



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: 672273

Q Questão: Mecanismos genéticos de evolução
de patógenos bacterianos

R: Os patógenos bacterianos podem
evoluir e se diversificar (~~evoluam~~)
geneticamente a partir da aquisição
horizontal de genes associados a
virulência bacteriana ou através de
eventos de mutação genética que
alterem a função ou características
de genes pre-existent, de forma
a contribuir com a ocorrência
da doença.

Enquanto a (~~se~~) evolução dos
patógenos pela ocorrência de
mutação é mais improvável devido
a natureza (~~aleatória~~) aleatória

do evento, a emergência de patógenos pela aquisição de genes (~~horizontal~~) de virulência pela via horizontal, ou seja, por ~~as~~ bactérias pertencentes a espécies ou gêneros distintos, é o meio mais comum, além de apresentar uma grande diversidade de mecanismos associados a disseminação desses genes.

É importante salientar que os eventos de mutação ou de transferência horizontal de genes (THG) podem ocorrer simultaneamente, ou em sequência, ou ainda diversas vezes, e apenas os eventos bem sucedidos que são perpetuados para a prole são identificados e contribuem com a evolução e diversificação dos patógenos.

Além disso esses eventos só são possíveis devido a propriedade plástica do genoma, que possibilita que alterações ocorram na molécula sem que haja a ruptura da estrutura do DNA.

A seguir descrevo os principais

mecanismos associados a THG.

Transformação: É o processo onde o DNA a ser adquirido está disponível no ambiente e não apresenta proteção, podendo ser ~~(DNA)~~ um fragmento de DNA de uma bactéria recém-lisada.

Esse DNA é ~~(~~transformado~~)~~ internalizado por uma bactéria competente e através do processo de recombinação homóloga ele é inserido no genoma bacteriano.

Diversas espécies bacterianas são naturalmente competentes, ou seja, capazes de reconhecer fragmentos nu de DNA no meio e internalizam esses fragmentos para possibilitar a ocorrência dos ~~eventos~~ eventos de recombinação. Entre essas bactérias podemos destacar o patógeno que foi utilizado como modelo experimental para comprovar os eventos de transformação, que é o Streptococcus pneumoniae.

(Griffith) identificar que havia diferentes ~~(~~linhagens~~)~~

Griffith utilizou linhagem de S. pneumoniae de ~~dois~~ sorotipos diferentes para realizar seu experimento um dos sorotipos era produtor de cápsula e capaz de causar a morte de camundongos ao serem injetados nos animais, o segundo ~~estava~~ ^{era} a uma linhagem não ~~produtora~~ produtora de cápsula incapaz de matar em modelo animal.

O pesquisador cultivou a linhagem letal e após o crescimento fez a cultura, matando a bactéria e injetou esse material em um camundongo, e o animal sobreviveu, uma vez que não havia bactéria viável.

Após isso ele misturou o líquido bacteriano com meio fresco e semeou com a linhagem de S. pneumoniae avirulenta, permitindo o crescimento da bactéria e na sequência utilizou essa cultura para injetar nos camundongos que acabaram morrendo.

Ao realizar exames bacteriológicos do animal morto ele verificou que o animal morto só possuía a linhagem de S. pneumoniae

do prototipo (~~***~~) que não possuía capsula, ou seja, o avirulento, contudo a cepa estava expressando capsula do tipo antigênico da cepa virulenta, demonstrando assim que a linhagem originalmente avirulenta adquiriu a capacidade de expressar a capsula da linhagem virulenta após entrar em contato com o DNA da bactéria morta e lisada pela fervura.

A técnica de transformação é muito utilizada na atualidade na biotecnologia, onde bactérias artificiaismente tornadas competentes são utilizadas como fábricas para produzir produtos específicos de interesse para a humanidade.

