

ARTIGO DE REVISÃO

AGRESSÃO POR MICRORGANISMOS DA MICROBIOTA ENDÓGENA

C.A.I. Souza & E. Scarcelli

Laboratório de Doenças Bacterianas da Reprodução, Centro de Sanidade Animal, Instituto Biológico, CP 12.898, CEP 04010-970, São Paulo, SP, Brasil.

RESUMO

O isolamento de microrganismos da microbiota endógena, geralmente considerados de pouca virulência, de sítios de infecções graves, alerta para o fato de que estes microrganismos não podem ser desprezados automaticamente como contaminantes. Ao contrário, é possível que tenham grande importância clínica, particularmente em indivíduos de alto risco. Falhas ao excluir a microbiota normal durante os procedimentos de colheita da amostra clínica podem levar à necessidade de maior tempo para a análise, ou ao fornecimento de dados inaccurados ao clínico. Por outro lado, o transporte impróprio pode levar à perda da viabilidade de certos microrganismos que não serão isolados, ou o serão em pequeno número, podendo ser considerados relativamente pouco importantes. A importância relativa de diferentes microrganismos numa infecção mista deve ser julgada com base no número relativo de cada cepa isolada, presença em cultura pura, presença na corrente sangüínea ou persistência em repetidas culturas. Outro fator importante é avaliar o impacto dos antimicrobianos sobre a microbiota normal, considerando-se que agentes que produzem menor distúrbio sobre a microbiota indígena são menos suscetíveis de levar a uma superinfecção. Conclui-se assim que a tradicional diferença entre microrganismos patogênicos e não patogênicos, ou entre virulentos e avirulentos, está se tornando cada vez menos significante.

PALAVRAS-CHAVE: Microbiota indígena, agressão endógena, anaeróbios.

ABSTRACT

AGGRESSION CAUSED BY ENDOGENOUS MICROBIOTA. The isolation of microorganisms from the endogenous microbiota, which are generally considered to be little virulent, from sites of serious infections presents a warning that the role of these microorganisms as contaminants should not be discarded immediately. On the contrary, it is possible that they have great clinical importance, mainly in high-risk individuals. Any failure in the exclusion of normal microbiota during sample collection procedures may lead to the need of longer time for analysis, or to the production of inaccurate data to be sent to the practitioner. On the other hand, inadequate transportation may lead to the loss of viability of certain microorganisms, which are either not going to be isolated, or they will be isolated in small number, and, therefore, considered to be less important. The relative importance of different microorganisms in a mixed infection should be judged based on the relative number of each isolated strain, presence in pure culture, presence in the blood stream or persistence in repeated cultures. Another important factor is the evaluation of the impact of antimicrobial compounds on indigenous microbiota, when it is considered that agents which produce a smaller disturbance on normal microbiota are the less susceptible to lead to a superinfection. It may be concluded, thus, that the traditional difference between pathogenic and non-pathogenic or virulent and non-virulent microorganisms is becoming more and more insignificant.

KEY WORDS: Indigenous microbiota, endogenous aggression, anaerobes.

O estado geral de saúde do hospedeiro, contato prévio com determinados microrganismos, histórico médico, e uma variedade de agressões tóxicas, traumáticas, ou iatrogênicas são determinantes importantes da doença infecciosa. Além disso, uma vez dada a oportunidade para a diminuição da resistência do hospedeiro, a microbiota indígena pode estar envolvida no desencadeamento da enfermidade infecciosa (ISENBERG & D'AMATO, 1995).

Microrganismos, ou seja, bactérias, leveduras, fungos, protozoários e vírus, são ubiqüitários no organismo humano e dos animais. Desde o nascimento, estes convivem com a microbiota da biosfera composta por inumeráveis microrganismos representados por tipos, variedades, cepas, espécies, gêneros, etc. Muitas áreas estéreis e grandemente povoadas são encontradas no organismo, assim como, áreas que são pouco povoadas ou que abrigam uma microbiota

temporária. Estes habitats temporários incluem a laringe, traquéia, brônquios, sinus nasais, esôfago, estômago, porção superior do intestino delgado, do trato urinário superior (incluindo a uretra posterior) e as áreas distais correspondentes aos órgãos genitais masculinos e femininos. Conclusões acerca do significado do isolamento de um microrganismo de áreas normalmente estéreis devem ser baseados na obtenção apropriada do espécime clínico, nas condições adequadas de transporte, se este foi examinado prontamente, e do qual seja possível a recuperação de um grande número de microrganismos incomuns para determinado local ou presente ocasionalmente em pequeno número (ISEMBERG & D'AMATO, 1995).

