

## **Não estamos sozinhos!**

Este é um material didático elaborado especialmente para a disciplina BIF0443 - Fisiologia para o Ensino Médio, pois mescla material do aluno com orientações ao professor.

Ele foi adaptado de “We are not alone” do National Center for Case Study Teaching in Science da University at Buffalo - State University of New York.

Original disponível em: [http://sciencecases.lib.buffalo.edu/cs/collection/detail.asp?case\\_id=908&id=908](http://sciencecases.lib.buffalo.edu/cs/collection/detail.asp?case_id=908&id=908)

### **Parte I - Preparação para a aula**

Este estudo de caso é uma introdução ao incrível mundo da microbiota, a vasta gama de microrganismos que vivem dentro e fora de você. Para apresentá-lo a este mundo, você assistirá a três vídeos.

O primeiro vídeo descreve a microbiota humana no contexto de um ecossistema:

- O Ecossistema Humano. Centro de Aprendizagem da Ciência Genética, 2014. <<http://learn.genetics.utah.edu/content/microbiome/ecosystem/>>

O microrganismo imaginário *Heidi Helicobacter*, um habitante do intestino de Kristen, narra o segundo vídeo, que introduz a diversidade do mundo microbiano e nossa complicada relação com ele:

- Não estamos sozinhos: o mundo invisível da microbiota humana. Criado por Joan-Beth Gow para o Centro Nacional de Estudo de Caso de Ensino na Ciência, 2017. <[https://youtu.be/RX3\\_sRYXdsA](https://youtu.be/RX3_sRYXdsA)>

O terceiro vídeo discute o uso do transplante de microbiota fecal (FMT) como tratamento para uma doença conhecida como infecção por *Clostridium difficile*:

- Transplante de microbiota fecal. Clínica Mayo, 2014. <<http://youtu.be/Awn3haOpfcl>>

Enquanto assiste aos vídeos, considere as seguintes perguntas. Venha para a aula preparado para discutir as respostas a essas perguntas com o seu grupo.

### **Questões referentes aos vídeos:**

1. Os termos germe e microrganismo são frequentemente usados de forma intercambiável. O que vem à mente quando você ouve a palavra germe?
2. O que exatamente significa microbiota? Por que o termo microbiota é usado para descrever os microrganismos que vivem no ou sobre o corpo humano?
3. Cite e descreva brevemente os tipos de microrganismos aos quais você foi introduzido que compõem a microbiota.

4. Liste os fatores que podem levar à alteração de uma microbiota saudável.

6. O que mais te surpreendeu sobre o que você aprendeu com os vídeos?

*Orientação para a/o professor: A correção das questões pode ser feita no grande grupo da sala de aula. Ao solicitar que um aluno responda, verifique quantos responderam a mesma coisa. Peça exemplos de respostas diferentes e solicite que convençam uns aos outros sobre as respostas mais adequadas. Caso os próprios alunos tenham alcançado a resposta correta, siga para a próxima. Caso muitos alunos tenham dificuldade em alcançar a resposta adequada, faça explicações.*

## **Parte II - Microbiota em desordem**

Considere os vídeos que você assistiu fora da aula em preparação para este estudo de caso. Lembre-se que no segundo vídeo, Heidi Helicobacter foi o personagem principal e ela apresentou-lhe a vasta gama de diferentes tipos de microrganismos que fazem parte de uma microbiota humana. Heidi e suas amigas habitavam Kristen, então uma caloura na faculdade. A próxima parte da história acontece um ano após a cena no vídeo.

Kristen, agora no segundo ano da faculdade, estava no hospital novamente. Ela não aguentava mais. Esta foi sua terceira vez com *C. difficile* e de longe o pior. A diarreia era quase incontrolável, seu estômago estava matando e ela estava com febre. *C. difficile* é uma forma abreviada de infecção por *Clostridium difficile*, que resulta de uma bactéria que pode estar presente em nossos intestinos naturalmente, mas geralmente em números muito baixos. Quando se prolifera, pode causar sintomas que variam de diarreia leve a colite ulcerativa grave. Cerca de meio milhão de pessoas nos EUA são diagnosticadas com *C. difficile* a cada ano e 29.000 morrem. *C. difficile* geralmente afeta pacientes mais velhos, mas infelizmente está se tornando mais comum na população mais jovem. É frequentemente uma infecção adquirida no hospital. O médico de Kristen disse que ela provavelmente a pegou inicialmente quando estava no hospital com pneumonia e isso nunca havia sido tratado adequadamente. Kristen tinha perdido muita aula na faculdade, ela não sabia como iria se atualizar.

