



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

robfsouza@gmail.com

Microbiota humana

Tópicos

- Definição
- Tipos
- Distribuição
- Formação
- Função
- Na Doença
- Tratamento

Objetivos do aprendizado

- ✓ Entender o que é e qual a composição da microbiota humana
- ✓ Estudar a formação e distribuição de microrganismos em indivíduos saudáveis
- ✓ Compreender a função da microbiota
- ✓ Avaliar seu papel na evolução e no tratamento de doenças

Microbiota

Definição

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

Composição

- Bactérias indígenas
Mais de 1% da microbiota total
- Bactérias suplementares
Menos de 1% da microbiota total

Sinônimos

Microbiota indígena
Microbiota autóctone
Microbiota residente

Microbiota transitória

Microrganismos que podem habitar a pele e/ou membranas mucosas por horas, dias ou semanas mas que **não se restabelecerão autonomamente**

Ao contrário da microbiota transitória, componentes da microbiota normal colonizam o corpo por meses ou anos

Microbiota

Vocabulário

- **Organismos estritamente patogênicos**

Organismos que só são encontrados no corpo humano em associação com doenças. Exemplos: *Mycobacterium tuberculosis*, *Neisseria gonorrhoeae*.

- **Patógenos oportunistas**

Organismos, normalmente inócuos, mas que podem causar doenças quando ganham uma vantagem competitiva e proliferam além dos níveis usuais.

Exemplos:

- Remoção de competidores: *Clostridium difficile*;
- Deslocamento do sítio normal no corpo humano (e.g. *Staphylococcus epidermidis* em cateter);
- Indivíduos imunocomprometidos: microbiota pode multiplicar em excesso, invadir outros compartimentos e causar infecções.

Mais algumas definições...

Simbionte

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

Parasita

Causa dano ao hospedeiro

Comensal

Vive em associação sem causar dano ou benefício

Mutualista

Ambos os organismos se beneficiam

- Transições entre os modos de vida acima são possíveis e frequentes!!!!
- Mecanismo de conversão de mutualistas ou comensais em parasitas: aquisição de fatores de virulência e/ou Ilhas de patogenicidade por transferência lateral de genes

DETERMINANTES DA COLONIZAÇÃO MICROBIANA DE TECIDOS BIOLÓGICOS

- **Disponibilidade de nutrientes: qualidade e quantidade**
- **Disponibilidade do oxigênio**
- **Fluxo de fluídos da superfície epitelial**
- **Sistema de limpeza muco-ciliar**
- **Sistema imune local**
- **Presença de receptores celulares do hospedeiro**
- **Interação microbiana: competição e cooperação**
- **Variação do pH**

Evolução da microbiota intestinal

Adaptado de [Laforest-Lapoint & Arrieta \(2017\) Frontiers in Immunology](#)



Efeitos intrauterinos

Ambiente estéril, mas o bebê é exposto a:

- Metabólitos microbianos
- Resposta imune da mãe aos microorganismos

O diâmetro dos círculos nos painéis à direita é proporcional à abundância de cada grupo



Nascimento

Tempo de gestação

Prematuro Normal

- | | |
|-----------------------------|---|
| ● <i>Bacillus</i> | ● |
| ● <i>Clostridium</i> | ● |
| ● <i>Enterobacteriaceae</i> | ● |
| ● <i>Haemophilus</i> | ● |
| ● <i>Staphylococcus</i> | ● |
| <i>Bifidobacterium</i> | ● |
| <i>Streptococcus</i> | ● |
| <i>Bacteroides</i> | ● |

Parto

Normal Cesária

- | | |
|-----------------------------|---|
| ● <i>Bacteroidetes</i> | ● |
| ● <i>Clostridium</i> | ● |
| ● <i>Enterobacteriaceae</i> | ● |
| ● <i>Streptococcus</i> | ● |
| <i>Staphylococcus</i> | ● |
| ● <i>Haemophilus</i> | ● |



Amamentação

Leite materno Fórmula

- | | |
|-----------------------------|---|
| ● <i>Bifidobacterium</i> | ● |
| ● <i>Lactobacillus</i> | ● |
| ● <i>Enterobacteriaceae</i> | ● |
| ● <i>Streptococcus</i> | ● |
| <i>Bacteroides</i> | ● |

Leite materno propriedades

- Água: 88%
- Lactose: 7%
- Gordura: 4%
- Proteína: 1%
- Fosfato de cálcio
- pH ácido inibe o crescimento de *Bacteroides*, *Clostridium* e *Escherichia coli*.



Alimentos sólidos

Desmame

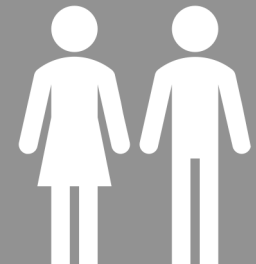
<12 mo >12mo

- | | |
|--------------------------|---|
| ● <i>Bacteroides</i> | ● |
| ● <i>Bifidobacterium</i> | ● |
| ● <i>Roseburia</i> | ● |
| ● <i>Clostridium</i> | ● |
| ● <i>Anaerostipes</i> | ● |
| <i>Lactobacillus</i> | ● |
| <i>Collinsella</i> | ● |
| <i>Megasphaera</i> | ● |
| <i>Veillonella</i> | ● |

Quantidade de fibras

Low High

- | | |
|------------------------|---|
| ● <i>Firmicutes</i> | ● |
| ● <i>Bacteroidetes</i> | ● |

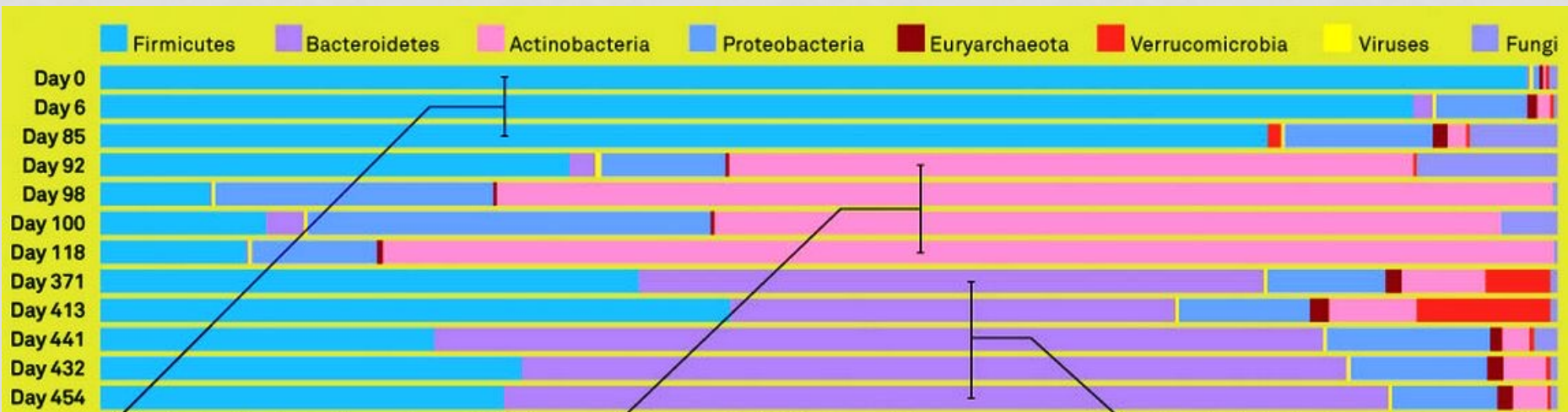


Adultos

- Dietas variadas
- Relativamente estável
- 60% da cepas mantidas por 5 anos ou mais
- Actinobactérias e Bacteroidetes estão entre os grupos mais estáveis

