recombinantes na indústria.

Já se vê E. coli resistente a muitos antimicrobianos, potencialmente as hospitalares, aconselha-se a realizar um TSA antes do tratamento.

277608

Ponto 9 - Mecanismos genéticos de evolução de patógenos bacterianos

Durante a evolução bacteriana, a pressão seletiva foi o mecanismo genético que mais selecionou espécies bacterianas ou não. Atualmente, com o uso indiscriminado de antimicrobianos a pressão seletiva continua agindo e selecionando os microrganismos mais resistentes.

Desta forma as bactérias possuem outras formas alterar seu genoma para se adaptar ao ambiente e as pressões do mesmo. As bactérias podem sofrer mutações que podem ser de base única, ou uma inversão que pode ser mais de uma base, ou sofrer uma deleção de mais de uma base ou até mesmo sofrer uma inversão dos segmentos. Este movimento é importante para o processo de resistência a antimicrobianos e produção de fatores de virulência.

Outra forma das bactérias alterarem seu DNA é através da troca horizontal de genes, onde a célula pode obter DNA livre extracelular, de uma outra bactéria morta, ou ~~ou~~ obter o material genético através de plasmídeos de outra bactéria e até mesmo conseguir ter inversões em seu DNA através da ação de bacteriófagos.