Um outro aspecto da microbiologia não pode ser ignorado. Nem todos os microrganismos presentes em determinado espécime clínico são cultiváveis. Nestas circunstâncias o microbiologista deve examinar preparações coradas do material clínico, especialmente quando o espécime é obtido diretamente de uma lesão patológica de uma área suspeita normalmente povoada por uma microbiota mista. Atualmente, estão sendo empregadas técnicas de biologia molecular e imunoquímica para aplicação direta em espécimes clínicos, aumentando consideravelmente a amplitude de diagnóstico (ISEMBERG & D'AMATO, 1995).

Reconhece-se, hoje, que muitos microrganismos, ordinariamente considerados como não patogênicos, têm a capacidade de produzir infecção e doença. Esta propriedade não depende somente dos fatores de virulência, mas dependerá também dos mecanismos de defesa do hospedeiro. Tem havido, recentemente, um constante aumento na incidência de infecções devidas a tais microrganismos, dos quais muitos fazem parte da microbiota indígena do homem e dos animais. O enfraquecimento do hospedeiro pode ser ocasionado pelo uso de drogas, como as que reduzem a rejeição após transplantes de órgãos (drogas imunossupressoras) ou como observado nos pacientes portadores da síndrome de imunodeficiência adquirida (AIDS), em indivíduos diabéticos e nos casos de câncer (FINEGOLD & WEXLER, 1988; PELCZAR *et al.*, 1997).

Esses fatores predispõem às infecções por microrganismos usualmente considerados como inócuos. Qualquer modificação na microbiota indígena do hospedeiro implica perturbações dessa população, o que, em grande parte, deriva do uso indiscriminado de drogas antimicrobianas, especialmente antibióticos, havendo a substituição da microbiota indígena por organismos resistentes. Estes podem, então, invadir o hospedeiro e causar uma infecção secundária, sobreposta à doença inicial ou primária, ainda sob tratamento. As infecções secundárias são conhecidas como superinfecções (FINEGOLD & WEXLER, 1988).

As várias superfícies do corpo e o tubo

gastrointestinal de humanos e animais podem ser colonizadas por uma massa de até 10^{14} células, constituída pela microbiota indígena, composta por células procarióticas e eucarióticas, sendo que a maioria dos microrganismos reside no trato gastrointestinal. Estes microrganismos influenciam profundamente vários processos fisiológicos do hospedeiro animal. Os habitats são ocupados normalmente por comunidades clímax de microrganismos autóctones (indígenas). A via pela qual determinado organismo utiliza para sua sobrevivência no habitat define seu nicho no ecossistema, como observado no trato gastrointestinal de um recém-nascido, que é colonizado por microrganismos em sucessões características. Os tipos de microrganismos que colonizam um dado habitat e nicho são influenciados por forças exercidas pelo ambiente (sucessão alogênica) e por mudanças no ambiente induzidas pelos próprios colonizadores microbianos (sucessão autogênica) (SAVAGE, 1977).

Durante muito tempo as bactérias anaeróbias que atraíram maior atenção foram aquelas capazes de elaborar toxinas e produzir quadros clínicos característicos como o tétano, gangrena gasosa e botulismo. Embora estes quadros causados por clostrídios toxigênicos sejam bastante familiares para muitos clínicos e cirurgiões, eles são mais raros que as infecções por microrganismos anaeróbios não esporulados que causam, por exemplo, bacteremia, peritonite, empiema e abscesso (UZEDA, 1985).

As bactérias anaeróbias que apresentam potencial patogênico para tecidos e órgãos humanos são componentes normais da microbiota da boca, trato intestinal, vagina e pele. Apenas algumas espécies de clostrídios são capazes de sobreviver fora do organismo humano. Pode-se considerar, portanto, que, com exceção de algumas infecções causadas por clostrídios, a fonte de contaminação é endógena (UZEDA, 1985).

Dentre 40 espécies diferentes de bactérias anaeróbias isoladas de tecidos humanos infectados, apenas três ou quatro não eram encontradas na microbiota intestinal humana (MOORE *et al.*, 1969).

