



DEPARTAMENTO DE
MICroBiologia
UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

MICROBIOMA HUMANO

IMPLICAÇÕES NA SAÚDE E NA DOENÇA

Robson Francisco de Souza
Laboratório de Estrutura e Evolução de Proteínas

Microbiota tópicos

- Definição
- Distribuição
- Formação
- Transitória
- Função / papel
 - Na doença
 - Na terapia/tratamento

Definições

microbiota / Microbioma

Comunidade de microrganismos que habita determinado ambiente

microbiota / Microbioma humano

População de microrganismos que habita a pele e as membranas mucosas de um indivíduo saudável

Sinônimos para Microbiota normal:

Microbiota indígena

Microbiota autóctone

Microbiota residente

Disbiose

Desequilíbrio na microbiota associado a doenças

O Termo **flora** refere às **plantas**, enquanto que os microrganismos pertencem a vários grupos de microeucariotos ("protista") e aos reinos Bacteria e Arquea. Isto deve-se a estes organismos terem sido classificados entre as plantas na taxonomia de Lineu.

Mais algumas definições...

Simbionte

Organismo que vive em associação com organismo(s) de outra espécie

Quanto ao compartimento:

Ectossimbionte (sobre)

Endossimbionte (dentro)

Quanto à interação:

Comensal

Vive em associação sem causar dano ou benefício

Commensalism: One organism benefits, and the other is unaffected



(a) *Staphylococcus epidermidis* on the skin

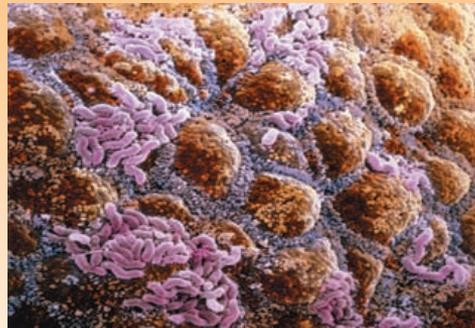
SEM

2.5 μ m

Mutualista

Ambos os organismos se beneficiam

Mutualism: Both organisms benefit



(b) *E. coli* bacteria (lavender) in the large intestine

SEM

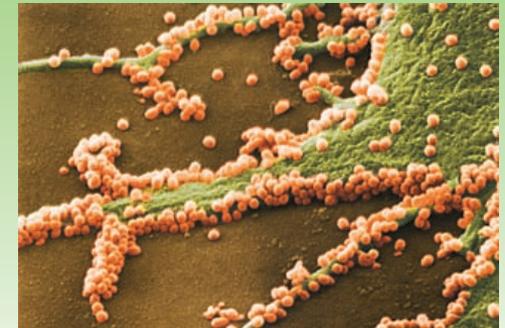
5 μ m

Parasita

Causa dano ao hospedeiro

Biotrófico **necrotrófico**

Parasitism: One organism benefits at the expense of the other



(c) H1N1 virus particles (orange) on a host cell (green)

SEM

0.5 nm

Transições entre os modos de vida acima são possíveis e frequentes!!!!

Mecanismo: aquisição de fatores de virulência e/ou Ilhas de patogenicidade por transferência lateral de genes

Conclusões do Projeto Microbioma Humano "Indivíduo Saudável"

HMP: criado e financiado pelo NIH

Perguntas

1. Do individuals share a core human microbiome?
2. Is there a correlation between microbial population structure and host genotype?
3. Do differences in the human microbiome correlate with differences in human health?
4. Are differences in the relative abundance of different bacteria important?

Methé, B.A. et al. (2012) *A framework for human microbiome research*. **Nature**, 486, 215–21.

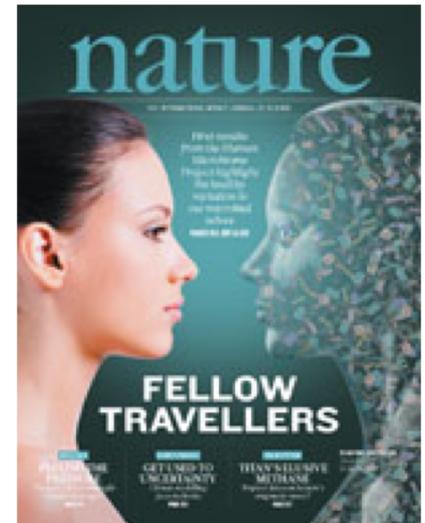
Mueller, K. et al. (2012) *The gut microbiota. Introduction*. **Science**, 336, 1245.

O Programa:

\$173 milhões

300 indivíduos saudáveis
18 locais de coleta no corpo
+5 anos

80 Universidades



Conclusões do Projeto Microbioma Humano "Indivíduo Saudável"

- 100 trilhões de microrganismos
- 10 vezes mais células procariontes
- 1-3% do peso corporal
- Mais de 10.000 espécies microbianas
- Genoma humano possui 22.000 genes
- Microbioma contribui cerca de 8 milhões de genes
- 360 vezes mais material genético
- 80-95% não cultiváveis in vitro
- Nenhuma espécie de microorganismo é dominante em mais de um indivíduo

Methé, B.A. et al. (2012) A framework for human microbiome research. *Nature*, 486, 215–21.

Mueller, K. et al. (2012) The gut microbiota. *Introduction. Science*, 336, 1245.

O Programa:

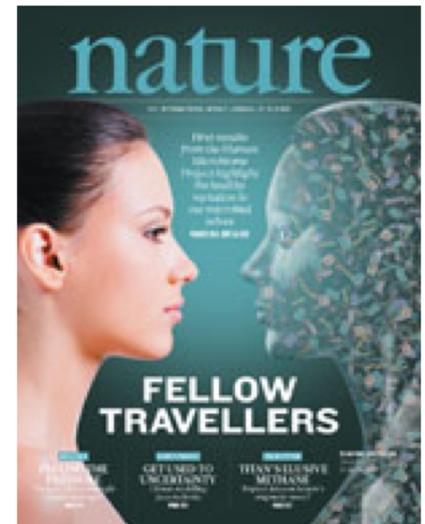
\$173 milhões

300 indivíduos saudáveis

18 locais de coleta no corpo

+5 anos

80 Universidades



Metrópole bacteriana

Uma metrópole com 1 quatrilhão de indivíduos

O corpo humano é um ecossistema. Em média, nosso organismo tem 100 trilhões de células humanas – e um número dez vezes maior de bactérias de centenas de espécies. O Projeto Microbioma Humano vai mapear o DNA dessa flora, crucial para sustentar nossa vida. Abaixo, quantas espécies habitam cada região do corpo e quais são suas funções

NARIZ E GARGANTA População: algumas dezenas de espécies

O sistema respiratório superior forma uma barreira contra as bactérias no ar que respiramos. No nariz e na garganta, elas são bloqueadas e eliminadas, tornando a traqueia, os brônquios e os pulmões praticamente livres de micro-organismos

OLHOS População: mais de 10 espécies

Quando piscamos, estamos removendo seres nocivos, ao mesmo tempo que lubrificamos o olho com líquido lacrimal, que é bactericida

BOCA População: cerca de 100 espécies

As bactérias na boca iniciam a digestão dos alimentos. Elas também formam a primeira linha de defesa do corpo contra os micro-organismos ingeridos com a comida

SISTEMA DIGESTIVO População: de 500 a 1.000 espécies

O sistema digestivo reúne 60% da flora bacteriana humana. Há centenas de espécies no esôfago, no estômago, no intestino e no reto. Elas decompõem o alimento, extraem seus nutrientes, fazem vitaminas e hormônios e combatem bactérias nocivas. Só no intestino grosso vivem 100 trilhões de micro-organismos – igual à soma de todas as células humanas

SISTEMA REPRODUTOR

População: cerca de 50 espécies

A flora bacteriana é muito maior nas mulheres que nos homens. A maior concentração microbiana está na vagina. Os micróbios ajudam a prevenir infecções

PELE

População: cerca de 1.000 espécies

Os micro-organismos e os fungos que vivem na pele, nos poros, nos pelos e no cabelo impedem a instalação de bactérias nocivas à saúde, que causam infecções e doenças cutâneas

e reprodutivo. A vagina é uma prova da maior complexidade das mulheres em relação aos homens. É o órgão com a maior concentração microbiana do corpo, com exceção do intestino grosso. No interior desse último há 100 trilhões de indivíduos – número igual ao das células humanas.

Quando se calcula o total dos genes do DNA de todas as espécies que habitam o ser humano, chega-se a um número astronômico: cerca de 1.000 vezes maior que os 20 mil genes do DNA humano. Somando-se esse dado à constatação de que, na ausência de nossos companheiros microscópicos, nenhum de nós existiria, conclui-se que cada ser humano é um bioma intrincado, tanto quanto a Mata Atlântica ou a Amazônia.