Alterações na microbiota intestinal

Primeiro ano de vida



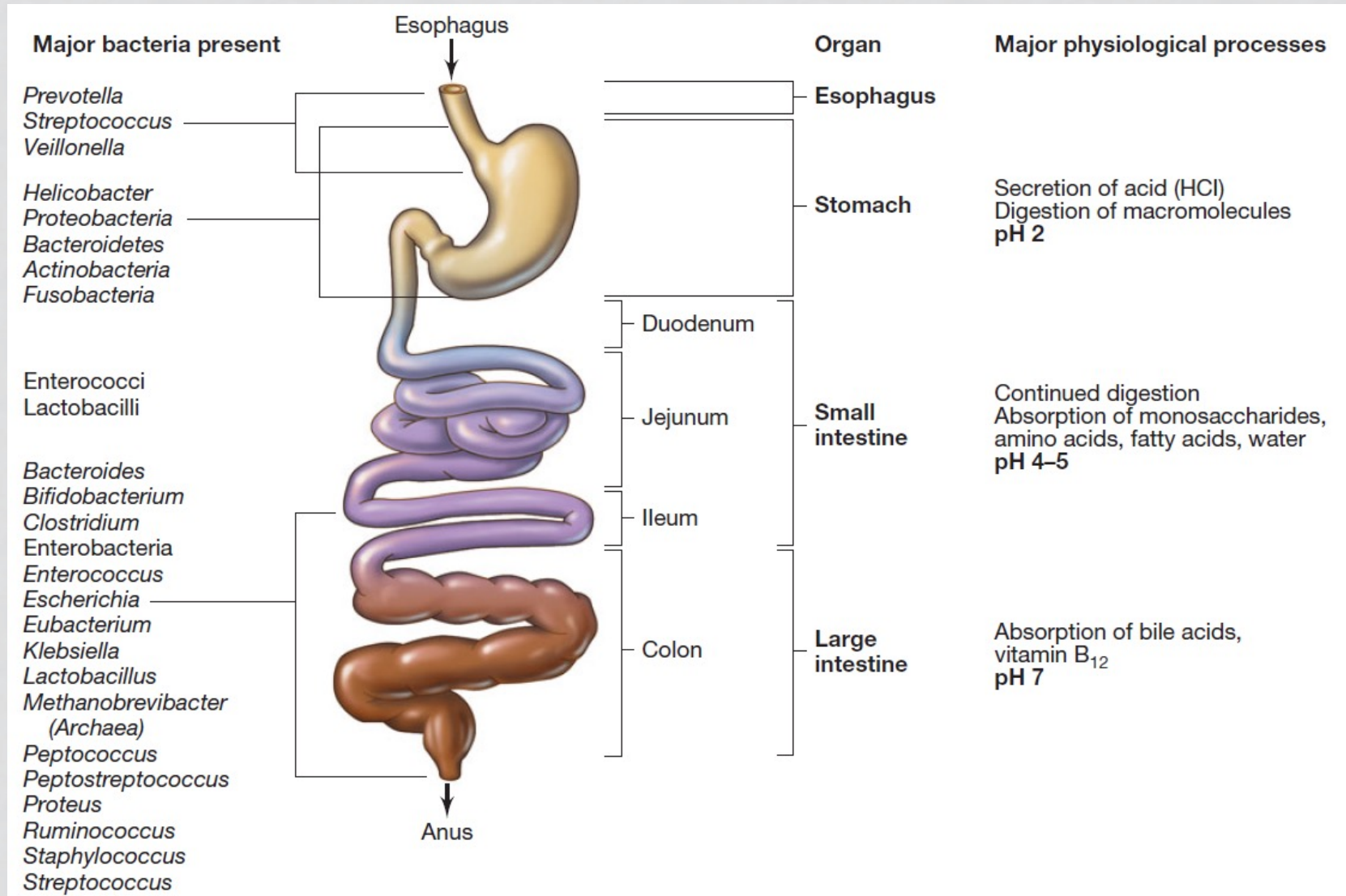
Firmicutes dominam o intestino do recém-nascido: *Lactobacillus* do leite

Actinobacterias se tornam comuns, talvez por causa de uma febre por volta do 92º dia

O bebê começa a ingerir frutas e cereal de arroz e **Bacteroidetes** adaptados à digestão de material vegetal passam a dominar

Este exemplo mostra os resultados de um estudo da evolução da microbiota intestinal (fezes) de um bebê ao longo do primeiro ano de vida

Distribuição de microrganismos no trato gastrointestinal de adultos



Microbiota Anaeróbia Fecal de humanos

1. ***Bacteroides*** (10^{11} /g peso seco fezes)

2. ***Eubacterium*** (10^{10} /g p.s.f.)

3. ***Peptococcaceae*** (10^{9-10} /g p.s.f.)

Ruminococcus, Coprococcus, Peptostreptococcus

4. ***Bifidobacterium*** (10^9 /g p.s.f.)

5. ***Clostridium*** (10^{8-9} /g p.s.f.)

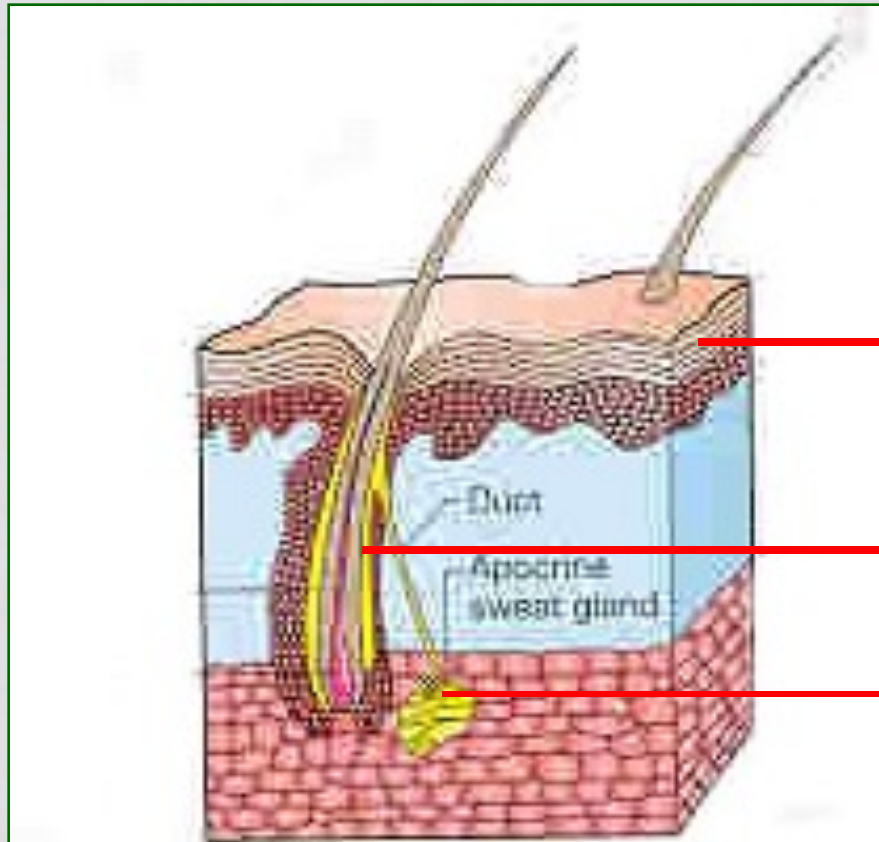
6. **Outros**

Lactobacillus, Megasphaera, Veillonella, Butyrivibrio, Succinovibrio, Succinomonas, Selenomonas, Anaerovibrio, Lachnospira e Treponema

7. **Facultativos** ($< 10^8$ /g p.s.f.)