No fundo, a vida em Kristen era muito diferente do que era há um ano. Heidi Helicobacter e suas amigas não foram encontradas em lugar algum. Heidi provavelmente foi morta por todos os antibióticos que Kristen estava tomando, e seus amigos não-bacterianos, embora não suscetíveis a antibióticos, provavelmente morreram devido à ruptura de seu habitat microbiano. Carmen Clostridium e sua família haviam assumido e estavam produzindo todo tipo de toxina.

"É uma nova microbiota agora", riu Carmen Clostridium maniacamente.

Enquanto isso, Kristen estava conversando com o Dr. O'Halleran seu médico clínico geral.

- "Por que isso continua acontecendo comigo?" Gemeu Kristen.

- "Seu pediatra realmente prestou um desserviço ao prescrever todos esses antibióticos para você ao longo dos anos toda vez que você sofria de bronquite. Esses antibióticos mataram as

boas bactérias em seu intestino e deixaram algumas mais resistentes, mais desagradáveis, crescerem. Sua microbiota foi alterada e você está em disbiose. Pode parecer repugnante para você, mas tivemos sucesso no tratamento de pacientes que têm *C. difficile* com transplantes fecais, onde administramos fezes de um doador saudável para repovoar o intestino com a flora normal.”

- "Disbi ... o que?" Perguntou Kristen. "E você quer fazer o que - me dar cocô de outra pessoa?"

- "Kristen, você não pode continuar assim. Podemos dar-lhe outra rodada de antibióticos direcionados ao *C. difficile*, mas você sabe que toda vez que fazemos isso a longo prazo, é provável que o problema fique pior. Olhe como você é infeliz. Você é jovem demais para ser debilitada assim. Por favor, leia esta folha informativa e converse com a sua família. Voltarei hoje à noite para responder a quaisquer perguntas e você pode me contar o que decidiu. ”

### **Questões para resolver em pequenos grupos:**

1. O que é disbiose e como isso contrasta com a simbiose?
2. Como o microbiota de Kristen foi alterada?
3. Por que o Dr. O'Halleran disse a Kristen que, a longo prazo, a terapia com antibióticos está piorando sua saúde?
4. O termo apropriado para o transplante fecal é o “transplante de microbiota fecal” ou FMT. Por que o FMT funcionaria como um tratamento para doenças como a infecção por *C. difficile*?
5. Se você fosse Kristen, você faria o transplante de microbiota fecal? Por que sim ou por que não?

*Orientação para a/o professor: A correção das questões pode ser feita no grande grupo da sala de aula. Ao solicitar que um aluno responda, verifique quantos responderam a mesma coisa. Peça exemplos de respostas diferentes e solicite que convençam uns aos outros sobre as respostas mais adequadas. Caso os próprios alunos tenham alcançado a resposta correta, siga para a próxima. Caso muitos alunos tenham dificuldade em alcançar a resposta adequada, faça explicações.*

### **Parte III – Como o uso de antibióticos pode desequilibrar um microbiota saudável?**

É muito provável que você tenha tomado um antibiótico no último ano, e se você não o fez, certamente um amigo ou parente sim. Os antibióticos matam as bactérias que estão deixando você doente e o ajudam a se sentir melhor. Essas drogas, no entanto, têm como alvo estruturas comuns a todas as bactérias e não discriminam entre bactérias responsáveis por doenças e todo o restante das bactérias que são residentes normais de uma microbiota saudável.

Com o tempo, o uso excessivo ou indevido de antibióticos pode matar os habitantes bacterianos normais da microbiota humana e permitir a proliferação das bactérias mais resistentes. *Clostridium difficile* é um exemplo de uma bactéria frequentemente encontrada no

intestino em números muito baixos. É um patógeno e é naturalmente muito resistente aos antibióticos. Se tiver uma oportunidade, aumentará em número até ser uma espécie dominante no intestino humano.

