

MICROBIOTA NORMAL

META

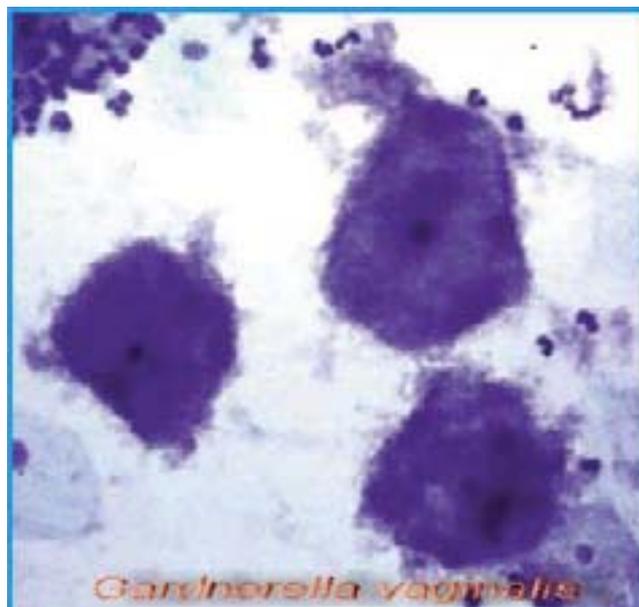
Introduzir o conceito sobre microbiota normal, importante na compreensão da relação ser vivo versus microrganismo.

OBJETIVOS

Ao final desta aula, o aluno deverá
definir os termos microbiota normal ou residente e microbiota transitória
conceber a origem da microbiota normal
entender as funções da microbiota normal sobre o hospedeiro humano
compreender os efeitos de agentes antimicrobianos sobre a microbiota normal
e relacionar a distribuição da microbiota normal por região anatômica.

PRÉ-REQUISITOS

Para acompanhar esta aula você deverá ter conhecimentos de fisiologia de microrganismos.



A Gardnerella vaginalis é uma bactéria que faz parte da flora vaginal normal de 20 a 80% das mulheres sexualmente ativas. Nosso organismo, a partir do nascimento, entra em contacto com germes (bactérias, vírus, fungos etc.) os quais vão se localizando na pele e cavidades (boca, vagina, uretra, intestinos etc.) caracterizando o que se chama de Flora Microbiana Normal. Normal porque é inextirpável e porque estabelece um equilíbrio harmônico com o nosso organismo. Quando, por um desequilíbrio dessa flora, ocorre um predomínio dessa bactéria temos um quadro que convencionou-se chamar de vaginose bacteriana.
(Fonte: <http://www.marcobueno.net/>)

INTRODUÇÃO

Em Ecologia, denomina-se microbiota o conjunto de microrganismos que habitam um ecossistema, como bactérias, fungos e alguns protozoários, que geralmente têm funções importantes na decomposição da matéria orgânica e, portanto, na reciclagem dos nutrientes.

Já em Medicina Humana e Medicina Veterinária pode-se considerar microbiota normal ou residente uma população microbiana associada de forma estável com a pele e mucosas do hospedeiro, que permanece residente ao longo de sua vida.