Coliformes, estreptococos e lactobacilos

Microbiota da pele



Estrato córneo

Folículo piloso

Glândula sebácea

$10^4 - 10^6$ bactérias/cm²

S. epidermidis

S. aureus

Corynebacterium spp.

Streptococcus spp.

Propionibacterium spp.

Microbiota - Função

- Biofilme protetor:
 - Competição com bactérias patogênicas por sítios de adesão e microambientes (antagonismo microbiano);
- Ativamente envolvida na regulação imune e na homeostase;
- Exerce funções-chave no metabolismo do hospedeiro, auxiliando na digestão e absorção de alimentos;

Exemplo

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.

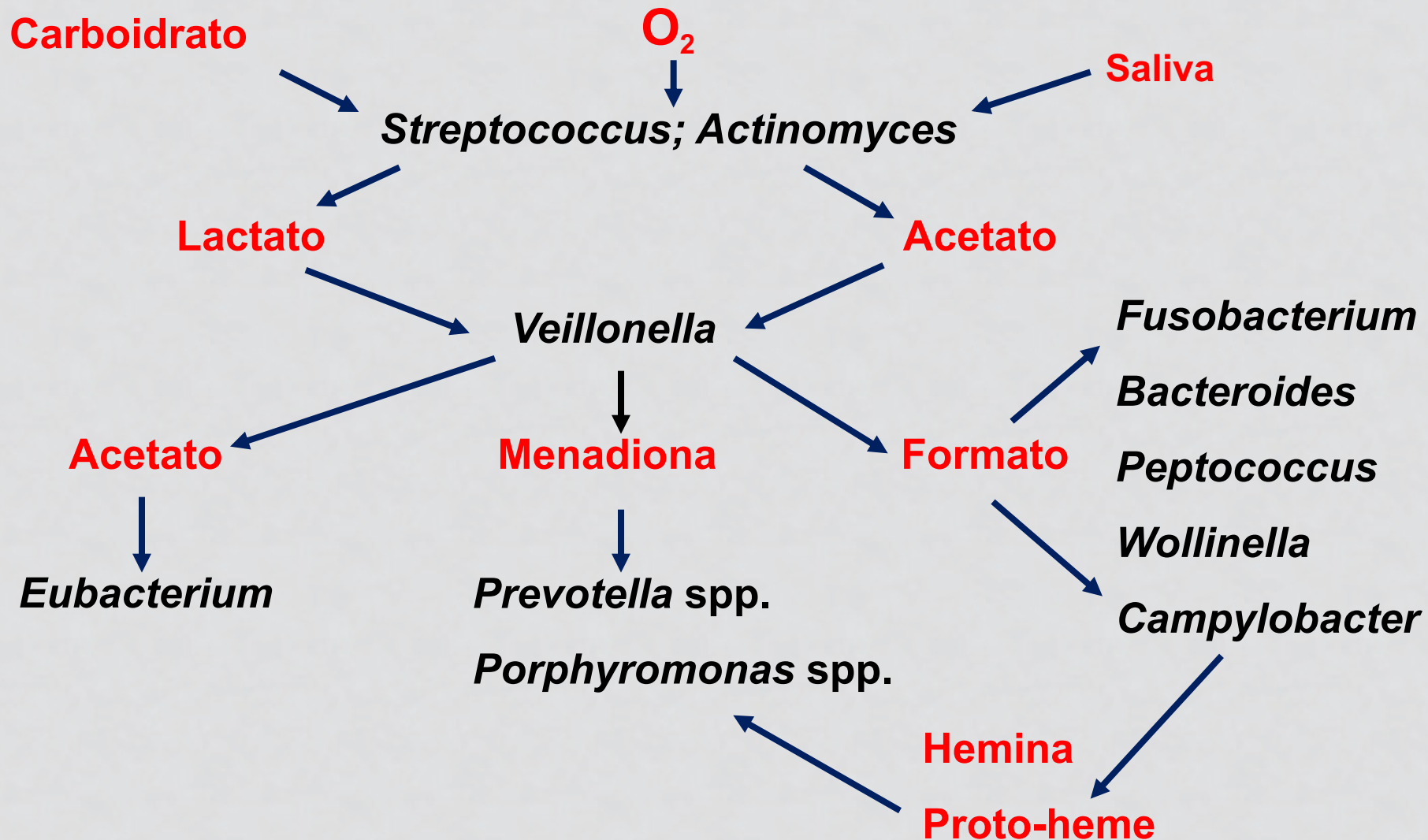
Alterações no pH 3,5-4,5, permite o crescimento de fungos e outras bacterias.