Os antibióticos não criam resistência, mas em um exemplo clássico de sobrevivência dos mais adaptados, fornecem a pressão seletiva para bactérias que já são resistentes à propagação. Naturalmente, dentro de qualquer população bacteriana, algumas espécies serão mais sensíveis aos antibióticos e algumas serão mais resistentes. Variação como essa é genética e é normal dentro de qualquer população.

O objetivo desta atividade é demonstrar como, com o uso de antibióticos, o equilíbrio microbiano em nossa microbiota pode ser desfeito, às vezes em favor de um patógeno. Você observará a resposta de quatro espécies bacterianas hipotéticas a vários tratamentos com antibióticos ao longo do tempo.

### Procedimento

Serão utilizadas quatro cores diferentes de contas, representando quatro espécies de bactérias, todas possíveis residentes da microbiota. As espécies diferem naturalmente em sua resistência<sup>1</sup> a um antibiótico específico.

Sua população inicial de bactérias é representada da seguinte forma:

- 40 contas que representam a espécie 1, a mais suscetível ao antibiótico (suscetível já no 1º dia de tratamento);
- 30 contas que representam a espécie 2 (suscetível a partir do dia 2), um pouco mais resistente do que a espécie 1;
- 20 contas que representam a espécie 3 (suscetível a partir do dia 3), um pouco mais resistente que a espécie 2;
- 10 contas que representam a espécie 4 (suscetível apenas a partir do dia 4), a espécie mais resistente de todas.

No início de cada dia:

- O antibiótico é tomado (exceto quando indicado abaixo).
- Dez por cento do número total de bactérias é removido através da ação das defesas do sistema imunológico do hospedeiro (presume-se que as espécies sejam igualmente suscetíveis a essas respostas). O número total de bactérias a serem removidas é calculado e, em seguida, retirado aleatoriamente entre as quatro espécies. Faça isso com um membro do grupo fechando os olhos, toque uma das quatro xícaras que seguram as contas e, em seguida, remova uma da xícara. Continue até que o número calculado de bactérias tenha sido removido da população. No dia 0 e em cada dia subsequente, 10% das bactérias são removidas.
- Se a espécie é suscetível naquele dia em particular, então metade dessas bactérias são

---

<sup>1</sup> As espécies variam na sensibilidade à concentração de antibiótico e/ou à duração da exposição necessária para matá-las.

removidas. Por exemplo, no dia 1 do experimento, a espécie 1 é suscetível e metade desses microrganismos é removida da população. No dia 4, todas as espécies seriam suscetíveis e metade das bactérias de cada xícara seria removida.

- Se uma espécie não é suscetível em um determinado dia, então o número de bactérias é realmente duplicado, simulando a divisão microbiana. Por exemplo, no dia 1 do experimento, espécies 2 e 3 terão o número de contagens em suas respectivas xícaras dobrado. No dia 3, apenas a espécie 4 não é suscetível, de modo que a população seria a única a ser duplicada. A partir do dia 4 nenhuma população seria duplicada.
- Cada grupo deve fazer seus cálculos e usar a folha de coleta de dados para inserir o número de cada espécie de bactéria presente em cada dia até que sejam contadas 0 bactérias em cada espécie. O número de dias necessários para atingir 0 irá variar de acordo com o regime de antibióticos, e para alguns regimes nunca ocorrerá.

Três diferentes regimes de tratamento com antibióticos serão modelados:

- De acordo com as ordens do médico: siga exatamente as instruções acima.
- Terminar o tratamento precocemente: interromper o uso de antibióticos no dia 5. Neste ponto, um paciente em uso de antibióticos começaria a se sentir melhor e poderia parar de tomar a medicação prescrita. Uma vez que o uso de antibióticos é descontinuado, 10% do número total de micróbios é removido aleatoriamente no início de cada dia. A cada dia todas as espécies irão duplicar, já que o antibiótico não está mais presente.
- Pular o dia 3 do tratamento: Muitas vezes, os pacientes acham que não é grande coisa se eles pularem um dia ou dois de um regime de antibiótico prescrito. Suponha que quando um dia de tomar o antibiótico é ignorado, a concentração de antibiótico cairá para 0 e o número de todas as espécies duplicará nesse dia. Depois disso, o "relógio de suscetibilidade" é redefinido para o dia 1. Em outras palavras, após o dia ignorado, somente a espécie 1 é suscetível. Dois dias após o dia ignorado, as espécies 1 e 2 são suscetíveis, etc.