UZEDA *et al.* (1983) estudando a ocorrência de bactérias anaeróbias em 455 espécimes clínicos provenientes de pacientes com diagnóstico ou suspeita clínica de processos infecciosos diversos, internados em hospitais do Rio de Janeiro, no período de 1978 a 1982, observaram a presença de microrganismos anaeróbios em 21,15% dos espécimes cultivados. As espécies mais isoladas foram as do grupo do *Bacteroides fragilis* (7,6% dos espécimes analisados), *Clostridium perfringens* (4,2%) e *Bacteroides melaninogenicus* (3,4%). No teste de sensibilidade aos agentes antimicrobianos realizado com a maioria das bactérias anaeróbias isoladas foi verificada grande frequência de resistência à penicilina G, ampicilina,

amoxicilina, cefalotina, tetraciclina e à eritromicina, principalmente entre as cepas do grupo do *Bacteroides fragilis*. Cloranfenicol, metronidazol, clindamicina e carbenicilina revelaram amplo espectro de atividade sobre microrganismos anaeróbios.

O cólon humano contém uma numerosa e complexa microbiota indígena. Contudo cinco gêneros são responsáveis por aproximadamente 70% das bactérias que podem ser cultivadas pelas técnicas usuais, sendo as bactérias anaeróbias encontradas em 80% das infecções intra-abdominais (SALYERS, 1984).

RONCHETTO *et al.* (1998), estudando a composição da microbiota isolada de casos de apendicite, observaram que as bactérias aeróbias mais frequentemente isoladas eram *Escherichia coli* (64 cepas) e *Streptococcus intermedius* (22 cepas), enquanto as anaeróbias eram representadas principalmente por *B. fragilis* (47 cepas) e *B. thetaiotamicron* (11 cepas). Os autores também observaram que as cepas isoladas de *B. fragilis* eram resistentes aos beta-lactâmicos, mesmo quando adicionado inibidor da beta-lactamase. Metronidazole, clindamicina e imipenem foram as drogas que apresentaram melhor atividade "in vitro".

Entre os anaeróbios, as espécies de *Bacteroides*, *Fusobacterium*, *Peptostreptococcus* e *Clostridium* são, geralmente, consideradas como os patógenos mais importantes. Entre as espécies de *Bacteroides*, o grupo *Bacteroides fragilis* é claramente destacado, tanto do ponto de vista da frequência de isolamento em infecções, quanto por sua resistência a muitos agentes antimicrobianos (FINEGOLD & WEXLER, 1988).

Dentre os bastonetes Gram-positivos não esporulados, espécies de *Bifidobacterium*, *Eubacterium* e *Lactobacillus* são geralmente consideradas como pouco virulentas. Estes organismos apresentam-se especialmente prevalentes em infecções associadas a fatores predisponentes como cirurgias, imunodeficiências, doenças debilitantes como diabetes e câncer e presença de corpos estranhos (BROOK & FRAZIER, 1993).

Espécies do gênero *Bifidobacterium* são encontradas como parte da microbiota da boca, trato gastrointestinal e trato genital feminino. Embora algumas infecções por estes organismos em humanos sejam relatadas, como abscessos e peritonites, pouco se conhece sobre seu potencial patogênico (BROOK & FRAZIER, 1993).

Espécies do gênero *Eubacterium* são geralmente reconhecidas como parte da microbiota da boca e intestino e têm sido implicadas na etiologia da doença periodontal crônica e em infecções associadas a dispositivos intra-uterinos. Têm sido isoladas também de pacientes com bacteremia associada a câncer e de infecções ginecológicas em mulheres (BROOK & FRAZIER, 1993).

Espécies de *Lactobacillus* são habitantes da cavidade oral, vaginal e trato gastrointestinal, tendo sido

implicados diversas infecções profundas graves, amnionites e bacteremia (BROOK & FRAZIER, 1993).

Bastonetes Gram-negativos são os anaeróbios mais comumente encontrados nas infecções clínicas. Os gêneros de importância incluem *Bacteroides*, *Prevotella*, *Porphyromonas*, *Fusobacterium*, e em menor grau *Bilophila*, *Actinobacillus*, *Capnocytophaga* e *Leptotrichia* (FINEGOLD, 1995).

O gênero *Bacteroides* é um dos cinco gêneros numericamente predominantes e contabilizam aproximadamente 30% de todos os isolados das fezes. As espécies mais numerosas de *Bacteroides* do cólon são *B. vulgatus*, *B. distasonis* e *B. thetaiotamicron* (10^{10} por grama do peso seco de fezes). Outras espécies, tais como *B. fragilis*, *B. ovatus*, *B. eggerthii* e *B. uniformis* são menos numerosas mas também estão presentes em altas concentrações (10^9 por grama do peso seco de fezes). *Bacteroides* spp. indubitavelmente desempenham importante papel no ecossistema do cólon. Além disso, alguns *Bacteroides* são patógenos oportunistas e resistentes a muitos antibióticos o que dificulta o tratamento das infecções. Menos frequentemente outros *Bacteroides* como *B. distasonis*, *B. thetaiotamicron* e *B. ovatus* podem causar uma variedade de infecções, incluindo bacteremia, abscessos no cérebro, pulmão e na cavidade abdominal (SALYERS, 1984; WOLTMANN *et al.*, 1999).