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 humana

Interações nutricionais



Disbioses

Desequilíbrio na microbiota contribui ou dá origem a doenças

Fatores que influenciam o equilíbrio da microbiota

Independente do comportamento do hospedeiro

Condições ambientais

Imunidade

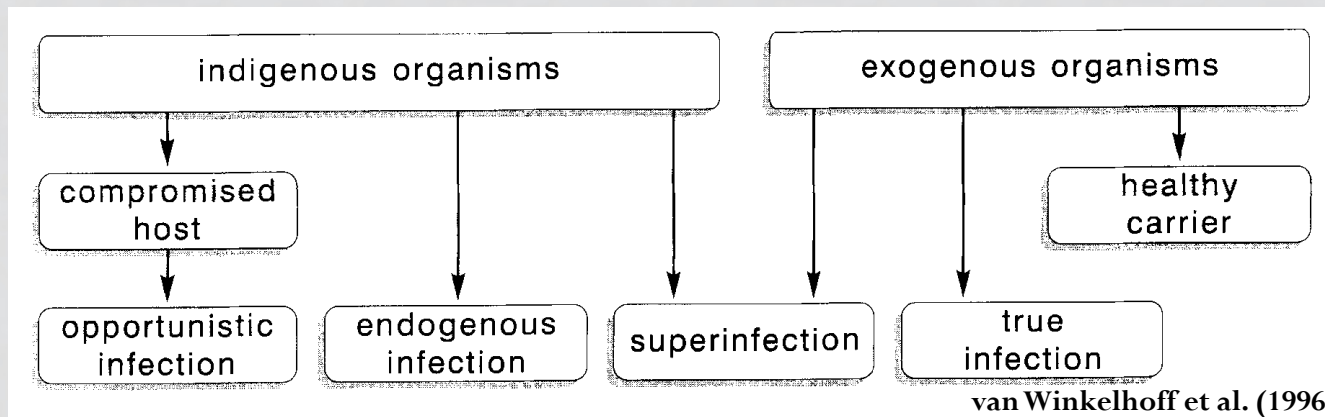
Presença de patógenos

Fatores comportamentais

Higiene

Dieta

Uso de Antimicrobianos



Microbiota

Espécies potencialmente patogênicas



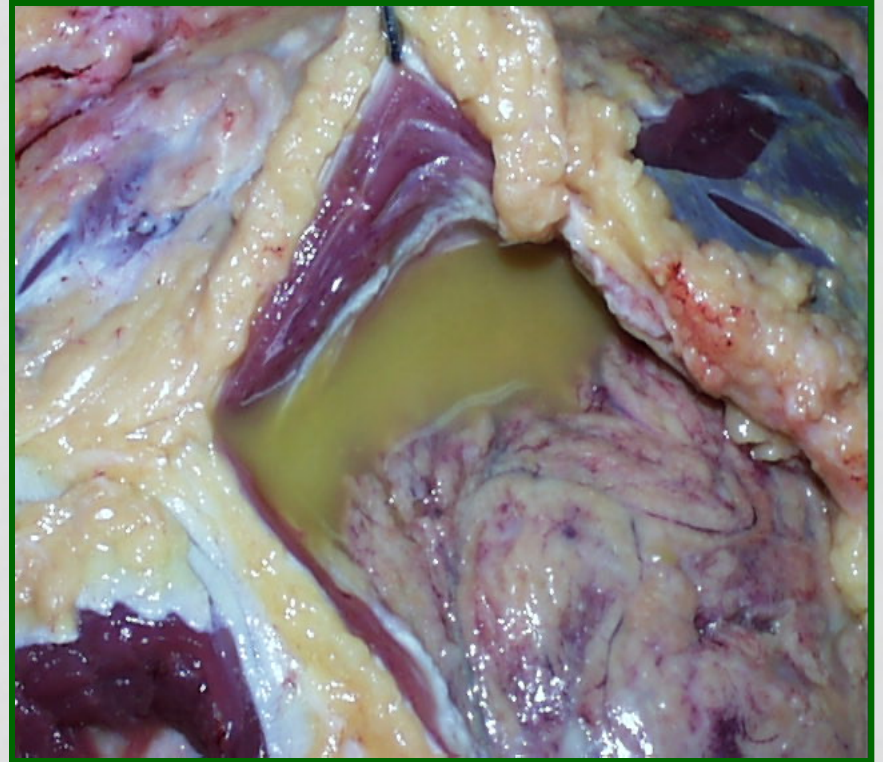
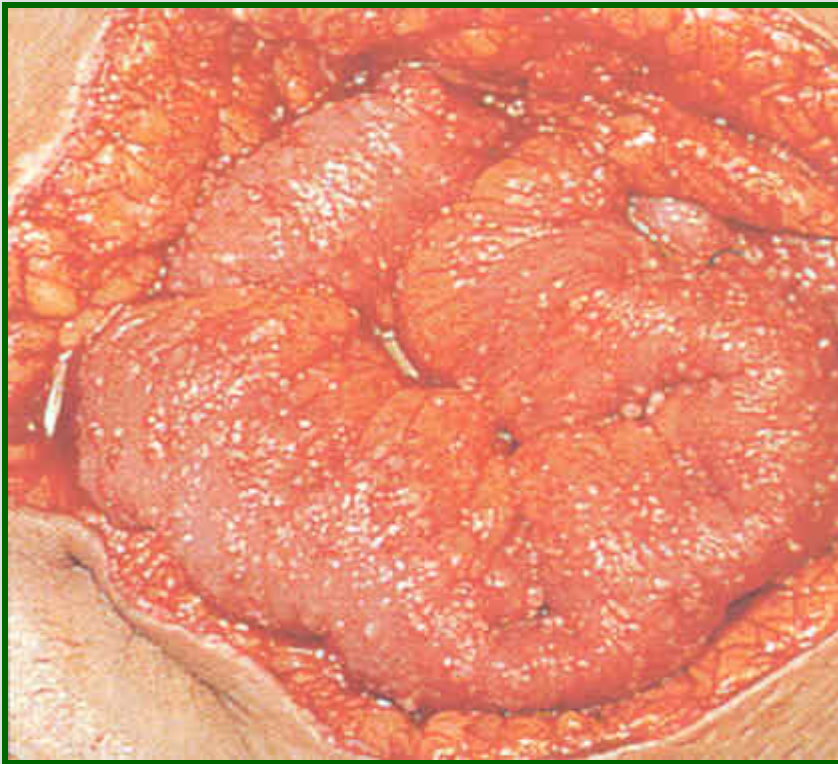
BACTERIUM	Lower Intestine
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	+
<i>Staphylococcus aureus</i> *	++
<i>Streptococcus mitis</i>	+/-
<i>Enterococcus faecalis</i> *	++
<i>Streptococcus pyogenes</i> *	+/-
<i>Veillonellae sp.</i>	+/-
<i>Enterobacteriaceae</i> * (<i>Escherichia coli</i>)	++
<i>Proteus sp.</i>	+
<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

Disbiose: participação da microbiota em doenças

Invasão de compartimentos estéreis por espécies da microbiota

Bacteroides fragilis

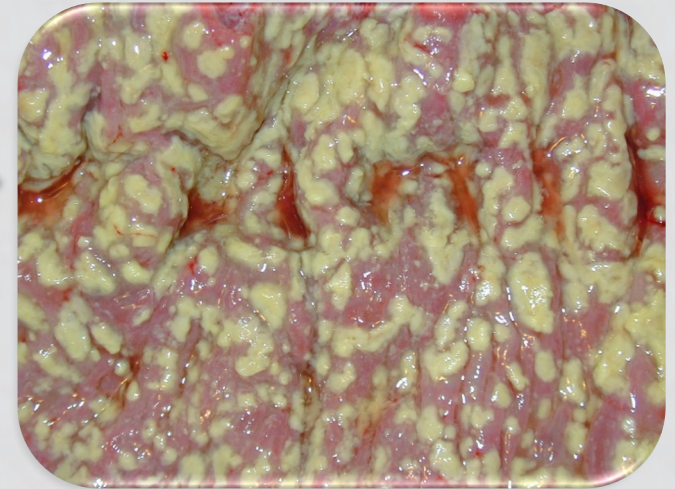


Peritonite: extravasamento de material contaminado da luz intestinal para o cavidade abdominal (peritônio)

Microbiota intestinal

novos vínculos com doenças e disbioses emergentes

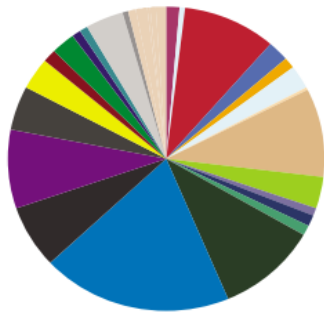
- Colite pseudomembranosa
- Colite ulcerativa →
- Síndrome do intestino irritável
- Doença inflamatória intestinal
- Síndromes metabólicas
- Obesidade ↘
- Diabetes
- Esclerose múltipla
- Sintomas de Parkinson
- Alergia e auto-imunidade



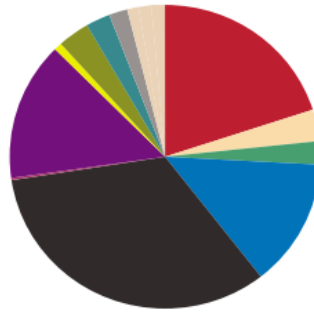
Diversidade Bacteriana na Doença

B. ovatus
B. vulgatus

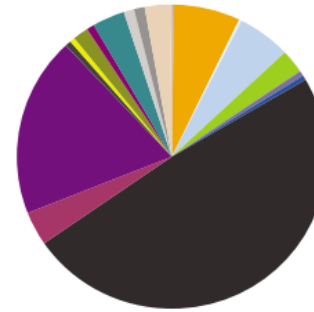
Twin study of Crohn's disease
J Dicksved *et al*



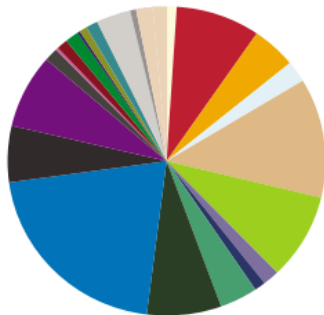
H (4a)



CD (18a)

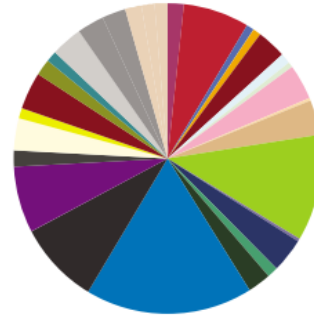


CD (15a)



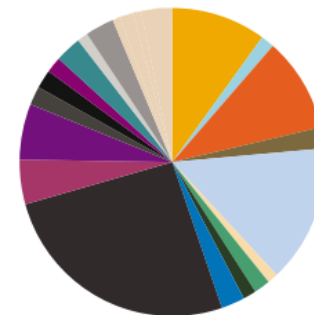
H (4b)

