

# *Interferência Bacteriana na Nasofaringe*

*Tania Sih*

Em 2005, a Academia Americana de Microbiologia definiu "probióticos" como sendo microorganismos vivos que, quando administrados em quantidades adequadas, conferem um benefício "à saúde do hospedeiro". Teoricamente, microorganismos benéficos podem ser usados para combater microorganismos patogênicos e a doença que provocam. Portanto, é possível que sejam usados para prevenir doenças infecciosas e disfunções imunológicas. Este conceito é conhecido há mais de 100 anos e tem sido usado para alterar a microbiota intestinal. Além disso, os microorganismos probióticos podem ter o potencial de interagir tanto com o sistema imunológico inato como com o adquirido, com possíveis benefícios para o hospedeiro. A definição de interferência bacteriana, entretanto, não está restrita ao conceito de que uma espécie bacteriana pode interferir com a habilidade de outra para crescer, colonizar e infectar o hospedeiro. Há pelo menos três outros métodos possíveis que podem ser considerados como mecanismos capazes de produzir interferência bacteriana.

O conceito básico é que a homeostase da microflora da nasofaringe irá manter a saúde. Quando perturbada por diversas influências, esta microflora será alterada e pode levar a doenças infecciosas do trato respiratório superior, incluindo a orelha média e as cavidades paranasais. Os **vários elementos que podem alterar a microflora da nasofaringe** incluem: 1) **infecção viral**; 2) **alergia**; 3) **uso excessivo e inadequado de antibióticos**; 4) **falta de IgA secretora específica**; 5) **fatores genéticos relacionados à síntese de IgA secretora específica e subclasses de IgG**, e, finalmente; 6) **o uso de probióticos para alterar a microflora patológica da nasofaringe**.

Há pelo menos **quatro métodos clínicos experimentais para controlar a flora normal da nasofaringe**: 1) **interação bacteriana - mucina na nasofaringe**; 2) **interferência bacteriana, em que um microorganismo comensal pode inibir a colonização e replicação de bactérias patogênicas (conceito de probiótico)**; 3) **imunidade mucosa secretora (IgA)**; e, 4) **competição por receptor análogo** [por exemplo, suco de oxicoco (*cranberry*) interferindo com a ligação de bactérias à superfície mucosa ao se ligar à manose sobre a superfície bacteriana e impedir que a *Escherichia coli* se ligue à mucosa da bexiga]. A seguir, uma rápida descrição de cada um desses itens, com as respectivas referências.

O **sistema mucociliar** do trato respiratório superior e inferior é uma via crítica, inespecífica, para a eliminação de bactérias e outras substâncias particuladas. A **interação entre as bactérias e a mucina purificada** do trato respiratório superior e inferior tem sido um importante objeto de pesquisas nos últimos 10

anos. Foi demonstrado anteriormente que o *Haemophilus influenzae* não tipável e a *Moraxella catarrhalis* aderem à mucina purificada da nasofaringe e à mucina da orelha média do homem por um número muito limitado de proteínas da membrana externa. Não há estudos anteriores sobre a interação entre o *Streptococcus pneumoniae* e a mucina purificada. Esta informação seria extremamente importante para a identificação dos mecanismos específicos de prevenção de colonização deste importante patógeno na nasofaringe.

Usando uma técnica de sobreposição de mucinas purificadas radiomarcadas dos tratos respiratórios superior e inferior em um ensaio de fase sólida, com quatro patógenos predominantes destes tratos respiratórios, verificou-se uma acentuada heterogeneidade da interação bactéria-mucina. Bernstein e Reddy estudaram estas interações no desenvolvimento de otite média, rinosinusite e infecções do trato respiratório inferior<sup>1</sup>. Neste estudo, a *Moraxella catarrhalis* estava ligada à mucina purificada da nasofaringe com uma única proteína de membrana externa com aproximadamente 57 kilodaltons. A ligação do *Streptococcus pneumoniae* à mucina da nasofaringe humana e à mucina da orelha média humana estava limitada a duas proteínas de menor peso molecular, 17,5 e 20 kilodaltons. Foi interessante observar que o *Streptococcus pneumoniae* não se ligou à mucina traqueobrônquica humana. Finalmente, com base na mobilidade eletroforética e imunoblot, o *Haemophilus influenzae* não tipável estava ligado à mucina purificada da nasofaringe humana por proteínas da membrana externa identificadas como proteína P2 e P5. A identificação inequívoca das membranas externas P2 e P5 foi feita com o uso de proteínas da membrana externa de cepas bacterianas e seus respectivos mutantes isogênicos.