As bactérias pertencentes à espécie *Bacteroides fragilis* são bastonetes gram-negativos, não esporulados, anaeróbios estritos encontrados no trato intestinal do homem e dos animais. Esta bactérias são reconhecidas como importante causa de abscessos e outras infecções extra-intestinais em vários tecidos, porém não são classificadas como patógenos entéricos, sendo reconhecidos como a causa mais comum (68%) dos abscessos intra-abdominais. No entanto, esta espécie representa apenas 1 a 2% da microbiota do cólon humano (LYLE *et al.*, 1987; CHUNG *et al.*, 1997; WOLTMANN *et al.*, 1999).

As razões para seu grande potencial patogênico, comparadas às outras espécies têm sido objeto de muitas pesquisas e controvérsias. Os mecanismos de patogenicidade ainda não estão totalmente elucidados, sendo somente recentemente mais compreendidos, especialmente o papel da cápsula como importante determinante de virulência, principalmente na formação de abscessos (POXTON *et al.*, 1997), onde os polissacarídeos da cápsula são incriminados na indução de formação de abscessos aumentando a resistência à fagocitose, lise bacteriana e ao ataque por bacteriófagos. Os principais componentes do material capsular purificado são L-fucose, D-galactose, DL-quinovosamine, D-glicosamina e ácido galacturônico (SALYERS, 1984; WOLTMANN *et al.*, 1999; FINEGOLD *et al.*, 1972).

A maioria das cepas isoladas de *B. fragilis* não são enterotoxigênicas, mas tem sido demonstrado que algumas cepas isoladas de animais como ovinos, bovinos, suínos e potros com diarreia elaboram uma enterotoxina, que é liberada no meio durante o crescimento "in vitro", e cuja atividade foi detectada pelo teste da alça ligada de cordeiro. Estes mesmos autores também demonstraram que *B. fragilis* enterotoxigênico pôde ser isolado de humanos com quadros de diarreia e que estas cepas mostraram-se igualmente virulentas em testes empregando-se coelhos adultos como modelo (MYERS *et al.*, 1987). Além disso, foi detectado o gene responsável pela produção de enterotoxina, através da técnica de PCR de isolados de pacientes com diarreia (CHUNG *et al.*, 1997).

A endotoxicidade dos lipopolissacarídeos (LPS) da parede do *B. fragilis* é menor que a observada nos LPS de enteropatógenos clássicos, mas, no entanto, contribuem significativamente para sua virulência. Os LPS do *Bacteroides fragilis* apresentam diferenças entre seus constituintes e os de outras bactérias gram-negativas. Os LPS do *Bacteroides* não apresentam o ácido 3-aceto-2-deoxioctanóico e a composição e quantidade de seus ácidos graxos são diferentes de outras bactérias gram-negativas (SALYERS, 1984; WOLTMANN *et al.*, 1999).

Outro fator de virulência recentemente demonstrado é a produção de bacteriocina (fragilina) parcialmente purificada e caracterizada a partir de uma cepa isolada do primata *Callithrix penicillata*. A proteína era inativada pelas enzimas proteinase K, pronase, tripsina e protease tipo VII, apresentava duas frações ativas (36 e 150 Kda), exibia iso e hetero-antagonismo, e era estável entre pH 3 e 10 e a 60°C por 24 horas (FARIAS *et al.*, 1994).

O gênero *Prevotella* é composto principalmente por espécies sacarolíticas pigmentadas e não pigmentadas, antes classificadas como *Bacteroides*. As espécies pigmentadas de *Prevotella* são encontradas predominantemente na microbiota oral e vaginal de indivíduos saudáveis, sendo isolada de infecções mistas nestes sítios e também em outros sendo relatado que casos de infecção intra-abdominal são mais frequentemente causados por *P. intermedia*, enquanto que em casos de bacteremia apenas *P. nigrescens* foi isolada (JOUSIMIES-SOMER, 1995; FINEGOLD & JOUSIMIES-SOMER, 1997).