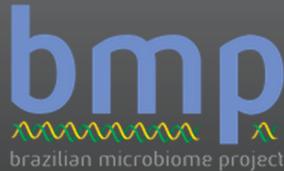
O fim de uma única espécie pode refletir no todo. O consumo de açúcar e gordura, por exemplo, reduz a diversidade da flora intestinal – que pode ser reconstituída por meio de uma dieta vegetariana. Mas por que a diversidade bacteriana varia entre os seres humanos? Os membros de uma família geralmente têm uma flora similar. Mas pode ser muito diferente da família vizinha. Sabe-se também que a composição da flora varia geograficamente. Os brasileiros têm uma flora diferente dos americanos ou dos chineses. Ninguém sabe por quê. Ainda. ♦



Human Microbiome Project
2008-2012

Pesquisa de microbiomas

Projeto Microbioma Brasileiro

[HOME](#)[ABOUT](#)[GET INVOLVED](#)[MEETINGS](#)[LINKS](#)[SUPPORT US](#)[CONTACT US](#)

Dear colleagues,

Welcome to the Brazilian Microbiome Project!

BMP aims to assemble a metagenomic Brazilian Consortium/Database.

We are pleased to invite you to join us in this initiative.

With best wishes,

BMP Organizing Committee



This website is under construction.

News: The BMP Standard16S profiling analysis pipeline are **now available!**

- [Standards and Protocols](#)

News: *Brazilian Microbiome Project: Revealing the Unexplored Microbial Diversity—Challenges and Prospects, Microbial Ecology, 67(2): 237-241, 2014. DOI: 10.1007/s00248-013-0302-4*

Microb Ecol
DOI 10.1007/s00248-013-0302-4

SHORT COMMENTARY

**Brazilian Microbiome Project: Revealing the Unexplored
Microbial Diversity—Challenges and Prospects**

Available on line: [Click here!](#)

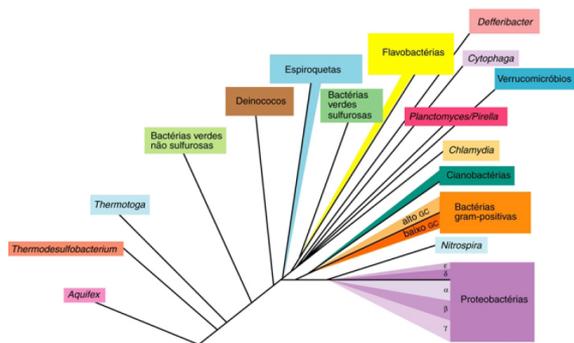
Organizing Committee

User login area

Connect With Us

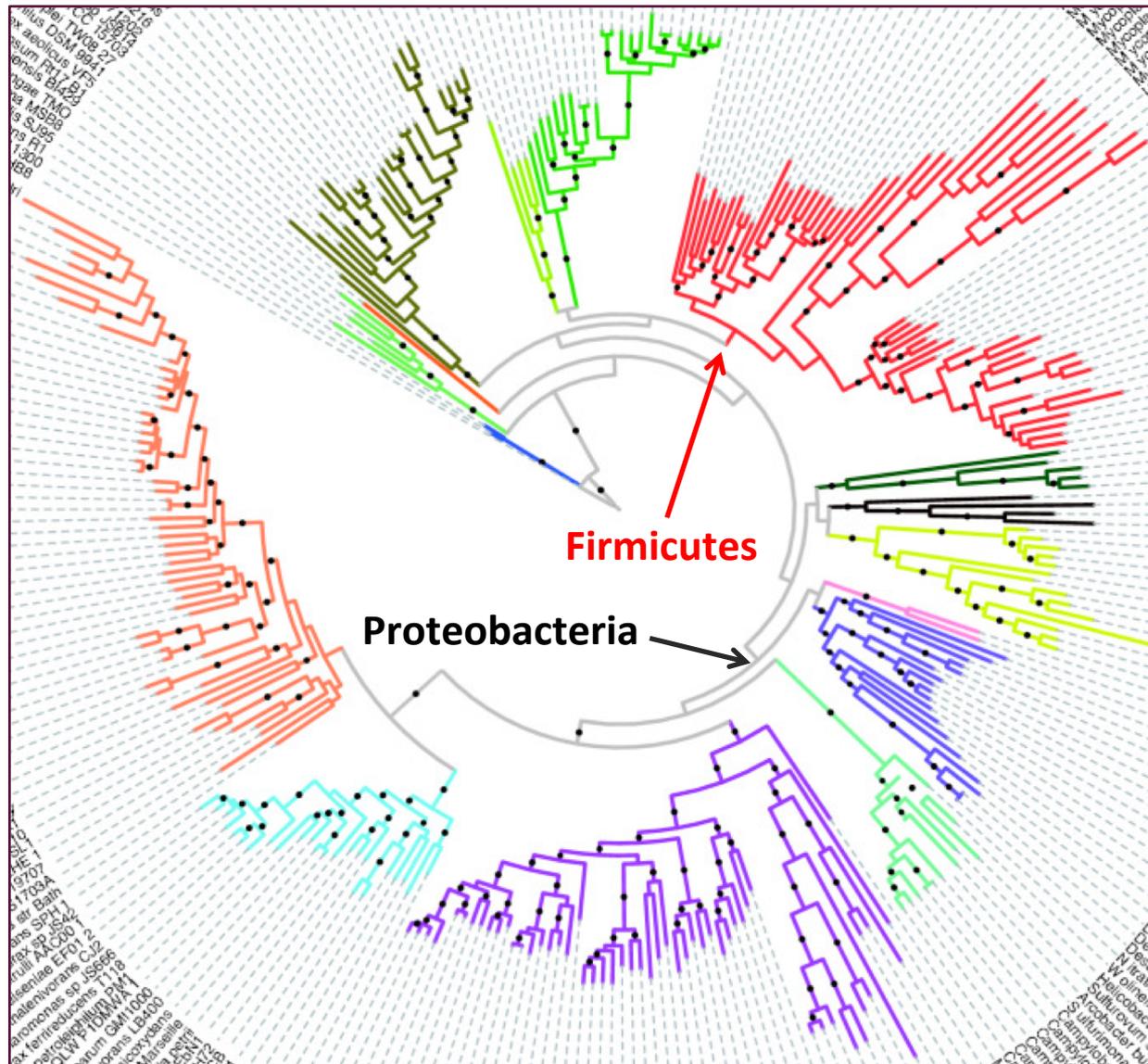
<http://www.brmicrobiome.org/>

Filogenia das Bactérias



À direita: árvore de máxima verossimilhança construída a partir do alinhamento concatenado de 31 proteínas codificadas por genes *housekeeping*

<http://itol.embl.de>
<http://tolweb.org/tree/>



- | | | | |
|-------------------------|-----------------------------|------------------|-----------------------|
| ■ Gammaproteobacteria | ■ Acidobacteria | ■ Cyanobacteria | ■ Deinococcus/Thermus |
| ■ Betaproteobacteria | ■ Bacteroidetes/Chlorobi | ■ Chloroflexi | |
| ■ Alphaproteobacteria | ■ Spirochaetes | ■ Actinobacteria | |
| ■ Epsilonproteobacteria | ■ Chlamydiae/Planctomycetes | ■ Aquificae | |
| ■ Deltaproteobacteria | ■ Firmicutes | ■ Thermotogae | |

Wu, M. and Eisen, J.A. (2008) A simple, fast, and accurate method of phylogenomic inference. *Genome Biology*, 9, R151.