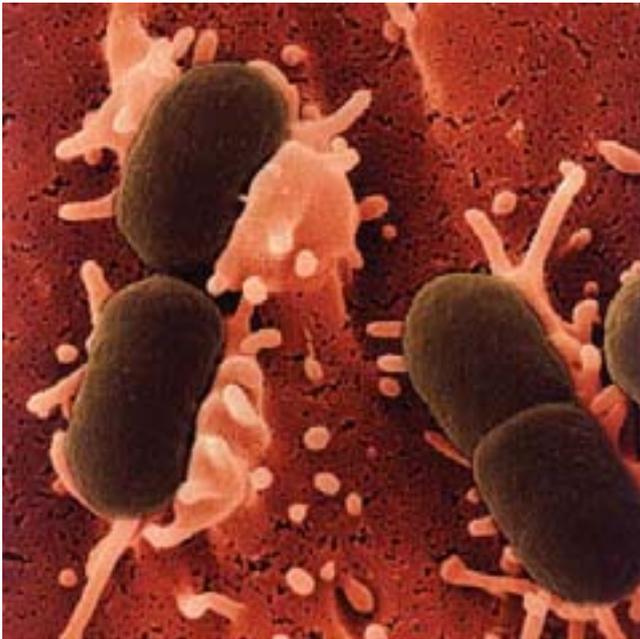
Logo após o nascimento, as partes do corpo expostas ao ambiente externo, como a pele e as mucosas – que em condições fetais são estéreis – rapidamente sofrem colonização por diversos microrganismos. Esses se distribuem quantitativa e qualitativamente, de maneira não uniforme, compondo, assim, a microbiota normal, que permanece se desenvolvendo sucessivamente no indivíduo até o fim de sua vida. Assim, cada região habitada do organismo possui uma microbiota com características próprias. A natureza do ambiente local – como temperatura, pH e disponibilidade de oxigênio, água e nutrientes – é o principal fator determinante dessa composição, enquanto, outros fatores – como atividade peristáltica, saliva, secreção de lisozima e imunoglobulinas – controlam a composição da microbiota. Os órgãos internos e o sistema circulatório são estéreis, não possuindo, portanto, microbiota. Os microrganismos que colonizam o hospedeiro durante algumas horas ou semanas, mas não de forma permanente, são denominados microbiota transitória.

Ainda que a maioria dos componentes da microbiota normal seja inofensiva a indivíduos saudáveis, esta pode constituir um reservatório de bactérias potencialmente patogênicas. Em função desta dualidade, o conjunto de microrganismos associados com eucariotos superiores, por meio de relações mutualísticas (benéficas), comensais (neutras) ou parasíticas / oportunistas (prejudiciais) é referido como microbiota anfibiótica.

Em condições normais, estas populações encontram-se em equilíbrio, porém, em condições adversas – como indivíduos imunocomprometidos devido a fatores como infecção pelo vírus HIV, uso de antibióticos, terapia imunossupressora de transplantados, radioterapia, quimioterapia ou perfurações das mucosas – a microbiota residente pode ser incapaz de suprimir patógenos transitórios ou mesmo alguns membros da microbiota podem agir como oportunistas e invadir os tecidos do hospedeiro causando doenças muitas vezes graves. Algumas bactérias da microbiota oral (*Streptococcus* spp.) causam cáries em 80% da população.

Outro fato relevante, que reflete o potencial de patogenicidade de amostras bacterianas pertencente à microbiota normal é a possibilidade da aquisição de elementos genéticos móveis como plasmídios, transposons,

ilhas de patogenicidade, fagos, através de transferência horizontal de genes. Esses podem transportar genes que codificam fatores de virulência e/ou resistência a antimicrobianos, por exemplo, a aquisição de fatores de aderência pode favorecer a persistência dentro de um dado nicho ou adaptação a um novo habitat, como uma linhagem de *E. coli* não patogênica no intestino e associada a infecções do trato urinário, e, linhagens septicêmicas de *E. coli* e *Klebsiella* sp.



Coli
(Fonte: <http://laspghan.org>).



Klebsiella sp
(Fonte: <http://media-2.web.britannica.com>).

Só foi possível comprovar que a microbiota influencia substancialmente na vida do hospedeiro, após a utilização de animais axênicos, ou seja, germ-free (ratos, camundongos, coelhos, macacos e aves) fossem utilizados. Durante vários anos têm-se tirado vantagem desta tecnologia para tornar mais simples os estudos do ecossistema intestinal.

Animais germ-free são livres de quaisquer microrganismos e, podem ser colonizados com bactérias ou simbiontes conhecidos, durante ou após o nascimento. Os animais germ-free são obtidos por cesariana, em condições estéreis, e após o parto são mantidos em um local livre de quaisquer microrganismos. São ótimos modelos de estudo para entender a relação entre hospedeiro e microrganismos. Estes animais não são anatômica e fisiologicamente normais, já que apresentam tecido linfático pouco desenvolvido, parede do epitélio intestinal fina, ceco, quando presente, estendido, e baixo título de anticorpos. Além disso, devem receber suplemento alimentar com vitamina K e complexo B. Tais animais também apresentam baixa taxa de metabolismo e baixo batimento cardíaco.