~~(Conjugação bacteriana e conjugação)~~

Conjugação bacteriana: É o evento de T&G onde o elemento genético plasmídico é transferido do citoplasma de uma bactéria diretamente para o citoplasma de outra bactéria através de

um ~~forma~~ filamento oco denominado de pilus sexual

O plasmídeo é um elemento de DNA muito importante pois ele pode carrear uma grande quantidade de genes de virulência e resistência, promovendo tanto a emergência de patógenos quanto tornando o tratamento desses patógenos mais difícil e oneroso.

Os plasmídeos podem variar de tamanho de 4 Kb até aproximadamente 300 Kb, o que permite que grande quantidade de informação genética seja transferida (~~uma vez~~) de uma só vez.

Os plasmídeos conjugativos possuem no mínimo 15 Kb (considerando a região de transferência e a presença de genes acessórios) e contém toda a informação necessária para promover sua transferência por conjugação. Plasmídeos menores podem ser transferidos por conjugação se eles possuírem os ~~genes~~ genes mob associados.

a mobilização de plasmídeos.

Além disso os plasmídeos são moléculas de replicação autônomas, sendo assim sua replicação é independente da replicação do cromossomo bacteriano.

O evento da conjugação pode ocorrer entre ~~espécies~~ bactérias pertencentes a espécies diferentes e até mesmo gêneros diferentes. Já foi demonstrado que plasmídeos contendo genes que conferem resistência a antimicrobianos podem ser disseminados por conjugação no ~~ambiente~~ trato intestinal de animais de criação em confinamento e diversos surtos em ambiente hospitalar têm sido associados a disseminação de plasmídeos conjugativos causando múltiplos genes de resistência e não a espécies ou linhagens bacterianas específicas, demonstrando o quanto esse elemento genético é um problema de saúde.

No processo de conjugação o plasmídeo não é perdido da

CF 25FJ
A
cya doadora, uma fita do plasmídeo é copiada, ligada por proteínas ligadoras de fita simples e transferida, em ~~for~~ forma de fita simples linear para a bactéria receptora junto com todas as proteínas e enzimas necessárias para que ocorra a circularização e síntese da fita complementar.

Ao final do processo, ambas bactérias serão portadoras do plasmídeo ~~com~~ funcional e esta apta a transferir o mesmo para outra bactéria.

É interessante ressaltar que a patogenicidade de algumas bactérias é completamente dependente da presença de plasmídeos de virulência, como é o caso de linhagens *Shigella flexner* portadoras do plasmídeo de invasão ou da *Escherichia coli* enteroagregativa portadora do plasmídeo de adesão agregativa.

Além dos plasmídeos outro elemento genético pode ser transferido por conjugação, esse elemento é

denominado elemento conjugativo integrativo (ICE - integrative and conjugative element)

Diferente dos plasmídeos que são elementos extra cromossômicos, os ICEs possuem genes de integrases e transposases que permitem sua integração no cromossomo bacteriano, sendo assim, sua replicação se torna dependente da replicação bacteriana enquanto ~~o~~ ~~bactéria~~ o elemento permanecer integrado.

Especula-se que as ICE podem ter originado as ilhas genômicas uma vez que a ICE melhora caracterizada contém todos os genes da ilha de patogenicidade de Yersinia enterocolitica denominada HPI. Essa ilha de patogenicidade já foi identificada em bactérias pertencentes aos gêneros Klebsiella, Escherichia, Enterobacter, entre outros, e a ICE ~~que~~ ~~contendo~~ a HPI era capaz de excisar do genoma da ~~bactéria~~ ~~bactéria~~ bactéria doadora, ser transferido para a bactéria receptora e ~~após~~ ~~após~~ (após ~~isso~~ ~~isso~~) a síntese da fita complementar.

se inserir no genoma da célula
(super) receptora

É interessante notar que diferente do plasmídeo o ICE pode ser perdido durante o processo de transferência. Além disso, ele pode permanecer como uma molécula autônoma similar ao plasmídeo após sua excisão do cromossomo, o que torna difícil determinar sua real relação com os plasmídeos, ilhas genômicas e outros elementos móveis.