Microbiota - Formação

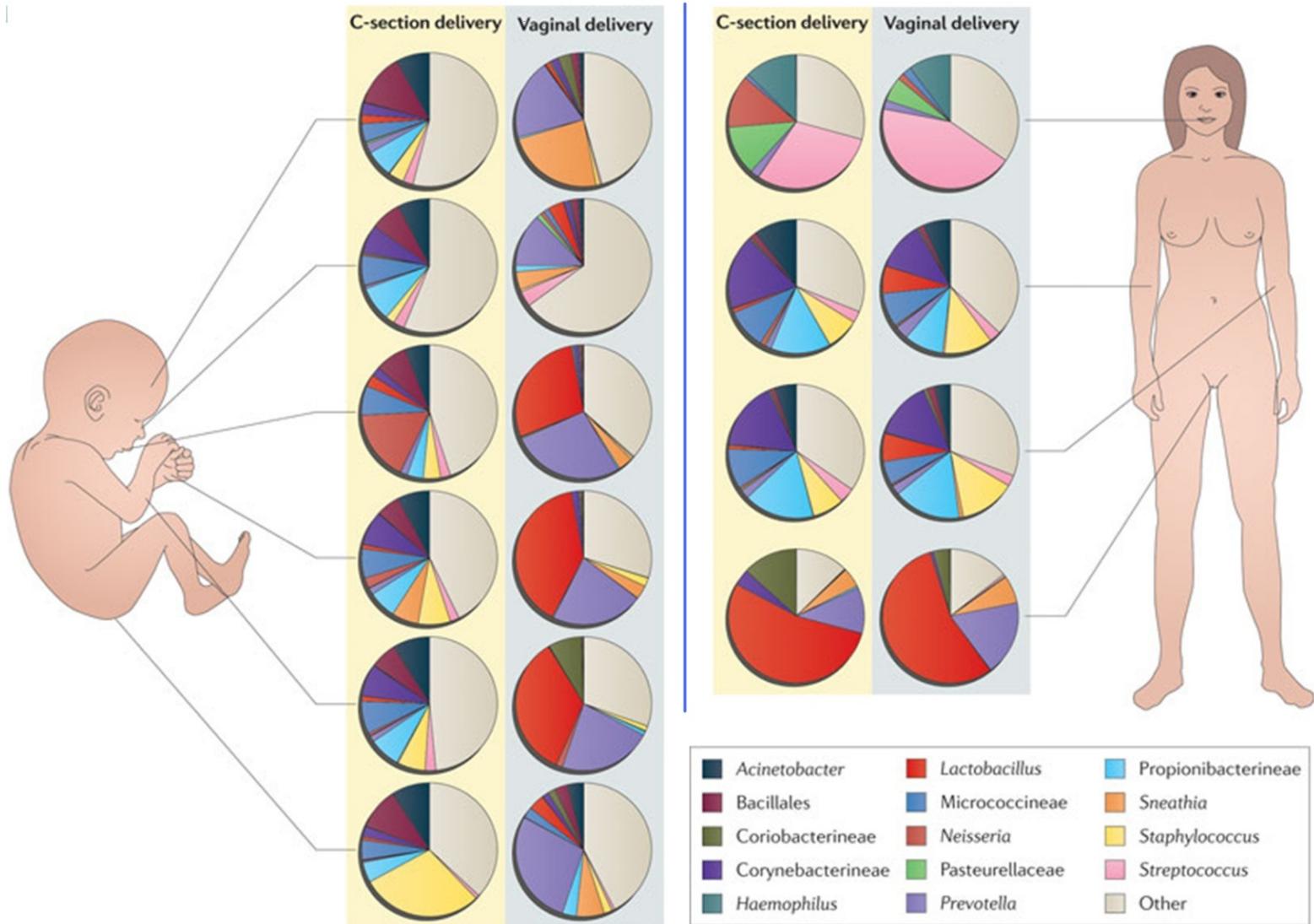
Ambiente estéril



- Cesárea

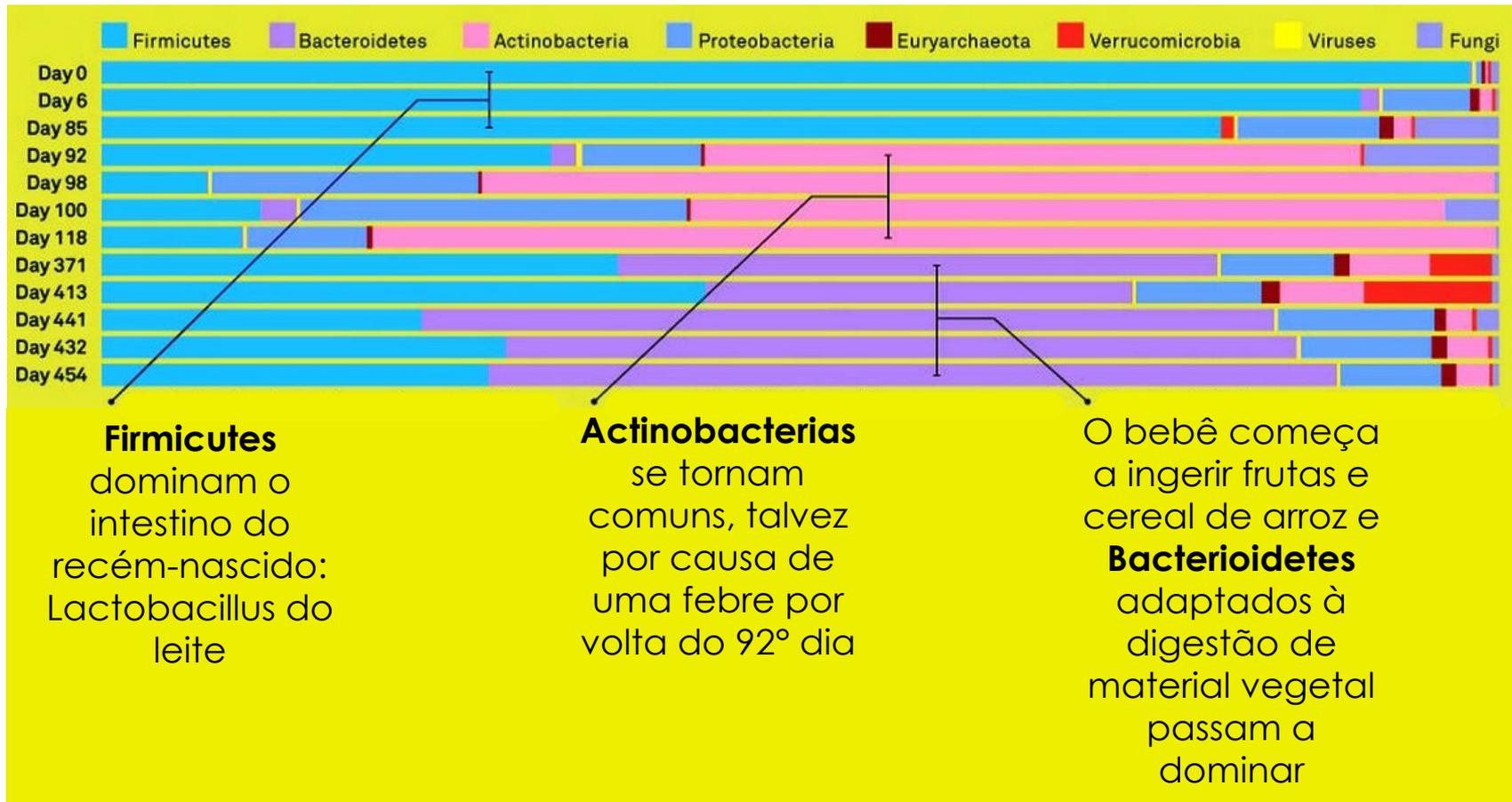
- Natural

Cesária Vs Natural



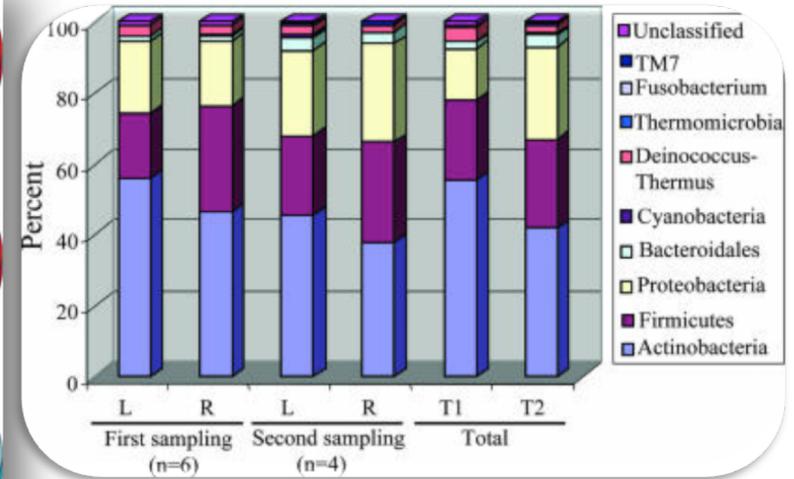
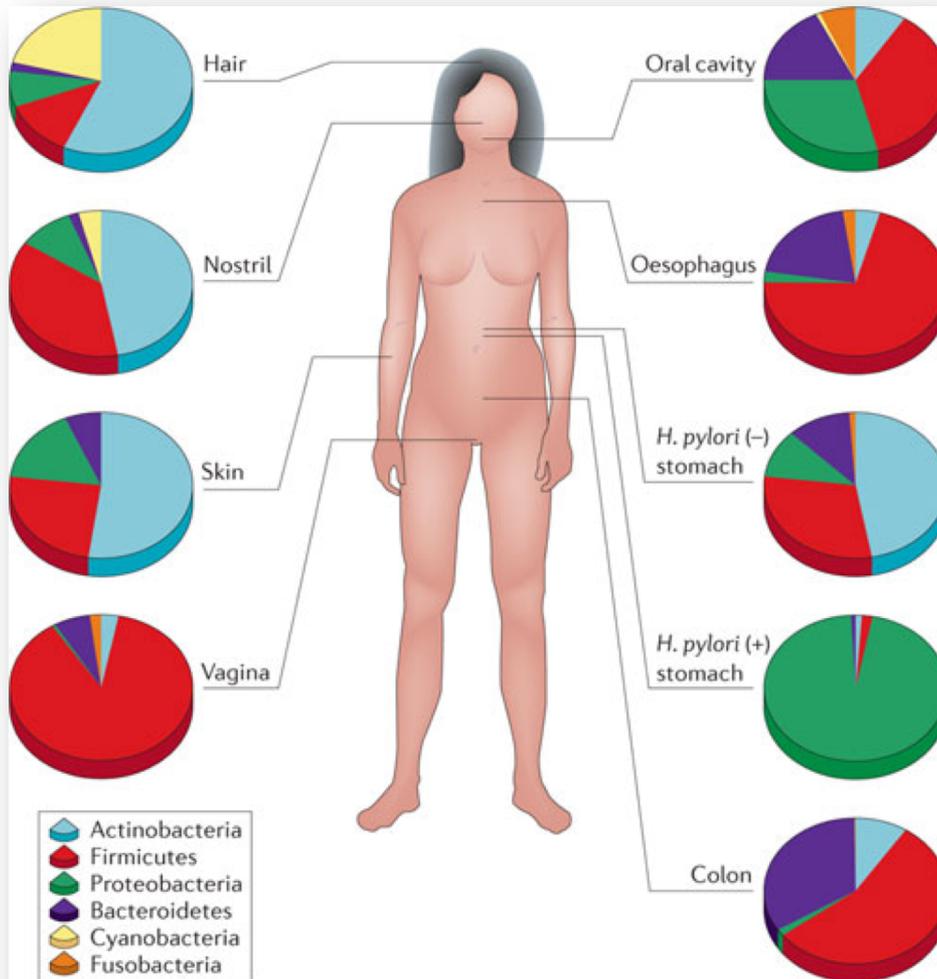
Alterações na microbiota intestinal