Healthy



H (18b)

Discordant



CD (15b)

Concordant

B. uniformis

Chron disease: gêmeos monozigóticos

Microbiota no tratamento/prevenção 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

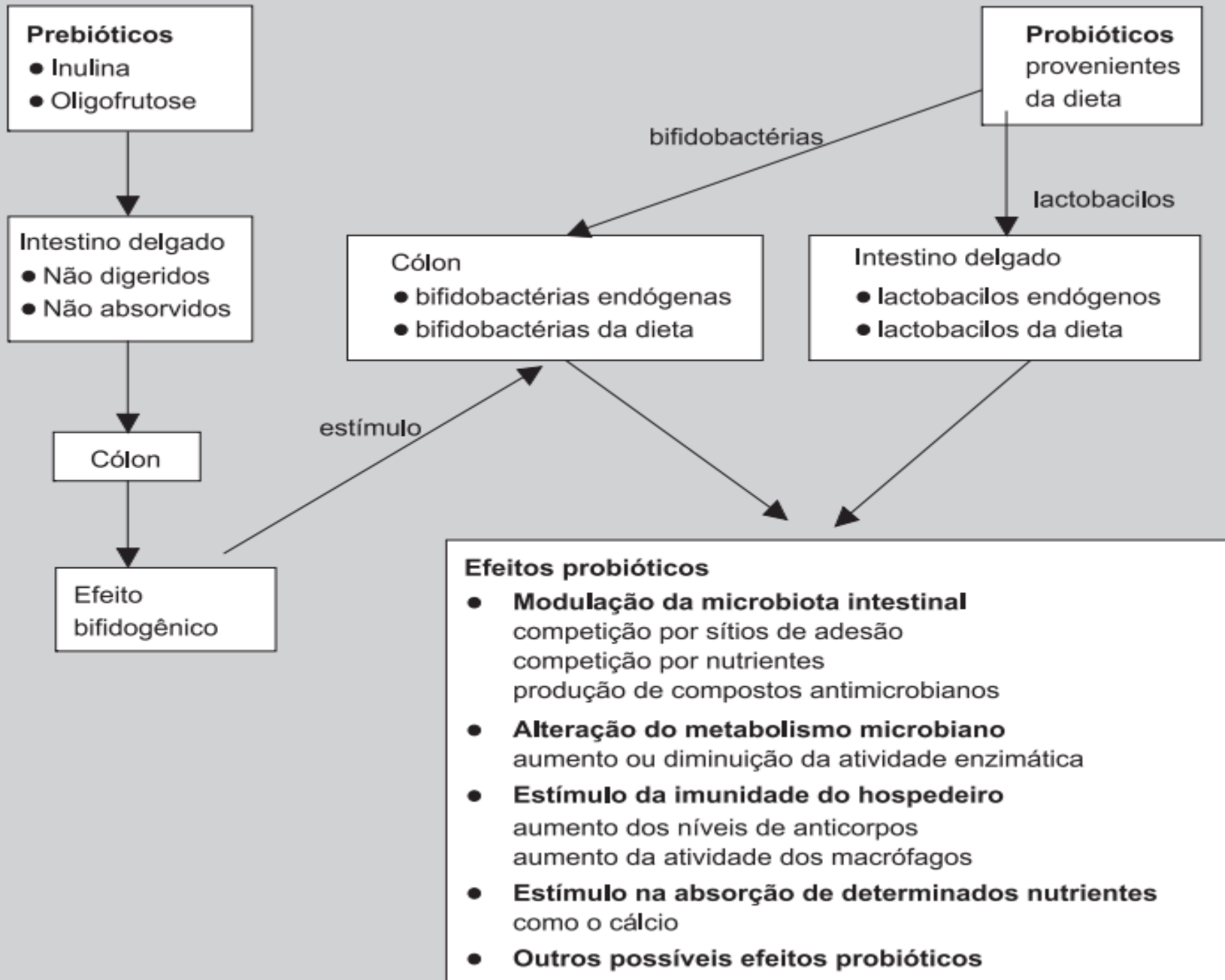
Alimentos “pró-bióticos” contêm bactérias vivas como suplemento alimentar, o que melhora o equilíbrio da microbiota intestinal, trazendo benefícios ao hospedeiro (Fuller 1989).

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



Prebióticos

- Inulina
- Oligofrutose

Intestino delgado

- Não digeridos
- Não absorvidos

Cólon

Efeito bifidogênico

Probióticos provenientes da dieta

bifidobactérias

lactobacilos

Cólon

- bifidobactérias endógenas
- bifidobactérias da dieta

Intestino delgado

- lactobacilos endógenos
- lactobacilos da dieta

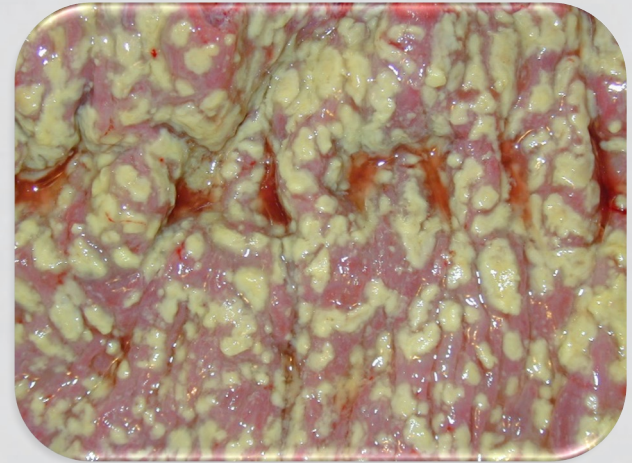
estímulo

Efeitos probióticos

- **Modulação da microbiota intestinal**
competição por sítios de adesão
competição por nutrientes
produção de compostos antimicrobianos
- **Alteração do metabolismo microbiano**
aumento ou diminuição da atividade enzimática
- **Estímulo da imunidade do hospedeiro**
aumento dos níveis de anticorpos
aumento da atividade dos macrófagos
- **Estímulo na absorção de determinados nutrientes**
como o cálcio
- **Outros possíveis efeitos probióticos**

Microbiota no tratamento Transplante Fecal (FMT)

- **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.