Transdução: É a transferência de DNA bacteriano entre as bactérias por meio de bacteriófagos.

Nesse caso o DNA é transferido de uma bactéria para outra protegido pelo capsídeo e pode ser de dois tipos, generalizada ou especializada.

A transdução generalizada ocorre quando um fragmento de DNA bacteriano é empacotado acidentalmente por um capsídeo no final do ciclo



lítico. A final da lise da parede bacteriana usa bacteriófago que contém apenas DNA bacteriano em seu interior infecta outra bactéria e injeta o DNA diretamente no citoplasma. Esse DNA pode então passar pelo processo de recombinação e se ~~incorpora~~ inserido no cromossomo bacteriano

Já na transdução ~~especializada~~ especializada há um erro no processo de excisão do profago do cromossomo bacteriano e parte do DNA bacteriano, imediatamente adjacente ao ponto de inserção do fago é excisado junto com o DNA do fago. Sendo assim, todos os novos bacteriófagos que serão montados possuem essa região adicional e irão levar essa região para a próxima bactéria que infectarão.

Vale notar que caso o fago tenha perdido parte essencial de seu genoma no processo, mesmo que ocorra sua ~~em~~ inserção no ~~nos~~ cromossomo de outra bactéria ele não ~~contém~~ será capaz que iniciar um novo ciclo lítico.



e caso seu genoma esteja inteiro
~~(não)~~ um novo erro no processo
 de ~~(transcrição)~~ excisão não é obrigatório

Conversão fágica: A conversão fágica é um importante mecanismo de evolução de patógenos, mas é pouco explorado ou comentado.

A conversão fágica ocorre quando um gene de um bacteriófago "temperado" ou lisogênico é expresso pela bactéria e atua como um fator de virulência.

Esse é o caso de ~~(deixar)~~ diversas toxinas de importância clínica que são expressas por algumas bactérias.

A toxina responsável pela ocorrência da síndrome da pele escaldada causada pelo Staphylococcus aureus é um ~~(expl)~~ exemplo.

Outros ~~exemplos~~ exemplos são a toxina de Shiga expressa por Escherichia coli e a toxina diftérica expressa pelo ~~Corynebacterium diphtheriae~~ ~~Corynebacterium diphtheriae~~ Corynebacterium diphtheriae.

Por fim, alguns elementos como transposons, integons e as ilhas genômicas contribuem



com a diversificação e evolução de patógenos bacterianos mas não há uma compreensão adequada de como esses elementos são transferidos entre as bactérias.

Acredita-se que eles são transferidos por alguma das vias mencionadas (conjugação, transformação ou transdução) mas sua manutenção nas bactérias é dependente da integração desses elementos no cromossoma (para todos) ou em plasmídeos (para integrons e transposons).

3) (Questão: Métodos fenotípicos e moleculares aplicados a identificação, diagnósticos e epidemiologia de bactérias patogênicas)

R: As primeiras formas de identificação e caracterização das bactérias foram os métodos fenotípicos baseados no metabolismo bacteriano onde provas bioquímicas são realizadas e utilizadas para definir as espécies por meio do padrão bioquímico de cada isolado bacteriano.

Esses métodos foram melhorados e miniaturizados sendo utiliza-

89 5540

ele é usado para a identificação
presuntiva de bactérias de importan-
cia médica, contudo esse método
é dependente do cultivo e isolamen-
to do patógeno.

O que torna sua realização
relativa inviável para alguns
patógenos que são de crescimento
lento, ou fastidiosos, ou não
cultiváveis, sendo assim outros
métodos se fazem necessários para
a identificação e diagnóstico.