Resumindo, a ligação de microorganismos a mucinas é um pré-requisito para o clearance fisiológico das bactérias inspiradas. Esta interação pode ser também o primeiro passo para a colonização bacteriana, se a atividade mucociliar na nasofaringe não é adequada.

O relato de Bernstein e Reddy de 2000 sugere que a interação bactéria-mucina apresenta uma gama ampla de estruturas. Ainda assim, o mosaico das cadeias de carboidratos contidas nas mucinas das vias aéreas pode ser considerado como tendo um importante papel no aprisionamento de microorganismos inspirados antes que alcancem a superfície das células epiteliais das vias aéreas, e por isso tem um importante papel na defesa da mucosa respiratória<sup>2</sup>.

### **O segundo tipo de interferência bacteriana é o conceito de probiótico.**

As bactérias comensais podem ser instiladas na nasofaringe e inibir a colonização e replicação de potenciais patógenos. O papel de *Streptococcus viridans* (*Streptococcus oralis*) na prevenção da colonização por *Haemophilus influenzae* não tipável e *Moraxella catarrhalis* foi pesquisado em cultura de tecido adenoideano<sup>3</sup>. Foram usadas as adenóides de 100 pacientes que iram ser submetidos a adenoidectomia por hipertrofia das mesmas ou por otite média recorrente. O *Streptococcus oralis* inibiu de maneira uniforme a colonização por *Haemophilus influenzae* não tipável ou pela *Moraxella catarrhalis*, durante um período de 24 horas de incubação em cultura de tecido adenoideano. Os resultados indicaram que algumas cepas de *Streptococcus oralis* podem inibir a colonização por pató-

genos potenciais na nasofaringe. Por isto, é possível que a colonização por cepas inibitórias de *Streptococcus viridans* ou *oralis* possam ser usadas na nasofaringe como uma abordagem relativamente segura e de baixo custo para prevenir a otite média recorrente em algumas crianças.

O mesmo grupo demonstrou a interferência bacteriana do *Streptococcus pneumoniae*, tanto sensível, como resistente à penicilina, pelo *Streptococcus oralis* em uma cultura de tecido adenoideno. Os resultados indicaram que algumas cepas de *Streptococcus oralis* podem inibir o crescimento de patógenos com potencial de causar doenças mais graves, na nasofaringe. Por isto, é possível que a colonização de cepas inibitórias de *Streptococcus viridans* possa ser usada como uma abordagem relativamente segura e de baixo custo na prevenção de otite média recorrente em algumas crianças e na otite média recorrente tanto de crianças como de adultos <sup>4</sup>.

Finalmente, estudos *in vivo* com instilação de *Streptococcus viridans* foram utilizados em crianças com tendência à otite média em duas pesquisas na Suécia. Ainda que os resultados fossem conflitantes e mesmo os resultados positivos não fossem muito estimulantes, este método de tratamento de crianças com tendência à otite média ou de crianças com otite média bacteriana aguda (OMA) precisa ser explorado melhor. O grupo de Gotemburgo, Suécia, estudou o efeito da recolonização na nasofaringe com *Streptococcus* alfa-hemolítico para inibir o crescimento de otopatógenos em crianças com otite média aguda recorrente <sup>5</sup>. Os resultados obtidos depois de três meses demonstraram que 42% das crianças que receberam o *spray* de *Streptococcus* alfa-hemolítico estavam saudáveis e tinham a membrana timpânica normal quando comparadas com 22% das crianças que receberam placebo. Concluiu-se que bactérias selecionadas, como o *Streptococcus* alfa-hemolítico, têm a habilidade de inibir o crescimento de otopatógenos comuns e podem ser usadas para proteger contra a otite média aguda recorrente e a otite média com efusão em crianças.

O significado biológico de 42% de sucesso não é tão significativo, e provavelmente seja biologicamente insignificante. Esta opinião é corroborada por um outro estudo da Universidade Umea em Lulea, Suécia, que demonstrou que não haviam sido detectadas alterações importantes na flora nasofaríngea durante o período do estudo com relação a patógenos de otite média (otopatógenos), quando foi usado o *spray* nasal de *Streptococcus* alfa-hemolítico <sup>6</sup>. Assim, estes dois grupos suecos têm opiniões divergentes sobre a eficácia do *spray* nasal usando bactérias com possibilidades de interferência na flora local da nasofaringe.