*Orientações para a/o professor: Organize a classe em pequenos grupos e estabeleça quais grupos seguirão cada regime de tratamento. Deixar os grupos com tarefas distintas favorece a comunicação de ideias entre os grupos posteriormente. Caso julgue necessário, inicie a simulação com toda a turma, para certificar-se de que todos entenderam os procedimentos.*

Registre os dados resultantes da simulação na tabela a seguir:

Regime de tratamento adotado: \_\_\_\_\_

	Número de bactérias				
Dia	Espécie 1	Espécie 2	Espécie 3	Espécie 4	Total

*Esta tabela deve conter aproximadamente 20 linhas para que o número de rodadas seja suficiente para*

os resultados expressarem um padrão.

Orientações para a/o professor: Para que os alunos possam responder as questões a seguir, reorganize-os em grupos mistos (com estudantes que realizaram simulações distintas).

### **Questões para resolver em pequenos grupos:**

1. Assuma que as espécies 1, 2 e 3 são habitantes normais do intestino e não são patogênicas e que a espécie 4 representa um patógeno como *C. difficile*. Explique, usando dados desta simulação, como a infecção sintomática de *C. difficile* pode ser causada pelo uso excessivo ou indevido de antibióticos.
2. Como o número e a distribuição de bactérias diferem quando o regime de tratamento prescrito é seguido e quando o tratamento antibiótico é interrompido prematuramente?
3. Quais são os efeitos de pular um dia de tratamento?
4. A Dra. Lita Proctor, Diretora de Programa do Projeto Microbiota Humano, disse isso sobre o tratamento com antibióticos: “Muitas vezes podemos causar mais problemas do que curamos quando tomamos antibióticos, especialmente quando não tomamos o regime completo”. Como você responderia a esta declaração?
5. Explique por que a seguinte declaração está incorreta: “Os antibióticos criaram bactérias resistentes”.
6. Esta simulação alterou algum pensamento que você tinha sobre o uso de antibióticos? Como?

### **Parte IV - Dez anos depois e o início de um novo microbioma**

Kristen não podia imaginar como o tempo havia passado. Parece que foi ontem que ela estava na faculdade e agora estava esperando seu primeiro filho. Kristen estava se sentindo saudável, forte e pronta para enfrentar o mundo.

Dentro dela, seus microrganismos também eram saudáveis, fortes e realmente excitados. Eles estavam discutindo sobre quem iria sair e colonizar o novo bebê. Mais e mais estudos mostraram a importância dos microrganismos que povoam um novo bebê durante a viagem pelo canal do parto. Alguns seriam flora da pele que poderia facilmente saltar a bordo. Outros seriam engolidos para povoar o intestino e outros ainda povoariam o sistema respiratório.

- "Eu definitivamente estou indo", afirmou *Bonnie bacteroidetes*. "Sou descendente da família Bacteroidetes que ajudou a repovoar o intestino de Kristen com a flora microbiana normal depois de sua horrível luta com *C. difficile* anos atrás. Minha família se mudou da mãe de Kristen depois que ela doou suas fezes para o procedimento de Kristen. Vou treinar o novo sistema imunológico do bebê para manter a inflamação baixa, para que ele não acabe com doenças como colite ulcerativa e doença de Crohn. Posso até ser capaz de prevenir outras doenças, como diabetes tipo 1 e esclerose múltipla. ”

*Floyd firmicutes* entrou na conversa: “Eu também quero ir. Não gosto de morar aqui e quero um novo lar. ”

- "De jeito nenhum", respondeu Bonnie bacteroidetes. "Você não gosta daqui porque sua família é uma minoria e a minha está em maioria. Muitos de vocês deixam as pessoas gordas."

- "Ei, ei", disse *Lucy lactobacillus* tentando mediar. "Não há provas de nada disso. Ninguém sabe com certeza exatamente qual de nós tem que estar presente para criar uma microbiota saudável e ninguém sabe ao certo como a ausência de um de nós pode afetar nosso hospedeiro humano. E não é de admirar! Aparentemente, existem milhões de diferentes espécies de nós que chamam os humanos de lar e cada ser humano tem uma única impressão digital microbiana. Existem alguns cientistas que acreditam que nossa comunidade é tão única para cada pessoa que um dia será nosso DNA, e não o DNA humano, que será usado como prova forense".