A microscopia é um método eficiente
para identificação e diagnóstico
a partir de material clínico, principal-
mente dos materiais provenientes
de sites estéreis. Ela pode ser
empregada para diagnóstico de
meningite, por exemplo, onde o
~~líquido cefalorraquidiano~~
~~líquido cefalorraquidiano~~
líquido cefalorraquidiano
pode ser submetida a coloração
de gram e auxiliar de forma
presuntiva e rápida da
sugestão do patógeno bacteriano
ou ainda para o diagnóstico
de espiroquetas com a utilização
de imunofluorescência, ~~ou~~
~~ou~~ ou identificação de



micobactérias pela coloração
alcaloacidorrizante para auxiliar
no diagnóstico da tuberculose.

Além da microscopia, os métodos
sorológicos também são ~~independentes~~
~~de~~ independentes de cultivo,
mas há algumas restrições em
seu uso.

Através dos métodos sorológicos é
possível detectar a presença de
anticorpos específicos presentes no
soro dos pacientes, assim é
possível confirmar que o paciente
entrou em contato com o patógeno
e produziu uma resposta imune
específica com a produção de
anticorpos. Contudo, não é possível
determinar quando o paciente
entrou em contato com o ~~paciente~~
agente infeccioso e o resultado
para esse teste só é positivo
após o desenvolvimento da
resposta imune específica.

Os métodos moleculares dependentes
de ~~ácidos~~ ácidos nucleicos tem sido
amplamente empregados no diagnós-
tico e identificação de diversos patógenos
e para fins epidemiológicos na

identificação de surtos e prevalência de ~~patógenos~~ clones patogênicos.

Esses métodos podem ser dependentes da amplificação de ácidos (Nucleos) nucleicos ou não, e podem ser dependentes de cultivo ou não.

Entre os métodos mais utilizados podemos citar as técnicas baseadas na reação em cadeia da polimerase (PCR) que pode ser utilizada para amplificar genes específicos ligados a espécie, ~~genes de resistência~~ genes de resistência ou virulência ou ainda amplificar padrão aleatório que pode servir para comparar isolados pertencentes a mesma espécie para avaliar sua relação clonal como no caso do uso da técnica RAPD ou ERIC-PCR.

As sondas de DNA foram muito utilizadas para identificação de tipos patogênicos e avaliação da disseminação de plasmídeos entre bactérias de espécies distintas ou da mesma espécie.

Enquanto a técnica de PCR consiste na amplificação ou não

⑨

de um gene ou segmento de DNA ~~na~~ a partir da amostra a sonda utiliza um DNA marcado para identificar se esse DNA está presente na bactéria ou material de interesse (blot de ácido nucleico), sendo assim necessário o isolamento e cultivo da bactéria.

Na atualizado muitas técnicas baseadas em sequenciamento tem sido utilizadas tanto para diagnóstico quanto para rastreamento de surtos e clones de relevância clínica, o sequenciamento pode ser tanto feito baseado em segmentos específicos de DNA como no caso de MLST ou ~~16S~~ 16S, ou ainda no sequenciamento do genoma total das bactérias.

Por fim o MALDI-TOF é uma técnica baseada em espectrofotometria de massa que tem tido grande apelo no uso para diagnóstico, pois ela tem sido precisa para identificar diversos patógenos e nos últimos anos a técnica vem

sendo aprimorado para que a
pessoa seja realizada diretamente
a partir de amostras clínicas

Questão Bactérias Gram-negativas
de importância clínica, caracterizadas
fenotípica e molecular, patogenicidade
e controle

R: Nos últimos anos a Organização
Mundial de Saúde (OMS) tem
chamado a atenção para as
bactérias que têm sido
mais onerosas ao sistema de
saúde por não serem facilmente
tratadas devido a ocorrência de
resistência a múltiplos antimicrobia-
nos. Nesse quesito se destacam
as bactérias Gram-negativas pertencentes
à ordem Enterobacterales e as dos
gêneros Pseudomonas e Acinetobacter

Enquanto as bactérias da ordem
Enterobacterales são fermentadoras
anaeróbicas facultativas (*Escherichia*,
Klebsiella, *Yersinia*, *Morganella*, *Proteus*,
Salmonella, *Shigella*, *Enterobacter*,
Brevibacterium, *Mafnia*, *Kluyvera*, entre outros

gêneros) os gêneros *Pseudomonas* e *Acinetobacter* são bacterias não fermentadoras.