Skovbjerg *et al.* realizaram um estudo com 60 crianças suecas, com idades entre um e oito anos, com OME, e que receberam probióticos sob a forma de *spray* nasal, usando *Streptococcus sanguinis* ou *Lactobacillus rhamnosus*.<sup>7</sup> Sua conclusão foi que a OME foi curada ou sua evolução estava muito melhor após 10 dias.

**Um terceiro mecanismo de inibição da colonização nasofaríngea por patógenos potenciais é a presença de IgA secretora específica.** As respostas da imunidade celular ao *Haemophilus influenzae* não tipável nas adenóides foram determinadas em crianças, medindo-se a transformação blástica de linfócitos e

a secreção de anticorpos em resposta à proteína P6 da membrana externa. No ensaio de transformação linfocítica, o índice de estimulação dos linfócitos das adenóides por P6 em crianças com otite foi significativamente mais baixo do que em crianças que não estão predispostas à otite. Além disso, o número de células secretoras de IgM e também de IgA oito dias após as culturas com P6 foi significativamente menor em crianças com otite do que em crianças não predispostas a esta doença. Estes dados sugerem que a proteína P6 é um alvo para a resposta imune celular da adenóide e, o mais importante, a falha dos linfócitos da adenóide em reconhecê-la como um imunógeno específico pode ser uma das causas da otite média recorrente <sup>8</sup>.

Finalmente, alguns **açúcares específicos** como o ácido siálico, que geralmente é o açúcar terminal de mucinas purificadas, tanto da orelha média quanto da nasofaringe, **poderiam ser teoricamente usados para bloquear as adesinas bacterianas de patógenos bacterianos potenciais na nasofaringe**. Este é um método bastante comum de interferir com a *Escherichia coli* na bexiga, usando suco de oxicoco (*cranberry*), por exemplo. Nos Estados Unidos, por exemplo, faz parte da cultura popular o uso do suco de oxicoco (*cranberry*) para tratamento coadjuvante de infecções urinárias, que inúmeras vezes são causadas por este microorganismo. Seria interessante especular sobre o papel do ácido siálico, o principal açúcar terminal em mucina purificada da orelha média e da nasofaringe, inibindo a aderência ao muco da nasofaringe em crianças pensadas à otite média.

### Referências bibliográficas

1. Bernstein, J. M., and M. Reddy. Bacteria-mucin interaction in the upper aerodigestive tract shows striking heterogeneity: implications in otitis media, rhinosinusitis, and pneumonia. *Otolaryngol Head & Neck Surg* 2000;122:514-520.
2. Lamblin, G., and P. Roussel. Airway mucins and their role in defence against micro-organisms. *Respiratory Medicine* 1993;87:421-426.
3. Bernstein, J. M., H. S. Faden, F. Scannapieco, M. Belmont, D. Dryja, and J. Wolf. Interference of nontypeable *Haemophilus influenzae* and *Moraxella catarrhalis* by *Streptococcus oralis* in adenoid organ culture: a possible strategy for the treatment of the otitis-prone child. *The Annals of Otolaryngology, Rhinology, and Laryngology* 2002;111:696-700.
4. Bernstein, J. M., E. Haase, F. Scannapieco, D. Dryja, J. Wolf, D. Briles, J. King, and G. E. Wilding. Bacterial interference of penicillin-sensitive and resistant *Streptococcus pneumoniae* by *Streptococcus oralis* in an adenoid organ culture: implications for the treatment of recurrent upper respiratory tract infections in children and adults. *The Annals of Otolaryngology, Rhinology, and Laryngology* 2006;115:350-356.
5. Roos, K., E. G. Hakansson, and S. Holm. Effect of recolonisation with interfering alpha streptococci on recurrences of acute and secretory otitis media in children: randomised placebo controlled trial. *BMJ (Clinical research ed)* 2001; 322:210-212.

6. Tano, K., E. Grahn Hakansson, S. E. Holm, and S. Hellstrom. A nasal spray with alpha-haemolytic streptococci as long term prophylaxis against recurrent otitis media. *International Journal of Pediatric Otorhinolaryngology* 2002;62:17-23.
7. Skovbjerg S, Roos K, Holm SE, Grahn Håkansson E, Nowrouzian F, Ivarsson M, Adlerberth I, Wold AE. Spray bacteriotherapy decreases middle ear fluid in children with secretory otitis media. *Arch Dis Child*. 2009;94(2):92-8.
8. Kodama, H., H. Faden, Y. Harabuchi, A. Kataura, J. M. Bernstein, and L. Brodsky. Adenoid lymphocyte responses to outer membrane protein P6 of nontypable *Haemophilus influenzae* in children with and without otitis media. *Acta Otolaryngol Suppl* 1996;523:153-154.