Primeiro ano de vida



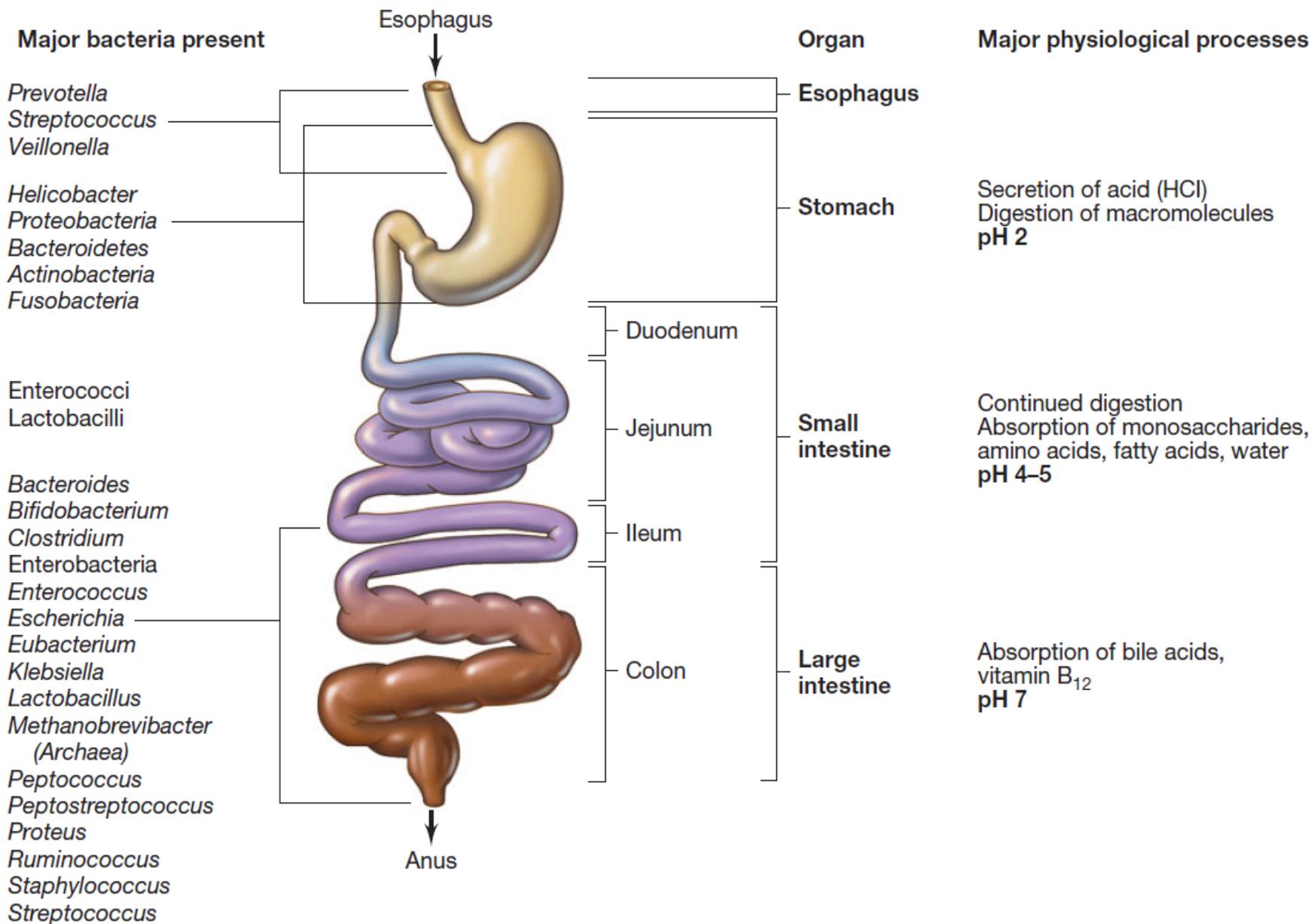
Distribuição da microbiota

variação entre sub-sítios



Mãos: esquerda vs. direita

Distribuição no TGI



Microbiota - Função

- **Biofilme protetor**
 - Proteção mecânica
 - Competição com bactérias patogênicas por sítios de adesão e microambientes (antagonismo microbiano)
- **Ativamente envolvida na regulação imune e da homeostase intestinal**
 - Papel crítico na maturação do sistema imune
- **Exerce funções-chave no metabolismo do hospedeiro, auxiliando na digestão e absorção de alimentos.**
 - Degradação de carboidratos complexos a monossacarídeos e ácidos graxos voláteis (VFA, como butirato, acetato e propionato), os quais atravessam a parede intestinal e entram na corrente sanguínea

Contribuições metabólicas de micro-organismos intestinais

<i>Process</i>	<i>Product</i>
Vitamin synthesis	Thiamine, riboflavin, pyridoxine, B ₁₂ , K
Gas production	CO ₂ , CH ₄ , H ₂
Odor production	H ₂ S, NH ₃ , amines, indole, skatole, butyric acid
Organic acid production	Acetic, propionic, butyric acids
Glycosidase reactions	β -Glucuronidase, β -galactosidase, β -glucosidase, α -glucosidase, α -galactosidase
Steroid metabolism (bile acids)	Esterified, dehydroxylated, oxidized, or reduced steroids

Microbiota transitória

- Microrganismos que podem habitar a pele e/ou membranas mucosas por horas, dias ou semanas mas que não se restabelecerão autonomamente
- **Oportunistas:** patógenos normalmente inócuos podem ganhar uma vantagem competitiva quando a população de competidores é diminuída. Exemplo: *Clostridium difficile*
- Deslocamento do sítio normal no corpo humano (Ex: *S. epidermidis* em cateter);
- Imunocomprometidos – microbiota pode multiplicar em excesso, comprometendo seu balanço e causando infecções.

Microbiota e doenças

- Doença Inflamatória Intestinal
- Cárie e Periodontite
- **Obesidade**
- Alergia
- Autoimunidade
- Distúrbios Vasculares
- Esclerose Múltipla
- Diabetes II

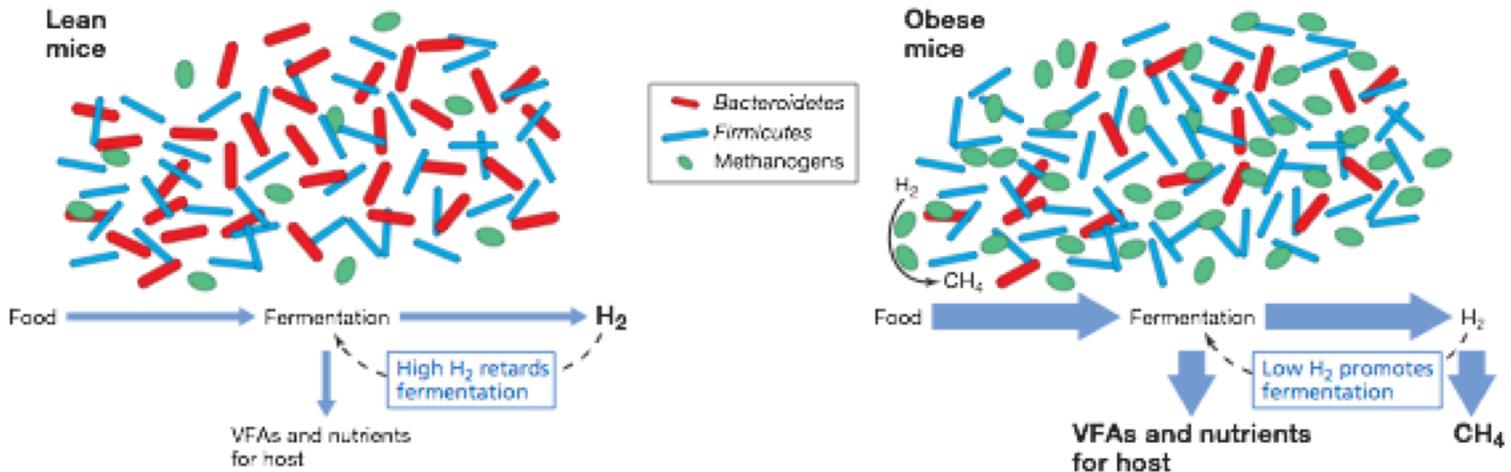


Figure 25.32 Differences in gut microbial communities between lean and obese mice. Obese mice have more methanogens, a 50% reduction in *Bacteroidetes*, and a proportional phylum-wide increase in *Firmicutes*. Nutrient production from fermentation is higher in obese mice due to removal of H₂ by methanogens.