Esses grupos de bacterias são frequentemente associadas a ~~infecções~~ ~~associação~~ ~~assintomática~~ infecções relacionadas a assistência a saúde (IRAS) e muitas delas são vistas como oportunistas por ~~causarem~~ frequentemente causarem infecções em indivíduos imunologicamente comprometidos.

Entre as bacterias da Ordem Enterobacteriales podemos destacar a espécie *Escherichia coli*.

As bacterias dessa espécie ~~estão~~ são em sua maioria membros da microbiota intestinal, mas uma pequena parcela é patogênica e pode causar diarreias ou infecções extra intestinais, nas quais se destacam as infecções do trato urinário e infecções de corrente sanguínea.

A identificação de *E. coli* é relativamente simples e pode ser feita utilizando MacConkey, LED ou EMS.

ou como agar seguido do identificação
bioquímica ou no caso de doenças
graves como as infecções do corrente
sanguínea utilizar MALDI-TOF ou
Phoenix ou Vitek a partir da
cultura de CB do sangue

Mas a determinação da espécie
é incapaz de identificar a diversi-
dade de mecanismos de virulência
e que essa bactéria pode possuir
as linhagens patógenicas
podem ser divididas em dois
patótipos diferentes ~~em~~ cada
um contendo fatores de virulência
distintos

O patótipo EPEC causa diarreia
devido a presença de ilha de
patogenicidade em seu cromossomo.
Essa ilha codifica ~~o~~ ~~em~~ um
sistema de secreção do tipo III que
injeta diversas proteínas efectoras
que vão promover o remodelamento
do citoesqueleto do enterócito ~~o~~
culminando na diarreia

O patótipo EIEC causa disenteria
devido a presença de um plasmídeo
de invasão que permite que as
E. coli ~~em~~ invadam o enterócito
recrutem filamentos de actina para

um de seus polos e se disseminam
~~para~~ pela mucosa causando
hemorragia e diarreia.

O patótipo ~~ETEC~~ STEC tem como
principal fator de virulência a
produção da toxina de Shiga,
grandes quantidades dessa toxina
podem promover a ocorrência da
Síndrome hemolítica urêmica.

Os outros patótipos ~~patógenos~~
diarreioogênicos são EPEC que
produz biofilme e ~~causa~~ e
pode desencadear diarreia persistente,
a ETEC que produz toxinas LT ou ST
que promovem desequilíbrio eletrolítico
no intestino e a DAEC cujo meca-
nismo de virulência não é
conhecido.

~~Entre os patótipos que causam~~
~~diarreia~~

Esses patótipos só podem ser
definidos através da pesquisa
específica dos genes de virulência.

São as E. coli que causam as
infecções extra-intestinais, chamadas
de ExPEC, possuem uma grande
diversidade genética, contando
com mais de 50 fatores de
virulência que podem ser associados

EF35FQ

a ocorrência da infecção. Esses fatores podem ser agrupados em ~~apoptose~~ sistemas de aquisição de ferro, toxinas, adesinas e proteínas

As EPEC podem causar infecção em qualquer sítio extra intestinal sendo as infecções do trato urinário a mais frequente seguida das ~~infecções~~ infecções sistêmicas.

A patogênese envolvida da infecção do trato urinário mostra como a EPEC altera a expressão de fatores de virulência para se estabelecer no sítio e causar a infecção.

É interessante notar que as adesinas e maioria dos fatores de virulência de EPEC tem papel redundante, ou seja desempenham ~~extato~~ exatamente o mesmo papel no mesmo sítio podendo ser intercambiadas ao longo da infecção a fim de evitar ação direta do sistema imune.

10

conjugate
transconjugate
transconjugate

conjugate
conjugate