O gênero *Porphyromonas* inclui espécies assacarolíticas de origem humana e animal, encontradas principalmente como parte da microbiota oral, sendo associadas à doença periodontal em humanos, cães e gatos, e a feridas causadas por mordeduras de animais. Algumas espécies são encontradas no cólon e vagina humanos e no rúmen de bovinos. É relatada a ocorrência de infecções extra-orais por espécies do gênero *Porphyromonas*, como apendicites com ou sem peritonite, abscessos e infecções de tecidos moles

(JOUSIMIES-SOMER, 1995; FINEGOLD & JOUSIMIES-SOMER, 1997; NORRIS & LOVE, 1999).

Espécies do gênero *Fusobacterium* são consideradas como parte da microbiota indígena no trato respiratório, genital e gastrointestinal. *Fusobacterium nucleatum* é a espécie mais comumente encontrada nas infecções clínicas em humanos, estando entre as principais espécies demonstradas em sítios subgingivais de pacientes com doença periodontal (FINEGOLD & JOUSIMIES-SOMER, 1997).

Nos animais, *Fusobacterium necrophorum* é um importante patógeno dentre os bastonetes anaeróbios não esporulados, sendo que, além de estar presente como causa primária de doenças como o "foot rot", rumenites e necrobacilose hepática, pode complicar as lesões causadas por doenças que afetam as mucosas, como a doença das mucosas (VENTER & AMSTEL, 1994).

O "foot rot", ou podridão dos cascos, é uma doença de grande importância econômica que acomete principalmente ovinos, sendo causada pela ação sinérgica de *Dichelobacter (Bacteroides) nodosus* e *Fusobacterium necrophorum*. Outros microrganismos são eventualmente isolados, como *Actinomyces pyogenes* e *Spirocheta pernota*, porém não há associação com um papel primário na infecção (VENTER & AMSTEL, 1994).

Dichelobacter nodosus é um parasita obrigatório da pele dos pés de ovinos, caprinos e bovinos. Muitos animais são portadores assintomáticos de *D. nodosus*, podendo desenvolver lesões se as condições tornarem-se favoráveis. *Fusobacterium necrophorum* é parte da microbiota indígena do trato intestinal de ruminantes, e assim pode ocorrer no ambiente pela contaminação fecal. No solo, sob condições de umidade e temperatura adequadas, pode sobreviver por meses (VENTER & AMSTEL, 1994).

Os fatores que predispoem ao desenvolvimento das lesões são a umidade e contaminação do solo e lesões na pele da região interdigital, sendo que o "foot rot" inicia-se como uma lesão interdigital que progride para os cascos. A infecção da pele lesada por *F. necrophorum* é crítica para o início da destruição tecidual. *D. nodosus* agrava a infecção, produzindo fatores de crescimento que permitem que *F. necrophorum* multiplique-se nas regiões mais profundas da ferida. *D. nodosus* adere à matriz epidérmica dos cascos através de pili e produz proteases que digerem os cascos, facilitando a invasão do tecido por outras bactérias. Estas, por sua vez, auxiliam na criação de um ambiente anaeróbico que permite o crescimento de *F. necrophorum* e *D. nodosus* (VENTER & AMSTEL, 1994).

Há, em bovinos, uma forte associação entre rumenite e necrobacilose hepática. Em muitos casos *F. necrophorum* pode ser isolado em cultura pura destas lesões, mas é mais freqüente a infecção mista,

mais comumente em associação com *Actinomyces pyogenes*. A doença é mais freqüente em criações intensivas, tendo importância econômica, particularmente pela condenação dos fígados afetados no abate (VENTER & AMSTEL, 1994).

F. necrophorum faz parte da microbiota do trato alimentar, particularmente do rúmen, porém é incapaz de penetrar a mucosa normal. A desvitalização do tecido é essencial para que ocorra a invasão. O principal fator predisponente para o desenvolvimento da doença é a troca brusca de alimentação baseada em forrageiras para uma alimentação com baixo teor de fibras e com altos níveis de carboidratos solúveis. A microbiota do rúmen, estando adaptada para a digestão de celulose e hemicelulose, conterá bactérias que metabolizam o ácido lático em pequeno número. O aporte repentino de grande quantidade de carboidratos levará a uma diminuição da produção de saliva e de sua capacidade tamponante. A quantidade de ácido lático formada com o metabolismo dos carboidratos excederá a quantidade que as bactérias presentes será capaz de metabolizar, o que resultará em acúmulo de lactato e diminuição do pH rumenal. Este declínio irá suprimir muitas bactérias da microbiota do rúmen, inclusive aquelas responsáveis pela remoção do lactato. O baixo pH, porém, não tem nenhum efeito sobre *F. necrophorum*. A acidose, se não fatal, resultará em necrose do epitélio e em rumenite. As áreas lesadas podem ser invadidas por *F. necrophorum* que produz leucocidinas que aumentam a severidade das lesões. Uma vez na parede rumenal pode ocorrer a disseminação de *F. necrophorum* para o fígado, onde ocorrerá a formação de áreas necróticas como resultado da ação de metabólitos do microrganismo e das endotoxinas produzidas no rúmen durante a acidose. Lesões traumáticas também podem atuar como portas de entrada para o *F. necrophorum* (VENTER & AMSTEL, 1994).