Potencialmente Patogênicas



Se um patógeno potencial não prejudica **um dado indivíduo** assintomático ele é, para todos os efeitos, um **comensal** nesse indivíduo mas, se transmitido, ainda pode causar doenças em outros indivíduos (e.g. **Mary Tifóide**)

BACTERIUM	Lower Intestine
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	+
<i>Staphylococcus aureus</i> *	++
<i>Streptococcus mitis</i>	+/-
<i>Enterococcus faecalis</i> *	++
<i>Streptococcus pyogenes</i> *	+/-
<i>Veillonellae sp.</i>	+/-
<i>Enterobacteriaceae</i> * (<i>Escherichia coli</i>)	++
<i>Proteus sp.</i>	+
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> *	+
<i>Bacteroides sp.</i> *	++
<i>Bifidobacterium bifidum</i>	++
<i>Lactobacillus sp.</i>	++
<i>Clostridium sp.</i> *	++
<i>Clostridium tetani</i>	+/-
Corynebacteria	+
Mycobacteria	+
Spirochetes	++
Mycoplasmas	+

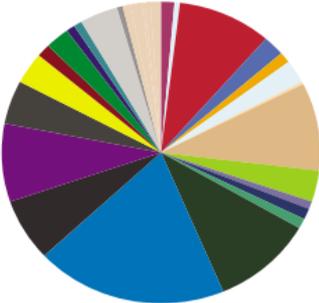
++ = nearly 100 percent + = common +/- = rare * = potential pathog

Microrganismos potencialmente patogênicos também podem ser encontrados na microbiota residente

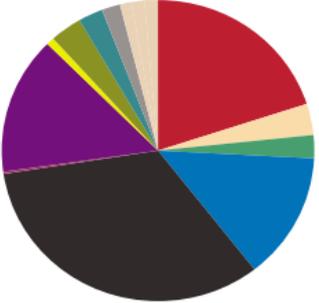
Diversidade Bacteriana na Doença

Twin study of Crohn's disease
J Dicksved *et al*

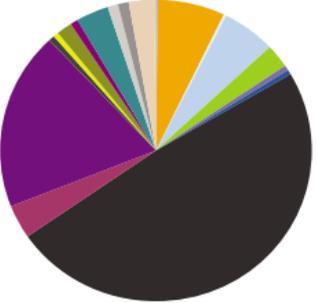
B. ovatus
B. vulgatus



H (4a)

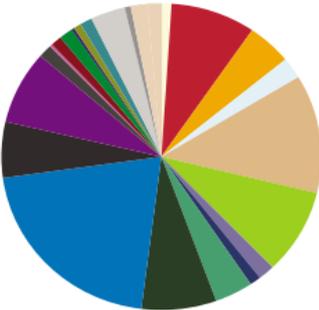


CD (18a)



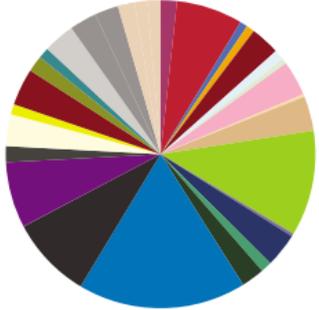
CD (15a)

B. uniformis



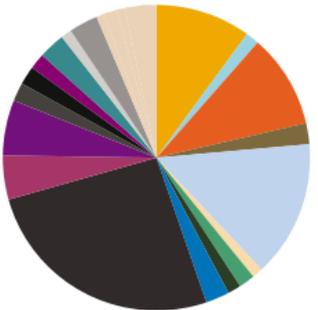
H (4b)

Healthy



H (18b)

Discordant



CD (15b)

Concordant

Chron disease: gêmeos monozigóticos

Probiótico

O fato da microbiota intestinal poder ser alterada e trazer benefícios à saúde humana, tem motivado o desenvolvimento de ingredientes alimentícios chamados “funcionais”.



Alimentos Funcionais

Probiótico / Prebiótico

Probiótico

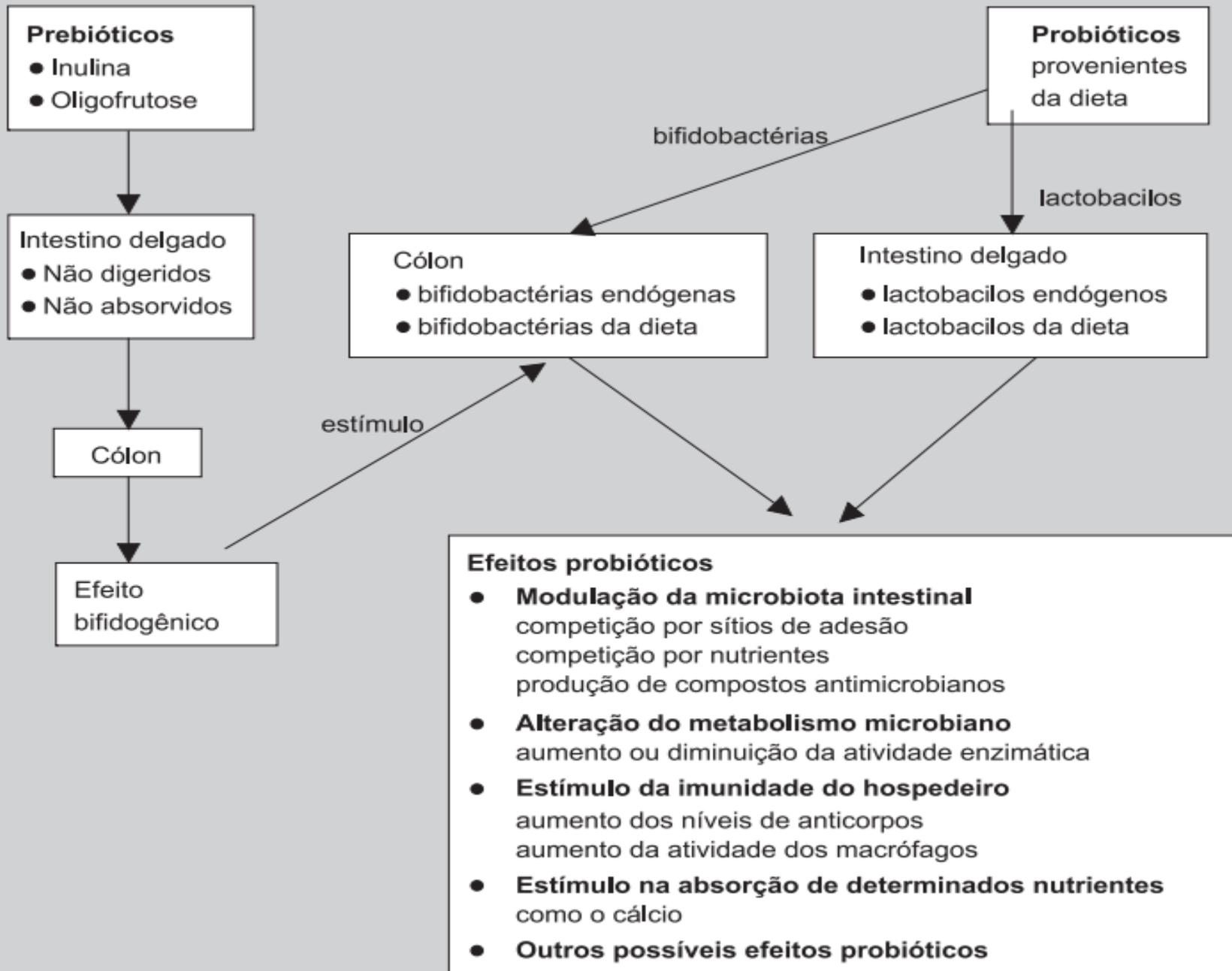
Alimentos “pró-bióticos” contêm bactérias vivas como suplemento alimentar, o que melhora o equilíbrio da microbiota intestinal, trazendo benefícios ao hospedeiro (Fuller 1989).