Outro fato observado é que estes animais são normalmente mais susceptíveis a patógenos. Com a ausência da microbiota normal intestinal, bactérias estranhas e aquelas patogênicas se estabelecem facilmente. O número de bactérias necessárias para infectar animais germ-free e causar doença é também é bem menor. De maneira contraditória, tais animais são completamente resistentes ao parasito intestinal, *Entamoeba histolytica*, causadora de desintéria. Tal resistência é pelo fato da ausência da bactéria que este parasito usa como fonte de alimento. Animais germ-free não tem cárie nem formação de placa, porém quando inoculados com agentes causadores da cárie, estreptococos (grupo *Streptococcus mutans* e *S. gordonii*) e altas doses de sacarose, eles desenvolvem cárie.

PRINCIPAIS BENEFÍCIOS PRODUZIDOS PELA MICROBIOTA NORMAL HUMANA

A microbiota é multifuncional, incluindo a capacidade de:

- auxiliar na digestão de polissacarídeos vegetais, na biotransformação de conjugados ácidos da bile e na degradação de oxalatos;
- sintetizar e excretar vitaminas, como ocorre com bactérias entéricas, que produzem vitaminas K e B12, e bactérias do ácido lático, que produzem outras vitaminas do complexo B;
- impedir a colonização por patógenos, através da competição por sítios e nutrientes essenciais;
- antagonizar outras bactérias, por meio de síntese de substâncias inibidoras ou letais contra espécies não pertencentes à microbiota normal;
- promover o desenvolvimento de tecidos, como o ceco e tecido linfático (Placa de Peyer) no trato gastrointestinal;

- estimular a produção de anticorpos “naturais”, em baixos níveis, contra os componentes da microbiota normal, e que são capazes de reconhecer cruzadamente patógenos relacionados, e,
- ajudar o sistema imune na apresentação de antígenos, o que torna o organismo mais tolerante a alguns determinantes imunológicos, reduzindo assim as respostas alérgicas a comida e antígenos ambientais.

AQUISIÇÃO DA MICROBIOTA NORMAL HUMANA

Todo ser humano nasce isento de microrganismos. A aquisição da microbiota bacteriana envolve uma transmissão horizontal de microrganismos. A colonização de superfícies expostas como pele, e mucosas dos tratos respiratório, geniturinário e gastrointestinal, começa imediatamente após o nascimento, seja durante o parto normal, cesariana ou amamentação. Padrões de alimentação, hospitalização e tratamento com antimicrobianos são fatores que afetam a composição da microbiota intestinal em crianças.

Do nascimento até a morte somos colonizados por um grupo diverso, complexo e dinâmico de microrganismos. A criança entra em contato com os microrganismos da mãe durante a passagem pelo canal vaginal e através do próprio ambiente hospitalar. As que nascem de cesariana têm este último fator como elemento primordial. A população bacteriana desenvolve-se logo no primeiro dia de vida e quando nos tornamos adultos a nossa população bacteriana já excede nosso número total de células somáticas e sexuais. Vários fatores determinam a composição da microbiota em uma região do corpo, dentre eles estão o pH, temperatura, potencial redox, oxigênio e níveis e tipos diferentes de nutrientes daquele ambiente. Outros fatores como, peristaltismo, saliva, lisozima e secreção de imunoglobulinas também ajudam a controlar e a determinar a microbiota de um determinado nicho no hospedeiro.