Organismos dos gêneros *Capnocytophaga* e *Leptotrichia* têm sido isolados de casos de bacteremia em pacientes debilitados, porém seu mecanismo de patogenicidade é desconhecido. *Bilophila wadsworthia* tem sido encontrado freqüentemente em casos de apendicite e suas implicações, e de vários outros sítios em pacientes imunodeprimidos (FINEGOLD & JOUSIMIES-SOMER, 1997).

Dentre os bastonetes Gram-positivos esporulados destacam-se os clostrídios. Embora as clostridioses sejam geralmente consideradas como doenças de origem exógena, em alguns casos podem desenvolver-se a partir de organismos da microbiota endógena.

Clostridium difficile é atualmente implicado na etiologia de diarreia associada a antibióticos e de colite pseudomembranosa. O microrganismo está presente como parte da microbiota intestinal indígena em pequeno número de adultos saudáveis. É en-

contrado porém em grande número no trato intestinal de crianças assintomáticas, particularmente neonatos, que não possuem sua microbiota completamente desenvolvida. Toxinas de *C. difficile* também são detectadas no intestino de crianças, que não desenvolvem doença, talvez pela inexistência de receptores específicos para as toxinas (BORRIELO, 1995; BONGAERTS & LYERLY, 1997).

A microbiota do intestino constitui-se numa barreira natural contra patógenos intestinais. A maioria destes patógenos são capazes de vencer este efeito barreira, quando em grande número, o que não parece acontecer com o *C. difficile*. Para que *C. difficile* possa colonizar o intestino e produzir toxinas, a microbiota indígena deve estar alterada, o que ocorre, usualmente, com o uso de antibióticos (BORRIELO, 1995; FREEMAN & WILCOX, 1999).

Foi demonstrado que *C. difficile* é inibido por vários gêneros de bactérias fecais, como *Bacteroides* spp., *Bifidobacterium* spp., *Lactobacillus* spp., *Pseudomonas* spp., *Staphylococcus* spp. e *Streptococcus* spp. Observou-se que os antimicrobianos associados com a proliferação de *C. difficile* também têm atividade contra componentes aeróbios e anaeróbios da microbiota indígena, particularmente *Bacteroides fragilis* (FREEMAN & WILCOX, 1999).

Enquanto a associação entre uso de antimicrobianos e infecção por *C. difficile* está bem estabelecida, o exato mecanismo de sua ocorrência ainda permanece obscuro. Não está claro se os antibióticos simplesmente causam alteração na microbiota, permitindo a proliferação e colonização pelo *C. difficile*, causando doença, ou se a exposição do microrganismo a estes agentes induz uma resposta na forma de produção de toxinas, aumento na aderência ou expressão de outros fatores de virulência (FREEMAN & WILCOX, 1999).

Evidências sugerem que a toxina A é a responsável pela maioria dos sintomas associados à infecção por *C. difficile*, por ser uma toxina lesiva aos tecidos, que atua na mucosa intestinal. O papel da toxina B não está bem determinado, mas é provável que atue sinérgicamente com a toxina A (BONGAERTS & LYERLY, 1997). A TxA é considerada uma enterotoxina, enquanto TxB é considerada uma citotoxina. Ambas causam severos efeitos nos tecidos e células, produzindo inflamação aguda, indução de secreção e acúmulo de fluidos, aumento da permeabilidade da mucosa e causando necrose do epitélio (GUERRANT *et al.*, 1999). Outros fatores de virulência como fimbrias, glicocálice e enzimas hidrolíticas são descritas, mas seu papel na doença não está estabelecido. É possível que estes fatores estejam mais relacionados à capacidade do microrganismo colonizar o intestino, através da maior aderência, evasão dos mecanismos de defesa e lesão tecidual permitindo a colonização e, talvez,

exposição de menor número de receptores para as toxinas (BONGAERTS & LYERLY, 1997).