Prebiótico

Alimentos “pré-bióticos” são aqueles não-digeríveis pelo ser humano mas que promovem a seleção das espécies benéficas e limitam o número de bactérias no cólon, beneficiando assim o hospedeiro (Gibson and Roberfroid 1995).

Simbiótico

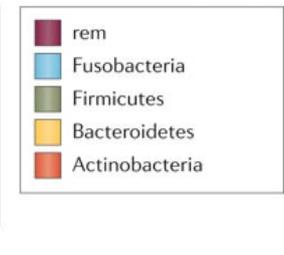
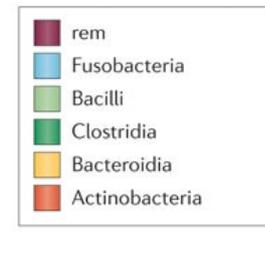
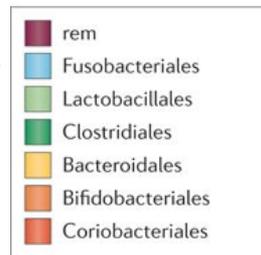
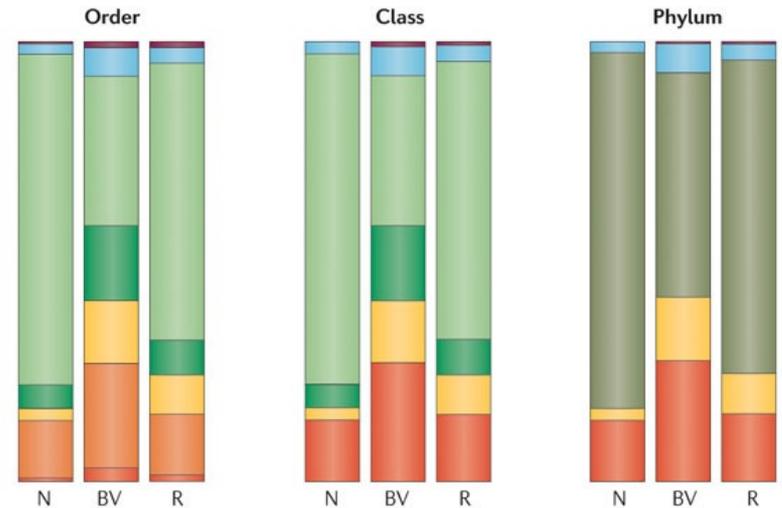
Combinação de probiótico e prebiótico



Probiótico no Tratamento

O número e o tipo de bactérias na vagina tem um profundo efeito sobre a saúde das mulheres e seu risco de contrair ou transmitir doenças sexualmente transmissíveis.

Alterações no pH 3,5-4,5 tornam o crescimento de fungos e outras bactérias



Transplante Fecal (FMT)

bacterioterapia fecal

- **Processo de transplante de microbiota fecal de um indivíduo saudável para um receptor**
- 1958* - Colorado (EUA): quatro pacientes criticamente comprometidos com colite pseudomembranosa fulminante
- 2000 – Cepas multirresistentes de *C. difficile*, 3 milhões de casos novos, 300 evoluem para morte por dia (EUA e Europa). Custo anual de US\$ 1 bilhão por ano só nos EUA.
- A combinação da substituição de componentes em falta e na produção de produtos antimicrobianos pela “nova microbiota” tendem a ser os mecanismos de cura

*EISEMAN B, SILEN W, BASCOM GS, KAUVAR AJ. *Fecal enema as an adjunct in the treatment of pseudomembranous enterocolitis*. **Surgery**. 1958 Nov;44(5):854-9.

Transplante Fecal - Indicações

- Colite pseudomembranosa
- Colite ulcerativa
- Síndrome do intestino irritável
- Doença inflamatória intestinal
- Obesidade*
- Síndromes metabólicas*
- Diabetes*
- Esclerose múltipla*
- Sintomas de Parkinson*

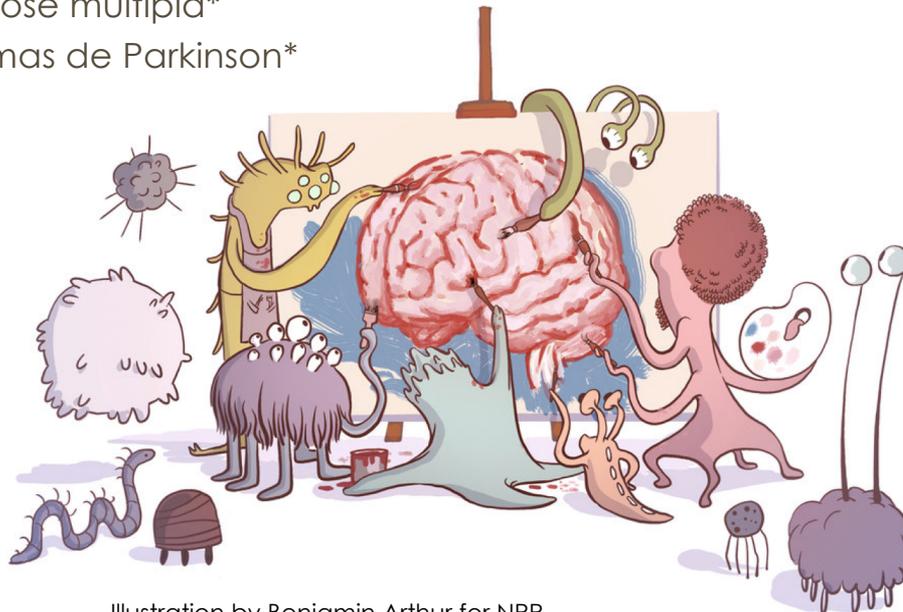
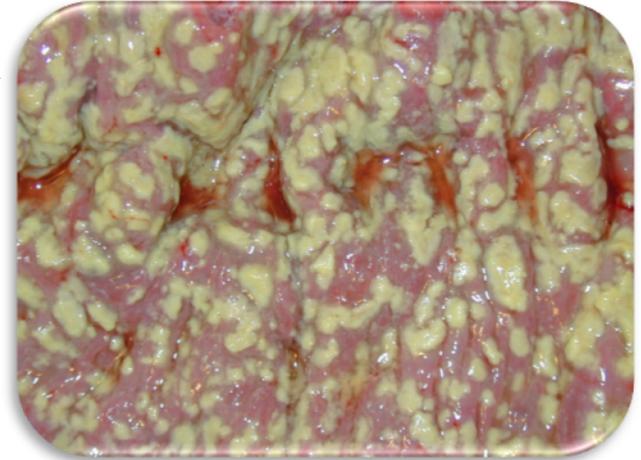


Illustration by Benjamin Arthur for NPR



Transplante Fecal - Procedimento

- 1º Diagnóstico preciso;
- 2º Seleção do doador;
- 3º Preparo da amostra;
- 4º Administração de única a múltiplas infusões: clister, colonoscopia e gavagem (nasogástrica);
- 5º Resultados: **94%** de cura contra **31%** vancomicina (New England Medical Journal, 2013);
- **2009** - Autologous Restoration of Gastrointestinal Microbiota;
- No Brasil, o Hospital Albert Einstein, em São Paulo, realizou em março os dois primeiros procedimentos do tipo no país.