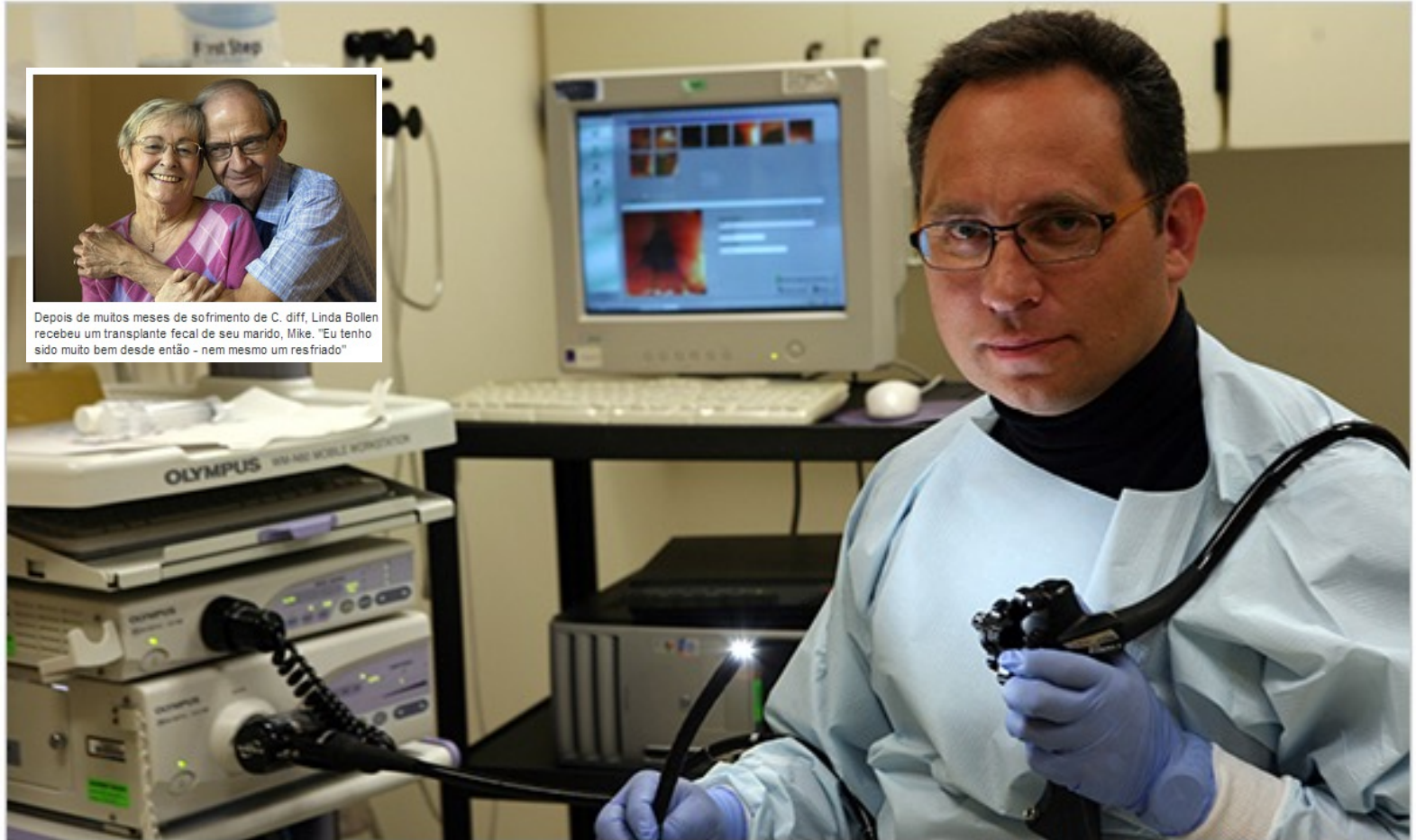
A substituição de componentes em falta (vitaminas, etc.) e a produção de produtos antimicrobianos pela “nova microbiota” tendem a ser os mecanismos de cura

*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



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"



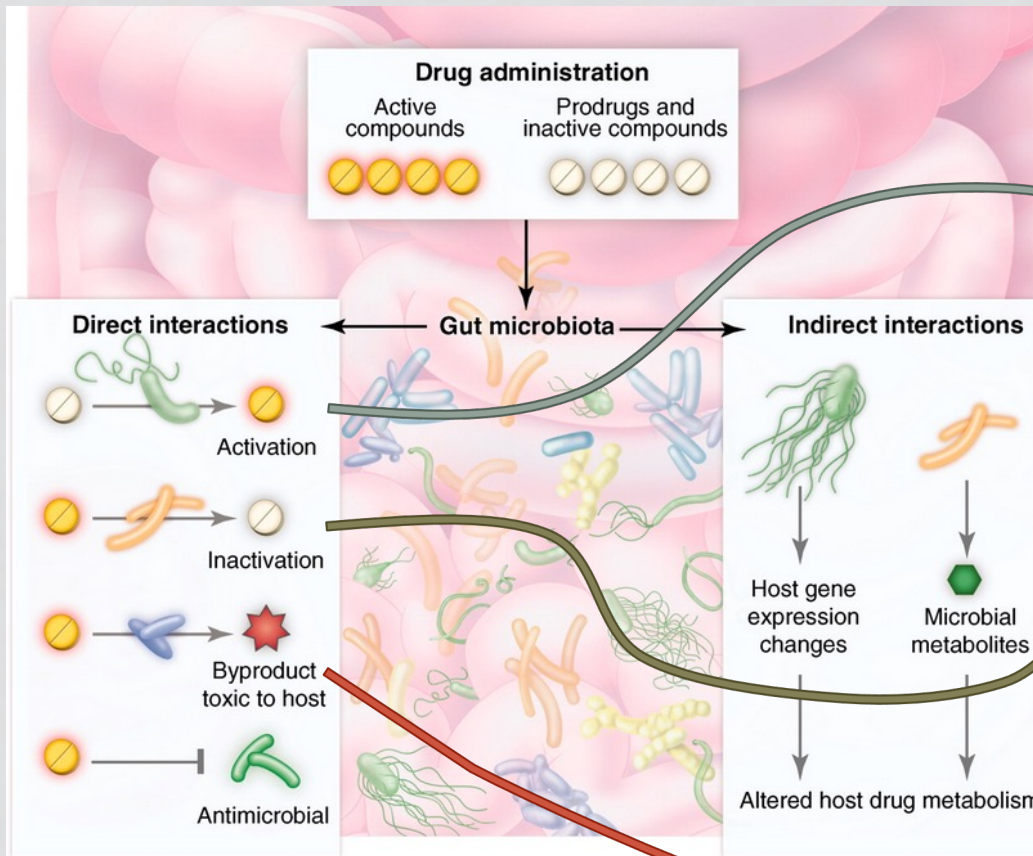
Allen Brisson-Smith for The New York Times

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.

Interações da microbiota com medicamentos

Exemplos



A presença de certos organismos na microbiota do paciente afeta o resultado da terapia

Sulfassalazina
(anti-inflamatório)
(azoredutases)

↓
ácido 5-amino-salicílico

↓
Digoxina
(tratamento de insuficiência cardíaca)
(ligação dupla no anel de lactona)
Eggerthella lenta

↓
Levodopa (Parkinson)

Descarboxilação – passagem barreira hemato-encefálica
Biotransformação no intestino

Is It Time for a Metagenomic Basis of Therapeutics?

Therapeutic Modulation of Microbiota-Host Metabolic Interactions.

Projeto Microbioma Humano

"Indivíduo Saudável"