Nossa maior coleção de microrganismos se encontra no intestino. Acredita-se que a população da nossa microbiota intestinal seja composta de 500-1000 espécies diferentes, com uma biomassa de aproximadamente 1,5 kg. Apesar da maioria da microbiota ser de bactérias, esta também apresenta membros do grupo Archeae e Eucarea. Supondo que tenhamos 1000 espécies de bactérias compondo nosso intestino e, usando a espécie *Escherichia coli* como um representante arbitrário dessa comunidade, a quantidade total do genoma bacteriano intestinal poderia ser equivalente ao nosso próprio genoma e o número de genes pode exceder o número total de genes humanos em até 100 vezes. Joshua Lederberg, ganhador do prêmio Nobel, sugeriu o uso do termo “Microbioma” para descrever a coleção de genes bacterianos da nossa microbiota somados aos nossos genes. O genoma humano codifica cerca de 223 proteínas com homologia significativa ao genoma bacteriano, mas não ao dos organismos eucarióticos, sugerindo que esta aquisição tenha ocorrido através de transferência

horizontal de genes bacterianos de acordo com estudos do International Human Genome Sequencing Consortium, em 2001.

O ecossistema intestinal é extremamente dinâmico; aproximadamente 35 milhões de células são renovadas por minuto no intestino delgado e 2,5 milhões no cólon intestinal. Este epitélio é capaz de manter diferentes nichos, renovando os diferentes tipos celulares de maneira contínua. Em um indivíduo saudável, todos os nichos do intestino são ocupados por diferentes membros da microbiota anfibiótica. Em determinados nichos alguns microrganismos são residentes, enquanto que outros estão apenas de passagem, por períodos variáveis de tempo, vindo a perecerem, sendo por isso conhecidas como microbiota transitória. Tais considerações, juntamente com os diversos relatos a respeito do desenvolvimento do hospedeiro, genótipo do hospedeiro e fatores ambientais, influenciam na composição da microbiota e, por isso é tão difícil definir e comparar a microbiota nos diferentes nichos do intestino em uma determinada fase de um indivíduo. Apesar da dificuldade, alguns trabalhos vêm demonstrando que em adultos mais de 99,9% da microbiota aparente é de anaeróbios obrigatórios e, é predominantemente representada pelos gêneros bacterianos *Bacteroides*, *Clostridium*, *Lactobacillus*, *Fusobacterium*, *Bifidobacterium*, *Eubacterium*, *Peptococcus*, *Peptostreptococcus*, *Escherichia* e *Veillonella*. A densidade populacional de bactérias aumenta em pelo menos 8 ordens de grandeza, quanto mais próximo do cólon, mas tal número ainda precisa ser melhor definido com métodos mais precisos, como bibliotecas de sequenciamento do DNA ribossomal 16S.

Os fatores ambientais tais como dieta, condições sanitárias, poluição do ar e hábitos de higiene influenciam sobre as espécies compõem a microbiota residente de um indivíduo. Por exemplo, os lactobacilos são microrganismos que vivem comumente no intestino dos indivíduos que consomem uma grande quantidade de produtos laticínios. *Haemophilus influenzae* é uma bactéria que coloniza as vias respiratórias dos indivíduos que apresentam doença pulmonar obstrutiva crônica. Sob certas condições, os microrganismos que fazem parte da microbiota residente podem causar doença. Por exemplo, *Streptococcus pyogenes* pode habitar a orofaringe sem causar danos, mas quando ocorre um enfraquecimento das defesas do corpo ou quando os estreptococos pertencem a uma cepa particularmente perigosa, podem causar a faringite estreptocócica. De modo análogo, outros microrganismos que fazem parte da microbiota residente podem tornar-se invasores, causando doença em indivíduos cujas barreiras de defesa foram destruídas. Indivíduos com câncer de cólon são vulneráveis à invasão por microrganismos que habitam normalmente o intestino. Estes microrganismos podem deslocar-se através do sangue e infectar as válvulas cardíacas. A exposição a doses maciças de radiação também pode permitir que esses microrganismos invadam o organismo e causem uma infecção grave.