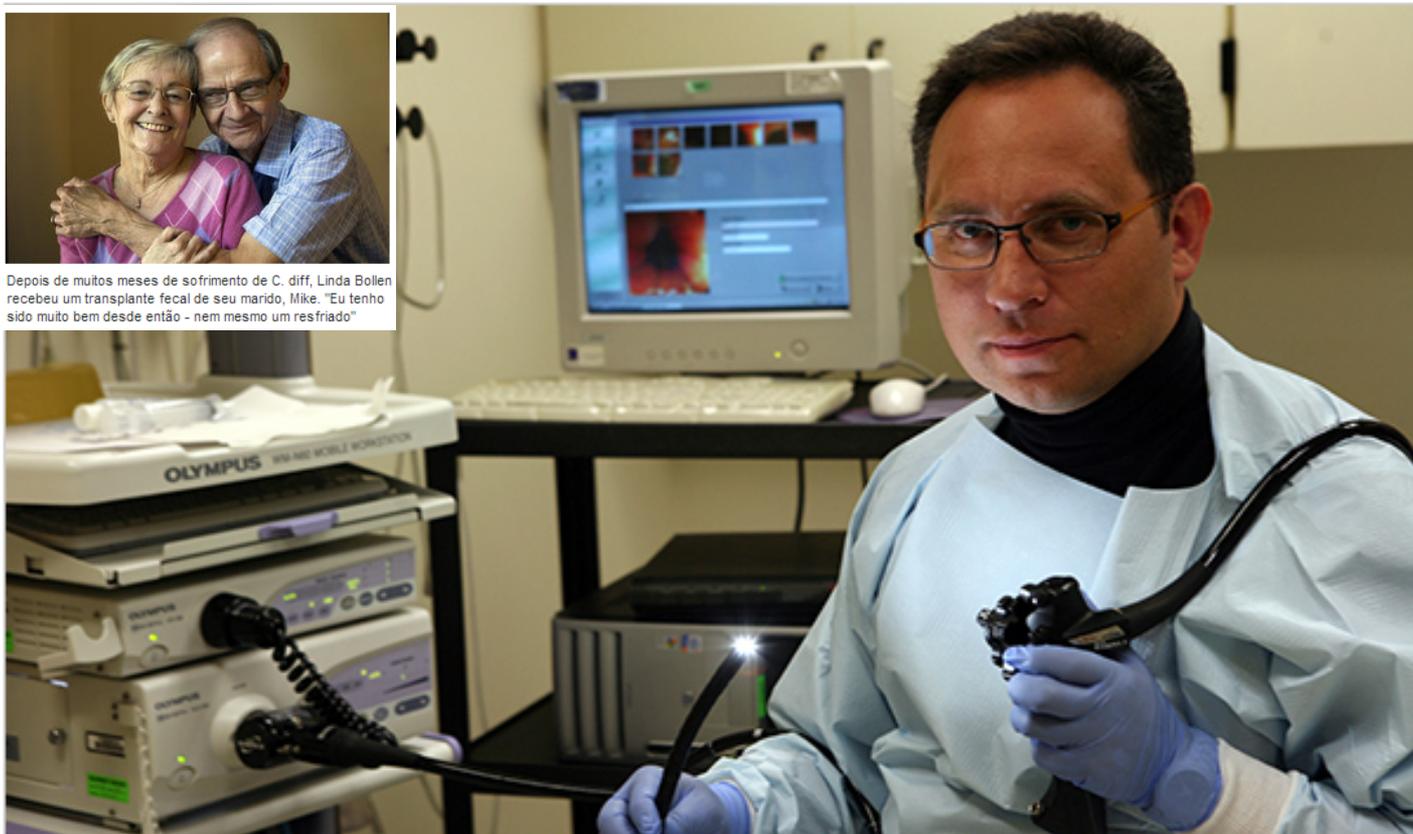


Procedimentos: preparação do material, seleção de doadores, triagem e administração de FMT. Fecal Microbiota Transplantation Workgroup. Clin Gastroenterol Hepatol. 2011 Dec;9(12):1044-9.

Transplante Fecal



Depois de muitos meses de sofrimento de C. diff, Linda Bollen recebeu um transplante fecal de seu marido, Mike. "Eu tenho sido muito bem desde então - nem mesmo um resfriado"



Allen Brisson-Smith for The New York Times

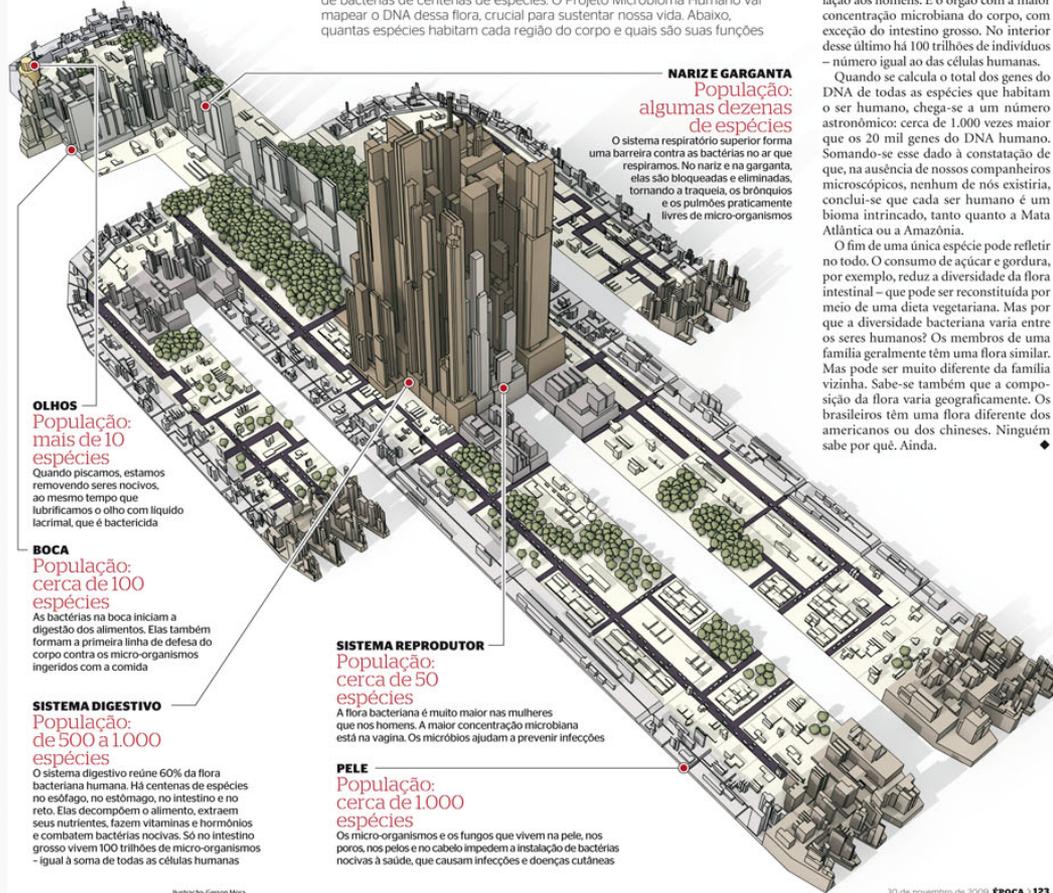
Dr. Alexander Khoruts, a gastroenterologist at the University Minnesota, used bacteriotherapy to help cure a patient suffering from a gut infection.

Changes in the composition of the human fecal microbiome after bacteriotherapy for recurrent *Clostridium difficile*-associated diarrhea. *J Clin Gastroenterol* **2010**; 44: 354-360.

Metrópole bacteriana no corpo... ... com arranha-céus concentrados no intestino

Uma metrópole com 1 quadrilhão de indivíduos

O corpo humano é um ecossistema. Em média, nosso organismo tem 100 trilhões de células humanas - e um número dez vezes maior de bactérias de centenas de espécies. O Projeto Microbioma Humano vai mapear o DNA dessa flora, crucial para sustentar nossa vida. Abaixo, quantas espécies habitam cada região do corpo e quais são suas funções



e reprodutivo. A vagina é uma prova da maior complexidade das mulheres em relação aos homens. É o órgão com a maior concentração microbiana do corpo, com exceção do intestino grosso. No interior desse último há 100 trilhões de indivíduos - número igual ao das células humanas.

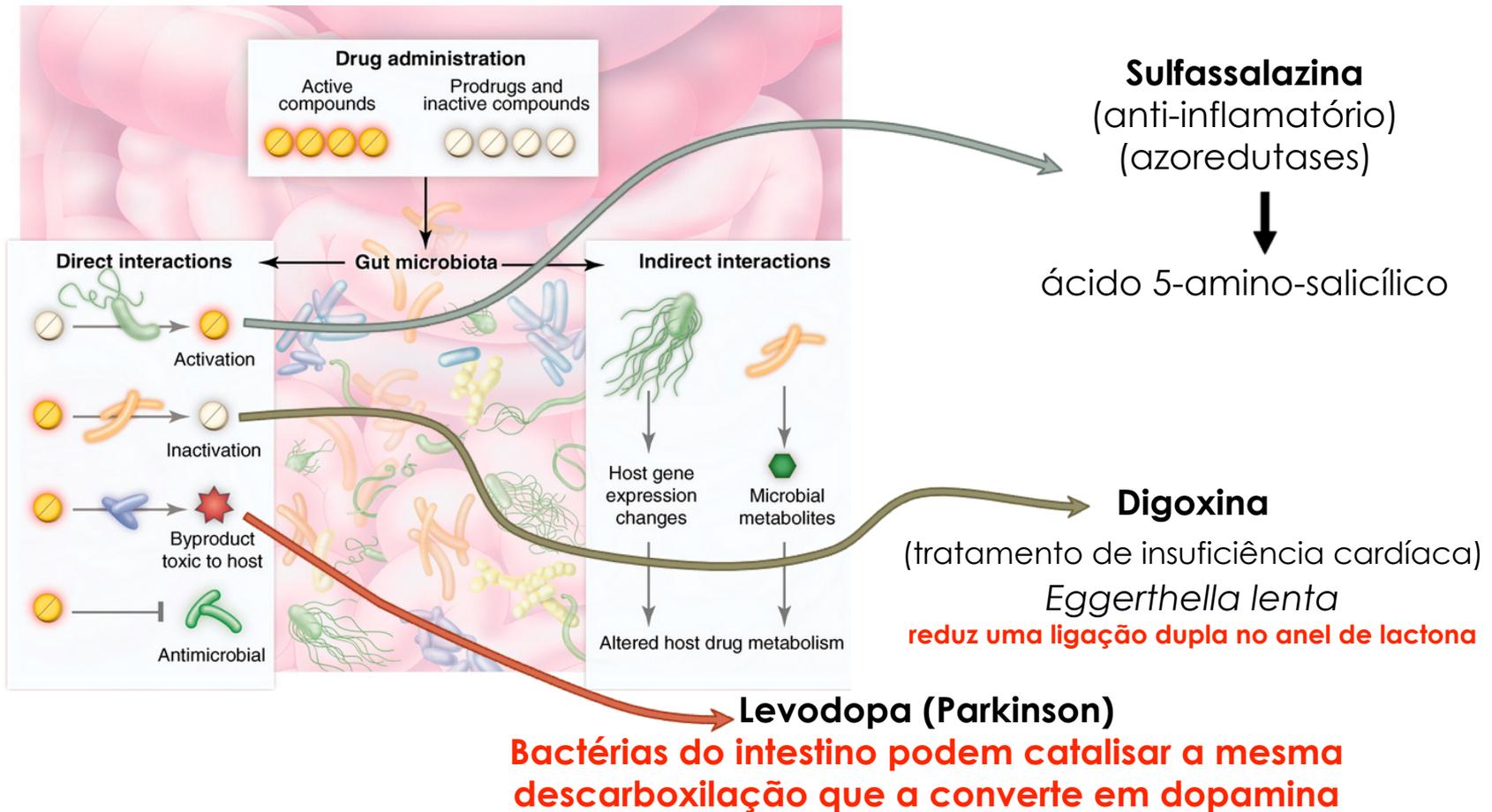
Quando se calcula o total dos genes do DNA de todas as espécies que habitam o ser humano, chega-se a um número astronômico: cerca de 1.000 vezes maior que os 20 mil genes do DNA humano. Somando-se esse dado à constatação de que, na ausência de nossos companheiros microscópicos, nenhum de nós existiria, conclui-se que cada ser humano é um bioma intrincado, tanto quanto a Mata Atlântica ou a Amazônia.