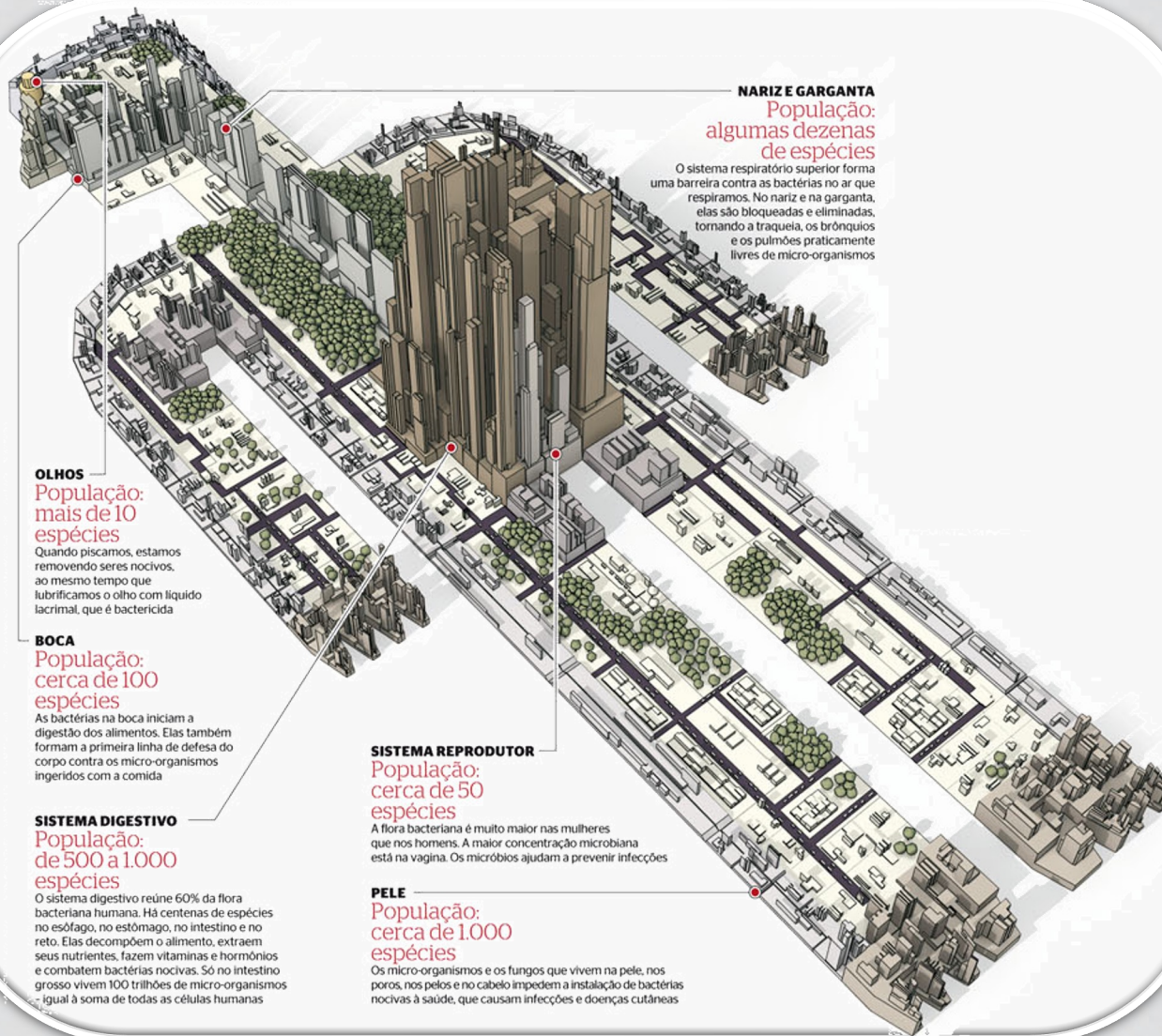
- 100 trilhões de microrganismos
- 10 vezes mais células procariontes
- 1-3% do peso corporal
- Mais de 10.000 espécies microbianas
- Genoma humano possui 22.000 genes
- Microbioma contribui cerca de 8 milhões de genes
- 360 vezes mais material genético

80-95% não cultiváveis *in vitro*

O Programa:
\$173 milhões
300 indivíduos saudáveis
18 locais de coleta no corpo
7 anos (2007 – 2014)
80 Universidades



Metrópole bacteriana



Human Microbiome Project
2007-2014

Metagenômica oral

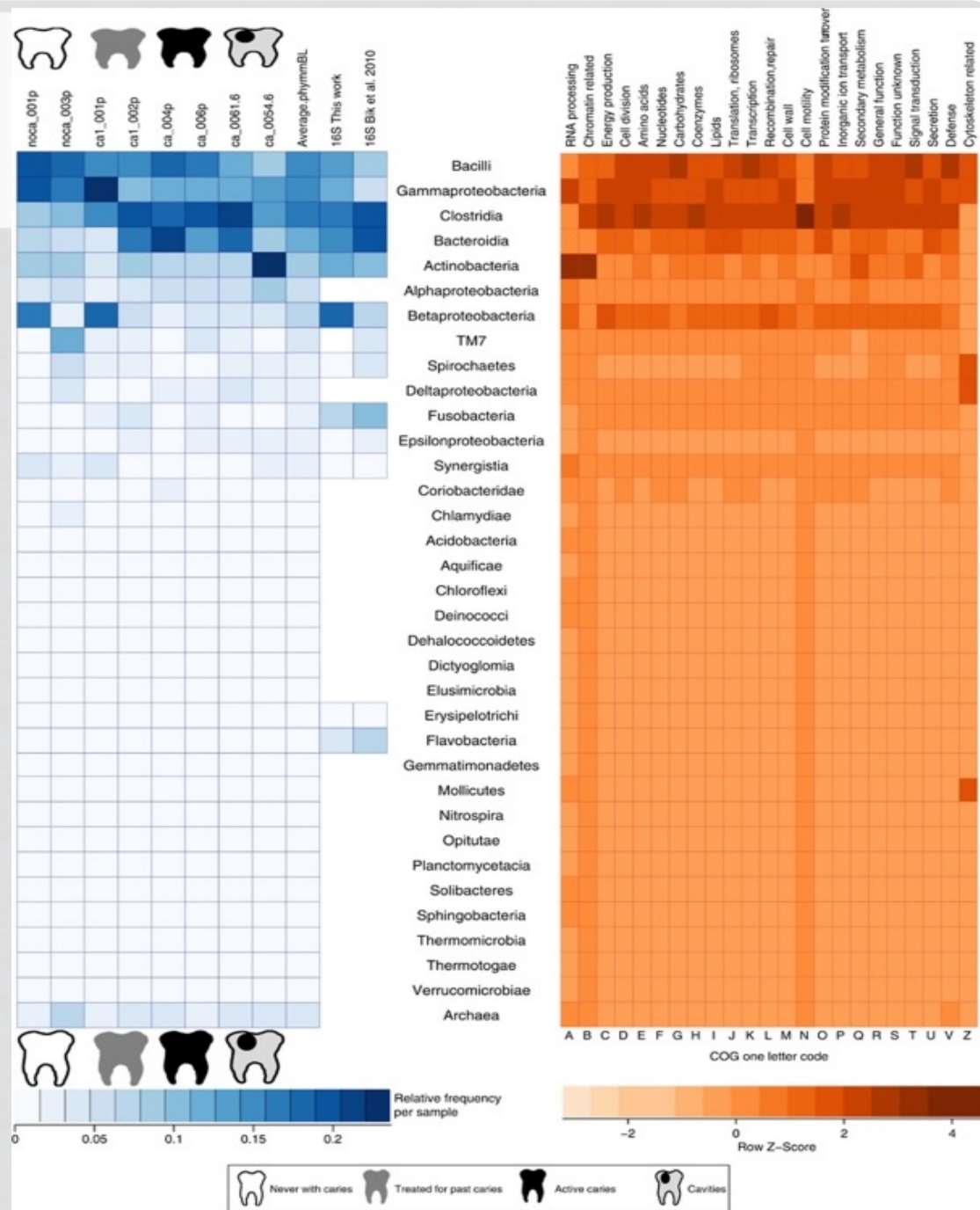
Diversidade de bactérias da cavidade oral (1Gbp sequenciados).