ESTABELECIMENTO DA MICROBIOTA

CONDIÇÕES

Para colonizar e permanecer no organismo as bactérias necessitam resistir a mecanismos fisiológicos e à imunidade do hospedeiro, que podem removê-las ou matá-las. Essas estratégias incluem a capacidade de adesão; resistência aos fluidos corpóreos, como a saliva e os ácidos graxos; ocupação de nichos menos expostos a resposta imune, como sulco gengival e células M do intestino e a capacidade de formar biofilme. Além disso, necessita de fatores que as permitam competirem com outros microrganismos dentro daquele sítio. Bactérias são capazes de produzir bacteriocinas e outros produtos antimicrobianos que matam competidores pelo mesmo nicho. Bactérias que vivem na pele, por exemplo, produzem ácidos graxos insaturados de cadeias pequenas que apresentam propriedades microbicidas sobre outros microrganismos, inclusive patógenos.

ESTABELECIMENTO PROPRIAMENTE DITO

Apesar de alguns microrganismos, tais como *Treponema*, vírus e alguns protozoários serem capazes de migrar através da placenta, o feto humano é normalmente estéril e a colonização pelos microrganismos que irão compor a microbiota só se inicia após o nascimento. A aquisição de uma microbiota residente ocorre em estágios, semelhante aos mecanismos de sucessão ecológica. Inicialmente dá-se a colonização da pele, seguida pela orofaringe e, posteriormente, trato gastrointestinal e outras mucosas. Os diferentes nichos do organismo humano fornecem habitats distintos com condições ambientais favoráveis que selecionam o crescimento e distribuição das populações microbianas. Dentro de comunidades bacterianas as concentrações populacionais relativas, tanto qualitativamente quanto quantitativamente, podem flutuar ao longo do tempo em resposta a numerosos fatores externos e fisiológicos do hospedeiro como idade, dieta, estado hormonal, saúde e higiene pessoal.

RELAÇÃO COM O ORGANISMO HOSPEDEIRO

As interações que existem entre bactéria e hospedeiro podem ser vistas em termos contínuos entre simbiose, comensalismo e patogenicidade, sendo que simbiose e comensalismo estariam incluídos em um mesmo grupo: mutualismo. O termo simbiose refere-se a relação entre duas espécies diferentes, onde pelo menos uma das partes é beneficiada sem causar qualquer tipo de dano a outra. Normalmente, tal relação é centrada nos

metabólitos que permitem tanto uma ou ambas as partes aproveitarem os nutrientes. O termo comensalismo vem do Latin *commensalis* e significa: “na mesma mesa” e se refere a parceiros que coexistem sem dano a nenhuma das partes, mas sem benefícios óbvios. Já uma relação patogênica ocasionaria danos para o hospedeiro. Simbiose e comensalismo têm sido visto como uma corrida onde, caso o microrganismo saia na frente ou seja, expresse os fatores de virulência, este causará algum tipo de dano ao hospedeiro vulnerável.

Os microrganismos membros da microbiota humana podem existir como (1) mutualistas, quando protegem o hospedeiro competindo por micro-ambientes de forma mais eficiente que patógenos comuns (resistência à colonização), produzindo nutrientes importantes e contribuindo para o desenvolvimento do sistema imunológico; (2) comensais, quando mantêm associações aparentemente neutras sem benefícios ou malefícios detectáveis e (3) oportunistas, quando causam doenças em indivíduos imunocomprometidos devido à infecção pelo Vírus da Imunodeficiência Humana, terapia imunossupressora de transplantados, radioterapia, quimioterapia anticâncer, queimaduras extensas ou perfurações das mucosas.

A microbiota humana constitui um dos mecanismos de defesa contra a patogênese bacteriana, mas ainda que a maioria dos componentes da microbiota normal seja inofensiva a indivíduos saudáveis, esta pode constituir um reservatório de bactérias potencialmente patogênicas. Muitas bactérias da microbiota normal podem agir como oportunistas. Nestas condições a microbiota residente pode ser incapaz de suprimir patógenos transitórios, ou mesmo, alguns membros da microbiota podem invadir os tecidos do hospedeiro causando doenças muitas vezes graves. Em indivíduos saudáveis, algumas espécies de bactérias da microbiota oral causam cáries em 80% da população.