Clostridium perfringens encontra-se amplamente distribuído na natureza, estando também presente no intestino de humanos e animais, sendo seu número dependente da dieta do hospedeiro. Os diferentes tipos de *Clostridium perfringens* produzem quatro tipos principais de toxinas letais, que são utilizadas para caracterizá-los nos tipos A, B, C, D e E. Outras toxinas são produzidas, sendo também consideradas como fatores de virulência da bactéria. As toxinas, isoladamente ou combinadas, são responsáveis pelas várias síndromes associadas a este grupo de organismos, que são uma conseqüência de seus efeitos locais no trato intestinal ou do efeito sistêmico das toxinas absorvidas (ODENDAAL, 1994).

C. perfringens está associado a diversas síndromes que afetam muitos animais domésticos e o homem, incluindo enterotoxemias e enterite necrótica. Nos animais, particularmente nos ruminantes, as enterotoxemias podem ocorrer na forma de morte súbita, casos agudos e superagudos, associados a mudanças bruscas na alimentação, com um repentino aporte de altos níveis de carboidratos levando a condições favoráveis à multiplicação de *C. perfringens* no intestino delgado e produção de toxinas. Outro fator desencadeante da doença, particularmente em neonatos, é a não inativação da beta toxina pela tripsina, por sua pequena quantidade nos neonatos, ou ainda pela presença, no colostro, de substâncias inibidoras da tripsina (KRIEG *et al.*, 1994; ODENDAAL *et al.*, 1994). É relatada, também, associação entre ocorrência de enterotoxemia e presença de substâncias com atividade anti-tripsina em vegetais, como a batata doce (ALLEN, 1997).

Doenças que causem estase ou obstrução intestinal, traumas incluindo cirurgias, isquemias transientes e choque podem predispor o intestino a um crescimento anormal da microbiota anaeróbia, incluindo os clostrídios, que podem invadir a mucosa e produzir toxinas. Assim, clostrídios podem ser a causa primária ou secundária de enterites necrotizantes (ALLEN, 1997).

O isolamento de microrganismos da microbiota endógena, geralmente considerados de pouca virulência, de sítios de infecções graves, alerta para o fato de que estes microrganismos não podem ser desprezados automaticamente como contaminantes. Ao contrário, é possível que tenham grande importância clínica, particularmente em pacientes de alto risco.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALLEN, S.D. Pig-Bel & other necrotizing disorders of the gut involving *Clostridium perfringens*. In: CONNOR, D.H. & CHANDLER, F.W. Pathology of infectious diseases., Connecticut: Appleton & Lance, Stanford, 1997. v.1.
- BONGAERTS, G.P.A. & LYERLY, D.M. Role of bacterial metabolism and physiology in the pathogenesis of *Clostridium difficile* disease. *Microb. Pathog.*, v.22, p.253-256, 1997.
- BROOK, I. & FRAZIER, E.H. Significant recovery of nonsporulating anaerobic rods from clinical specimens. *Clin. Infect. Dis.*, v.16, p.476-480, 1993.
- CHUNG, G.T.; SEONG, W.K.; SHIN, K.S.; LEE, K.W.; OH, H.B. The detection of enterotoxin gene from *Bacteroides fragilis* isolates in Korea by polymerase chain reaction. *J. Kor. Soc. Microbiol.*, v.32, n.5, p.521-528, 1997.
- EMERY, D.L. Immunity against anaerobic bacterial infections. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, v.15, p.1-57, 1987.
- FARIAS, L.M.; TOTOLA, A.H.; MIRANDA, C.M.S.; CARVALHO, M.A.R.; DAMASCENO, C.A.V.; TAVARES, C.A.P.; CISALPINO, E.O.; VIEIRA, E.C. Extraction, partial purification and characterization of a bacteriocin (fragilicin) produced by a strain of *Bacteroides fragilis* isolated from *Callithrix penicillata*. *Res. Microbiol.*, v.145, p.9-16, 1994.
- FINEGOLD, S.M. & WEXLER, H.M. Therapeutic implications of bacteriologic findings in mixed aerobic-anaerobic infections. *Antimicrob. Agents Chemother.*, v.32, n.5, p.611-616, 1988.
- FINEGOLD, S.M.; ROSENBLATT, J.E.; SUTTER, V.L.; ATTEBERY, H.R. Scope monograph on anaerobic infections. Michigan: Upjohn Company, 1972. 72p.
- FINEGOLD, S.M. Overview of clinically important anaerobes. *Clin. Infect. Dis.*, v.20, p.S205-207, 1995. Supplementum, 2.
- FINEGOLD, S.M. & JOUSIMIER-SOMER, H. Recently described clinically important anaerobic bacteria: medical aspects. *Clin. Infect. Dis.*, v.25, p. S88-93, 1997. Supplementum, 2.
- GUERRANT, R.L.; STEINER, T.S.; LIMA, A.A.M.; BOBAK, D. How intestinal bacteria cause disease. *J. Infect. Dis.*, v.179, p.S331-337, 1999. Supplementum, 2.
- ISENBERG, H.D. & D'AMATO, R. Indigenous and pathogenic microorganisms of humans. In: MURRAY, P.R.; BARON, E.J.; PFALLEN, M.A.; TENOER, F.C.; YOLKEN, R.H. *Manual of clinical microbiology*. Washington, D.C.: ASM Press, 1995, p.5-18.
- JANG, S.S.; BREHER, J.E.; DABACO, L.A.; HIRSH, D.C. Organisms isolated from dogs and cats with anaerobic infections and susceptibility to selected antimicrobial agents. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, v.210, n.11, p.1610-1614, 1997.
- JOUSIMIER-SOMER, H. R. Update on the taxonomy and the clinical and laboratory characteristics of pigmented anaerobic Gram-negative rods. *Clin. Infect. Dis.*, v.20, p.S187-191, 1995. Supplementum, 2.
- KRIEG, N.P.J.; ODENDAAL, M.W.; HUNTER, P. *Clostridium perfringens* enterotoxemia. In: COETZER, J.A.W.; THOMSON, G.R.; TUSTIN, R.C. Infectious diseases of livestock. New York: Oxford University Press, 1994.
- MOORE, W.E.C.; CATO, E.P.; HOLDEMAN, L.V. Anaerobic bacteria of the gastrointestinal flora and their occurrence in clinical infections. *J. Infect. Dis.*, v.119, p.641-649, 1969.
- MYERS, L.L.; SHOOP, D.S.; STACKHOUSE, L.L.; NEWMAN, F.S.; FLAHERTY, R.J.; LETSON, G.W.; SACK, R. B. Isolation of enterotoxigenic *Bacteroides fragilis* from humans