O fim de uma única espécie pode refletir no todo. O consumo de açúcar e gordura, por exemplo, reduz a diversidade da flora intestinal - que pode ser reconstituída por meio de uma dieta vegetariana. Mas por que a diversidade bacteriana varia entre os seres humanos? Os membros de uma família geralmente têm uma flora similar. Mas pode ser muito diferente da família vizinha. Sabe-se também que a composição da flora varia geograficamente. Os brasileiros têm uma flora diferente dos americanos ou dos chineses. Ninguém sabe por quê. Ainda. ♦



Human Microbiome Project
2008-2012

Interações da microbiota na terapia medicamentosa



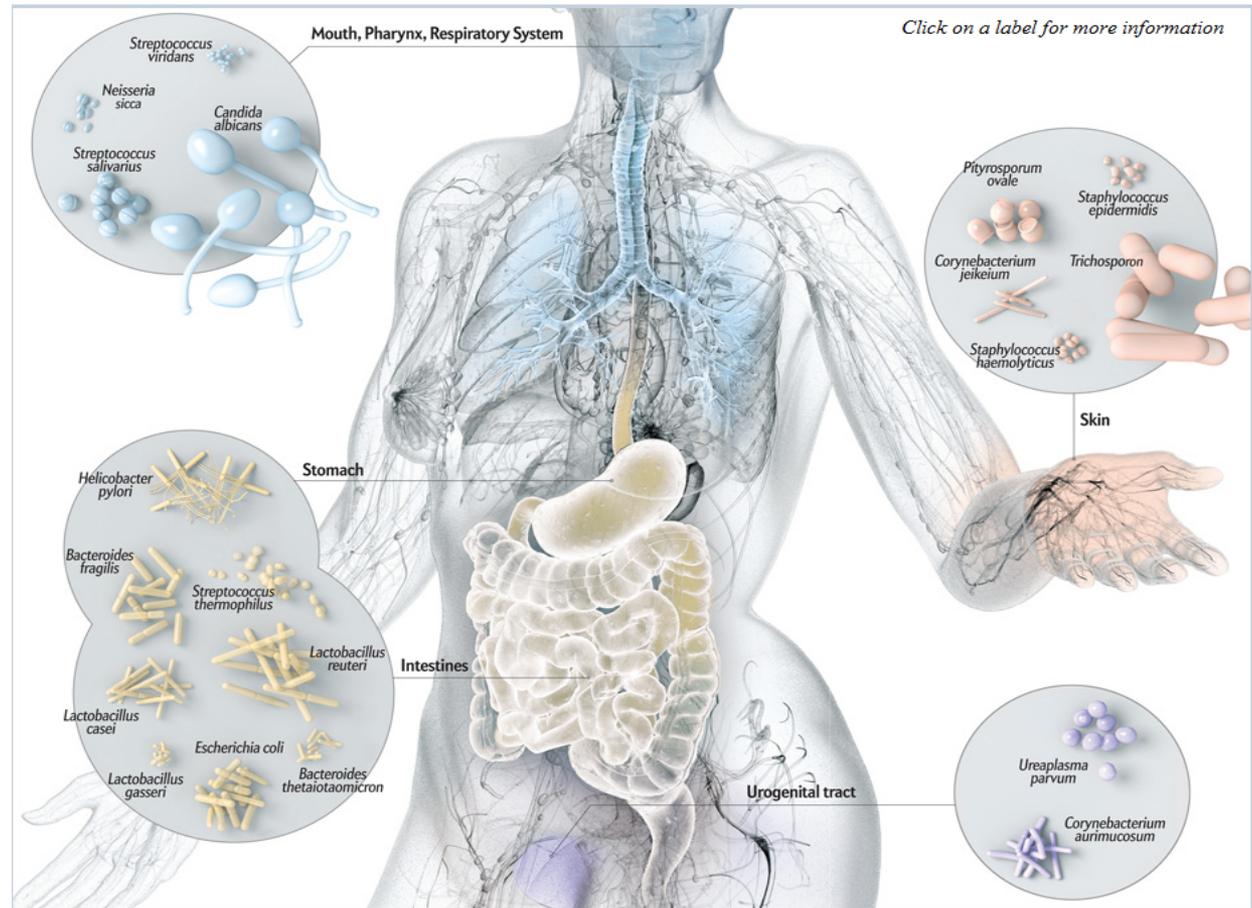
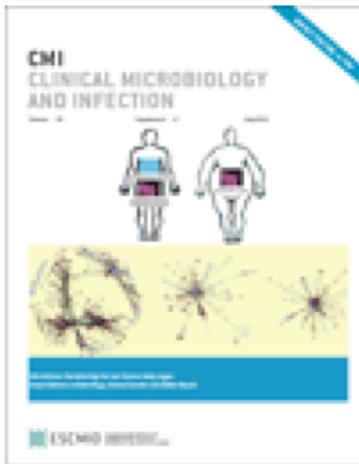
Is It Time for a Metagenomic Basis of Therapeutics?

Therapeutic Modulation of Microbiota-Host Metabolic Interactions.

Nova visão da microbiota

A microbiota humana como um **orgão**

O corpo humano como um **ecossistema**



F. Baquero and C. Nombela (2012) *The microbiome as a human organ*. *Clin Microbiol Infect* 2012; **18** (Suppl. 4): 2–4. DOI: 10.1111/j.1469-0691.2012.03916.x

Artigos interessantes...

- The human microbiome: at the interface of health and disease. (Nature Reviews Genetics 13, 260-270 (April 2012) | doi:10.1038/nrg3182);
- Experimental and analytical tools for studying the human microbiome. (Nature Reviews Genetics 13, 47-58 (January 2012) | doi:10.1038/nrg3129);
- Sequencing technologies — the next generation. (Nature Reviews Genetics 11, 31-46 (January 2010) | doi:10.1038/nrg2626);
- Structure, function and diversity of the healthy human microbiome. (Nature 486, 207–214 (14 June 2012) doi:10.1038/nature11234);
- A core gut microbiome in obese and lean twins. (Nature 457, 480-484 (22 January 2009) | doi:10.1038);
- Therapeutic Modulation of Microbiota-Host Metabolic Interactions. (Sci. Transl. Med. DOI: 10.1126/scitranslmed.3004244);
- The Gut Microbiota. (DOI: 10.1126/science.336.6086.1245);

Referências

- Tortora et al. Microbiologia 10ª Ed. (2012).
 - Capítulo 10: Bases das doenças e epidemiologia
 - Seção: Microbiota normal
- Microbiologia de Brock (13ª edição)
 - Unidade 7: Ecologia Microbiana
 - Capítulo 25 - Parte III
- Micribiologia médica de Jawetz (2010)
 - Capítulo 10: Microbiota humana normal
- Microbiologia básica - Trabulsi (4a. edição)
 - Capítulo 12: Microbiota do corpo humano