FUNÇÕES DA MICROBIOTA NORMAL

A microbiota humana desempenha funções importantes na saúde e na doença. Os microrganismos cumprem um papel crítico na sobrevivência do homem, participando do metabolismo de produtos alimentares, provendo fatores essenciais de crescimento, protegendo contra infecções por microrganismos altamente virulentos e estimulando a resposta imune.

PARTICIPAÇÃO NO METABOLISMO E PROVISÃO DE FATORES DE CRESCIMENTO

As bactérias da microbiota intestinal facilitam a transformação e excreção de substâncias tóxicas como ácidos biliares, nitrosaminas e aminas heterocíclicas. Estes produtos são provenientes do fígado e após o seu metabolismo no

intestino, são devolvidos ao fígado, principalmente, hormônios esteróides e sais biliares. Essas substâncias são excretadas por meio da bile na forma conjugada com glucuronídeos ou sulfatos, entretanto não podem ser reabsorvidas desta forma. As bactérias produzem glucoronidasas e sulfatases que podem desconjugar esses compostos, permitindo a sua reabsorção.

Bactérias intestinais como *Escherichia coli* e *Bacteroides* sintetizam vitamina K e produtos do complexo B, sendo uma importante fonte de vitamina. Dados recentes sugerem que bactérias da microbiota intestinal podem ser importantes na degradação de carboidratos não-digeríveis pelo ser humano e que podem, ainda, influenciar no estoque energético de açúcares e gorduras. *Bacteroides thetaiotaomicron*, uma bactéria glicofílica produtora de hidrolases e liases, é encontrada na porção distal do intestino em humanos saudáveis e tem capacidade de digerir polissacarídeos contendo xilana, pectinas e arabinose, que são componentes de fibras alimentares, da dieta que normalmente não são digeridos.

PROTEÇÃO CONTRA INFECÇÕES E ESTÍMULO DO SISTEMA IMUNE

Estudos comprovam a íntima associação das condições ambientais em cada sítio anatômico com a aquisição e o estabelecimento de uma microbiota residente. Por outro lado, o crescimento microbiano nestes sítios altera as condições ambientais dos mesmos, ressaltando o papel modulador destas populações bacterianas e sua interação com o hospedeiro humano. Os produtos finais da fermentação de bactérias da microbiota intestinal (como butirato e acetaldéido) podem modificar o pH intestinal dificultando ou impedindo a colonização por patógenos. O bolo fecal, ou seja, as fezes secas, que tem cerca de 90% do seu conteúdo formado por bactérias, diminuem o tempo do trânsito intestinal e, conseqüentemente a exposição do lúmen intestinal às substâncias tóxicas naquele contidas.

As bactérias que compõem uma determinada microbiota residente são extremamente adaptadas aquele sítio e mesmo após remoção mecânica como, por exemplo, na pele, por meio de uma lavagem cuidadosa a população se restabelece num período menor que 8 horas. Só em condições excepcionais se consegue remover temporariamente bactérias pertencentes a um sítio anatômico, como boca ou pele. Pacientes queimados que sofreram perda da epiderme não apresentarão uma microbiota até que o ferimento seja restabelecido, o que pode ocasionar problemas de infecção por bactérias patogênicas no indivíduo.

COLONIZAÇÃO DE SÍTIOS ANATÔMICOS

Nem todos os nichos do organismo fornecem um habitat ideal para o crescimento de microrganismos. A maior parte do trato urinário, por exemplo, é estéril; somente a porção distal da uretra apresenta uma microbiota residente. A urina coletada sem passar pelo canal uretral é um fluido isento de bactérias. De forma similar, o sangue é considerado um fluido estéril porque o sistema circulatório não permite o estabelecimento de uma microbiota. Na verdade, várias bactérias alcançam a circulação sanguínea diariamente, num processo conhecido como bacteremia. A passagem de bactérias intestinais via circulação porta ou a descarga de bactérias para circulação sanguínea após uma escovação dentária é muito comum, entretanto, o sistema imune se encarrega rapidamente de removê-las. O líquido céfalo-raquidiano (liquor), líquido sinovial e útero não albergam microbiota e o encontro de bactérias nestes sítios pode ser indicativo de infecção.