- with diarrhea. *J. Clin. Microbiol.*, v.25, n.12, p.2330-2333, 1987.
- NORRIS, J.M. & LOVE, D.N. Association amongst three feline Porphyromonas species from the gingival margin of cats during periodontal health and disease. *Vet. Microbiol.*, v.65, p.195-207, 1999.
- ODENDAAL, M.W. *Clostridium perfringens* Group. In: COETZER, J.A.W.; THOMSON, G.R.; TUSTIN, R.C. Infectious diseases of livestock. New York: Oxford University Press, 1994.
- PELCZAR, M.J. JR.; CHAN, E.C.S.; KRIEG, N.R. Microbiologia: conceitos e aplicações. 2 ed., São Paulo: MAKRON Books, 1997. v.2, p.22-40.
- QUINN, P.J.; CARTER, M.E.; MARKEY, B.; CARTER, G.R. Clinical veterinary microbiology. London: Mosby International, 1994, p.184-190.
- RONCHETTO, F.; PISTONO, P.G.; CESTONARO, G.; MUSSO, V. Anaerobic infections of the appendix. A bacteriological study. *Gazz. Med. Ital.*, v.157, n.1, p.9-14, 1998.
- SALYERS, A. A. Bacteroides of the human lower intestinal tract. *Annu. Rev. Microbiol.*, v.38, p.293-313, 1984.
- SAVAGE, D.C. Microbial ecology of the gastrointestinal tract. *Annu. Rev. Microbiol.*, v.31, p.107-133, 1977.
- UZEDA, M. DE. Infecções por bactérias aneróbias. *Rev. Bras. Clin. Ter.*, v.15, n.9, p.296-300, 1985.
- UZEDA, M. DE; FERREIRA, M.C.S.; ALMEIDA, A.E.C.C.; OTTO, S.S. Diagnóstico bacteriológico das infecções anaeróbicas. *A Folha Médica*, v.86, p.383-389, 1983. Suplemento, 1.
- VENTER, B.J. & AMSTEL, S.R. Anaerobic, Gram-negative, irregular rods. In: COETZER, J.A.W.; THOMSON, G.R.; TUSTIN, R.C. Infectious diseases of livestock. New York: Oxford University Press, 1994.
- WOLTMANN, A.; GANGLOFF, S.C.; BRUCH, H.Y.P.; RIETSCHEL, E.T.; WERNER, S.; SILVER, J.; GOYERT, S.M. Reduced bacterial dissemination and liver injury in CD14-deficient mice following a chronic abscess-forming peritonitis induced by *Bacteroides fragilis*. *Med. Microbiol. Immunol.*, v.187, p.149-146, 1999.

Recebido para publicação em 30/10/00