À esquerda: diversidade taxonômica na amostra (frequência relativa dos taxons)

À direita: contribuição relativa de cada grupo para o repertório de genes codificantes do ecossistema bucal

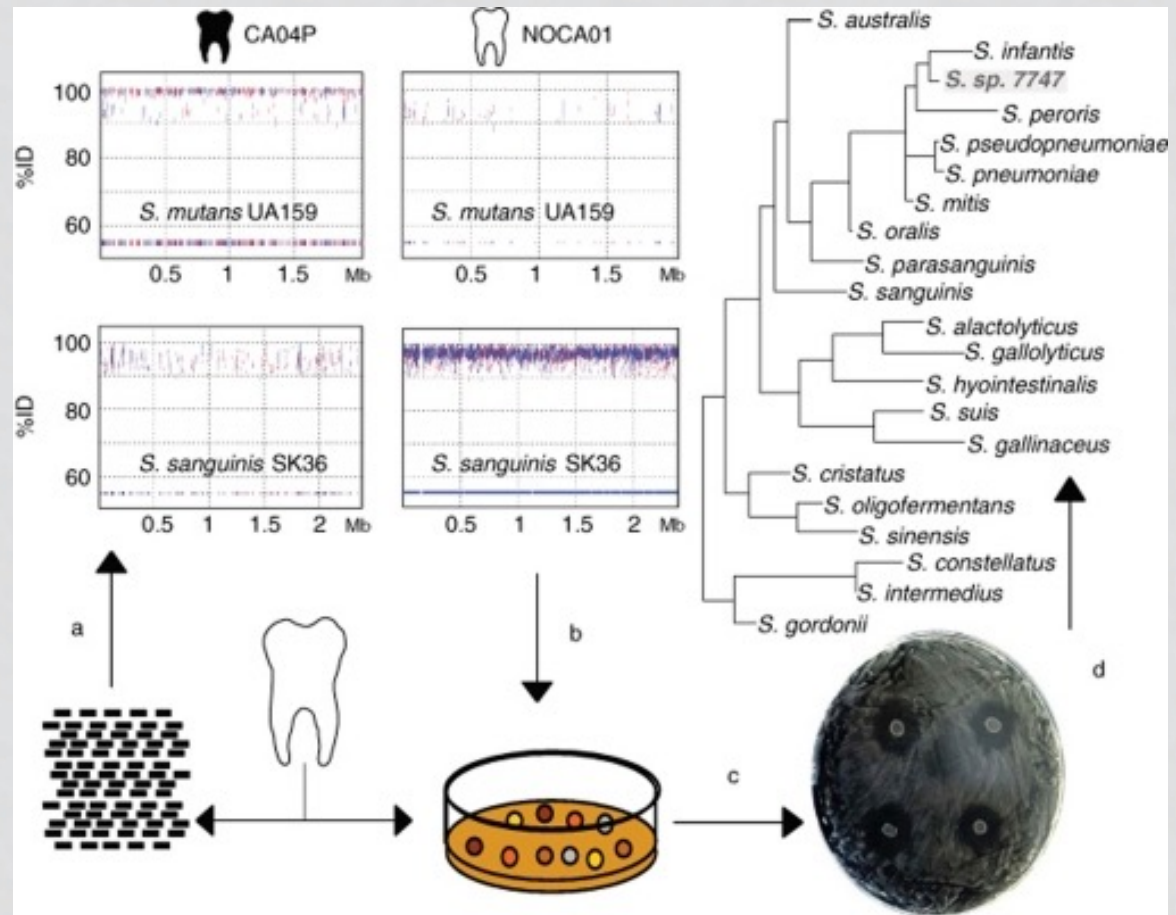
A análise revelou que indivíduos saudáveis possuem microbiota bucal com excesso de genes para **percepção da população** ("quorum sensing") e **peptídeos antimicrobianos**

Belda-Ferre *et al* (2012) **The oral metagenome in health and disease**. ISME J. 2012 January; 6(1): 46–56. doi: 10.1038/ismej.2011.85



Metagenômica oral

- Os autores procuraram bactérias com atividade anti-cárie entre as bactérias menos frequentes na boca de indivíduos doentes e mais abundantes na boca dos saudáveis.
- Encontraram uma linhagem de *S. sanguinis* nos pacientes saudáveis

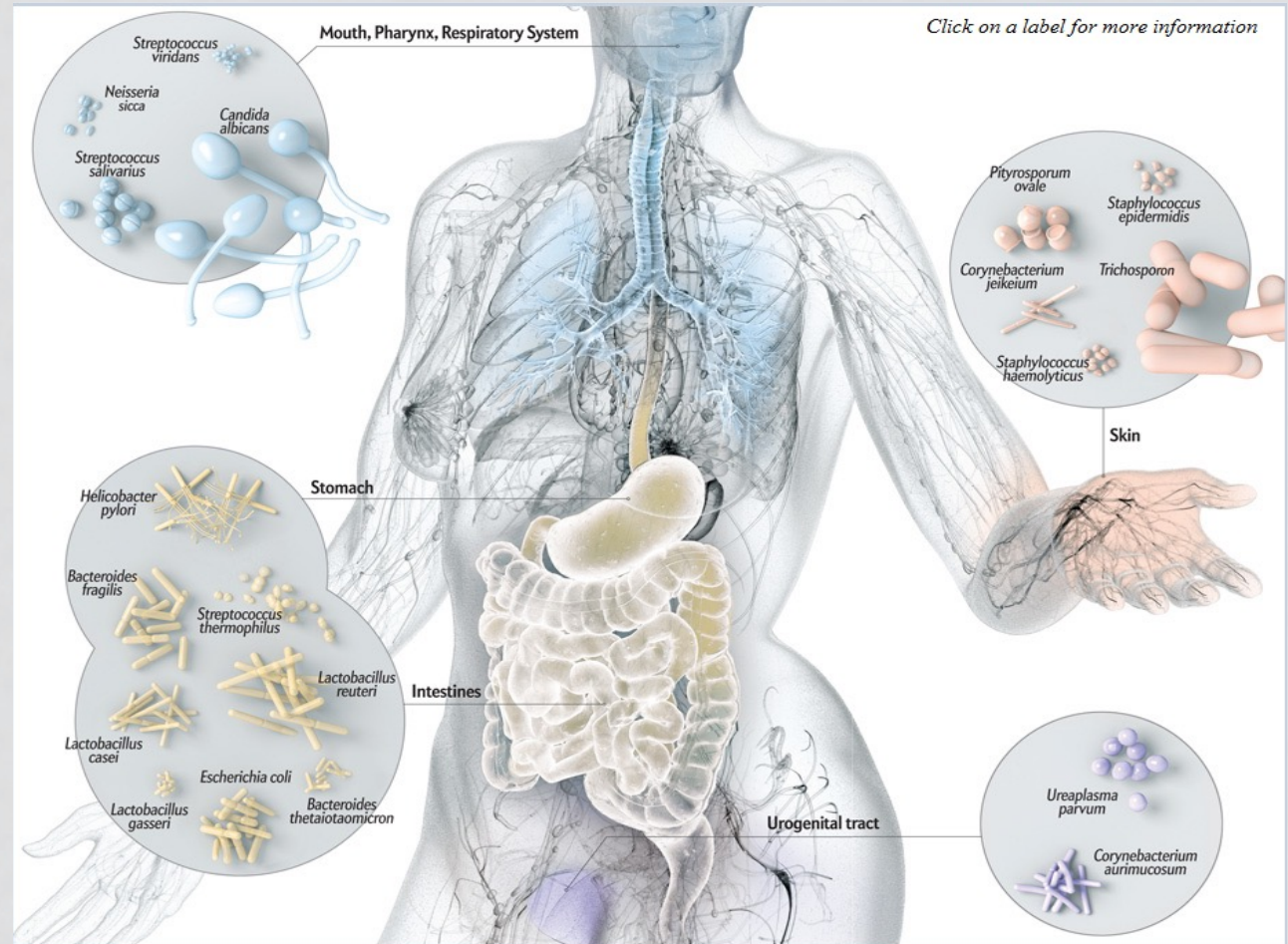


Belda-Ferre *et al* (2012) **The oral metagenome in health and disease.**
ISME J. 2012 January; 6(1): 46–56. doi: 10.1038/ismej.2011.85

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

Referências

- **Microbiota humana**
 - Microbiologia Médica (Murray, Rosenthal & Pfaller, 7a. Edição)
 - **Capítulo 2: Flora Microbiana Comensal e Parogênica em Humanos**
 - Microbiologia (Trabulsi & Alterthum, 4a. Edição)
 - Capítulo 12: Microbiota ou Flora Normal do Corpo Humano

Bibliografia adicional

- 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);