- "Eu espero que Kristen esteja planejando amamentar o novo bebê", disse *Bonnie bacteroidetes*. "Existem certos açúcares no leite materno cujo único papel é nutrir bactérias específicas. Por sua vez, essas bactérias parecem desempenhar um papel importante na proteção do recém-nascido contra infecções".

*Hugo helicobacter* vagou para inserir seus dois centavos. "Você sabe que é lendário na minha família o que minha tetravó *Heidi helicobacter* disse sobre nosso relacionamento com nossos humanos. É complicado, ela diria. Há tantos fatores que desempenham um papel em quem compõe nossa comunidade e nossa comunidade muda como o nosso humano faz. Idade, o que comem, onde trabalham, como interagem com seus amigos e familiares - tudo isso influencia nossa comunidade microbiana. E quando algumas espécies-chave de nós estão faltando, cuidado! Atualmente, rupturas na microbiota humana têm sido associadas com asma, câncer colorretal, câncer de pele, pedras nos rins, doença gengival, psoríase, ansiedade, depressão ... Há até um estudo de que alguns idosos são frágeis porque sua mistura de microrganismos se tornou muito uniforme ao longo dos anos. E foi demonstrado em ratos que a composição de sua microbiota afeta a probabilidade de eles correrem riscos. Nós, microrganismos, podemos ser pequenos, mas com certeza somos poderosos!". Hugo estava cheio de sua própria importância.

- "Sim, tudo verdade", disse *Lucy lactobacillus*, "mas acho que temos que ter cuidado com o que acreditamos. Os cientistas ainda estão longe de determinar a relação exata que a microbiota tem com a maioria das doenças e ainda mais longe de determinar o mecanismo que pode levar a essas doenças".

De repente, os micróbios notaram alguma atividade frenética lá em cima. O novo bebê estava chegando! Engolindo e respirando os microrganismos de Kristen enquanto passava pelo canal vaginal, sua própria microbiota começava a se estabelecer. Posteriormente segurado pelo médico e, em seguida, por sua mãe e seu pai mais microrganismos seriam transferidos para sua pele. Cada evento que se seguiu teria um papel no estabelecimento do microbiota humano do bebê.



### Questões para resolver em pequenos grupos

1. Quais fatores desempenham um papel no desenvolvimento da microbiota humana?
2. *Bonnie bacteroidetes* disse a *Floyd firmicutes* que muitos de seu tipo deixam as pessoas gordas. Bacteroidetes e Firmicutes são dois dos principais filos que habitam o intestino humano. Há evidências de várias fontes de que o desvio da proporção de Bacteroidetes para Firmicutes desempenha um papel no peso corporal. Se a relação é inclinada em favor da Firmicutes, maior a chance de obesidade. Proponha um mecanismo (diferente daquele dado no vídeo para o *H. pylori*) que explicaria como muitos de um tipo particular de microrganismo poderiam estar associados à obesidade.
3. Quando os bebês nascem por cesariana, eles não são expostos aos mesmos microrganismos que os bebês que nascem por parto vaginal. As pesquisas sugerem que pode haver consequências negativas para isso e estudos estão sendo conduzidos onde bebês nascidos por cesariana são untados com gaze incubada na vagina da mãe para pegar os microrganismos que colonizariam o bebê se tivesse nascido por parto vaginal. Quais são seus pensamentos sobre isso? Que tipo de dado deveria ser coletado para revelar se há consequências negativas para os bebês nascidos por cesáreas?
4. Empresas como a Ubiome oferecem o serviço de análise de sua microbiota sob pagamento de uma taxa. Elas permitem que você envie amostras de várias partes do seu corpo e emitem um relatório detalhado de sua microbiota. Vocês consideram essa informação valiosa? Por quê?

*Orientação para a/o professor: A correção das questões pode ser feita no grande grupo da sala de aula. A 1a questão é mais simples, pois exige apenas a localização de informações no texto. As demais questões exigem elaborações mais complexas e, dessa maneira, é importante que cada grupo possa eleger um representante para expor as conclusões das discussões. Possibilite que os estudantes de diferentes grupos possam contra-argumentar as conclusões dos demais, pois isso amplia o repertório de possibilidades e expõem a complexidade da temática, sujeita à ação de muitas variáveis.*