Os principais sítios anatômicos do organismo colonizados pela microbiota normal incluem a pele e ouvido externo e as mucosas da conjuntiva e dos tratos respiratório superior (nasofaringe e orofaringe), gastrointestinal e geniturinário.

DISTRIBUIÇÃO DA MICROBIOTA NORMAL HUMANA POR REGIÃO ANATÔMICA

A tabela 1 apresenta as principais bactérias que se distribuem pelos nichos no organismo humano.

PELE E OUVIDO EXTERNO

A anatomia e fisiologia da pele variam de uma parte do corpo para outra e a microbiota normal irá se refletir nestas variações. A pele ou epiderme não é um ambiente muito favorável para colonização. Diversos fatores são responsáveis por este ambiente hostil.

A pele apresenta diferentes microambientes, e normalmente o que caracteriza cada região é a umidade. Por isso, alguns microrganismos se encontram em um estado de dormência. Porém, em algumas partes do corpo, como axilas, ouvido, palmas, períneo e região anal, a quantidade de água disponível é suficientemente alta para albergar uma microbiota residente. Outro fator é o pH (4-6) da pele que é levemente ácido, devido a quantidade de ácidos orgânicos produzidos por estafilococos e secreções oleosas e salinas, pelas glândulas sebáceas e sudoríparas, respectivamente. Esse pH faz com que certos microrganismos não sejam capazes de se instalar. O suor contém cloreto de sódio, fazendo com que a pele se torne hiperosmótica, acarretando assim um estresse osmótico nas bactérias. Por

fim, algumas substâncias inibitórias, bactericidas e bacteriostáticas, da pele ajudam a controlar a colonização, o crescimento exacerbado e infecção causada por certos microrganismos. Um bom exemplo, é a produção de lisozima (muramidase) pelas glândulas sudoríparas, enzima esta que é capaz de lisar a parede celular de *Staphylococcus epidermidis*, por exemplo. As glândulas sebáceas secretam lipídeos complexos que podem ser parcialmente degradados por enzimas produzidas por *Propionibacterium acne* (coco Gram positivo) e transformados em ácidos graxos insaturados que tem atividade microbicida em determinadas espécies de bactérias e fungos. Alguns desses óleos são voláteis e podem causar um certo odor. Muitas das bactérias encontradas na pele colonizam células superficiais ou células mortas ou estão intimamente associadas com as glândulas sebáceas e sudoríparas. Os produtos secretados por tais glândulas, também servem de nutrientes (água, uréia, eletrólitos e ácidos graxos), especialmente para *S. epidermidis* e corinebactérias. Bactérias Gram negativas normalmente são encontradas em locais mais úmidos.

A microbiota normal do ouvido externo é muito semelhante a da pele, com estafilococos coagulase negativa e *Corynebacterium*, predominantemente. Menos freqüentes estão os *Bacillus*, *Micrococcus* e algumas espécies de *Neisseria*. Alguns bacilos Gram negativos também podem estar presentes, como *Proteus*, *Escherichia* e *Pseudomonas*, ocasionalmente. Alguns fungos também podem ser encontrados nesta aéreacomos dos gêneros *Aspergillus*, *Alternaria*, *Penicillium*, *Candida* e *Saccharomyces*.

MUCOSA DA CONJUNTIVA

A conjuntiva pode ser estéril ou estar colonizada por ureus, corinebactérias (difteróides) e *S. pneumoniae*. Culturas da córnea e da conjuntiva também podem apresentar *Brahamaella catarrhalis*, *Escherichia*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Enterobacter*, *Neisseria* e algumas espécies de *Bacillus*; poucos anaeróbios estão presentes.

MUCOSAS DO TRATO RESPIRATÓRIO SUPERIOR (TRS)

NASOFARINGE

A microbiota normal do nariz normalmente ocorre nas narinas. *S. aureus* e *S. epidermidis* são as espécies predominantes e são encontradas aproximadamente na mesma quantidade que na pele e no rosto. A nasofaringe, que corresponde a parte logo atrás do palato mole, pode conter pequenas quantidades de bactérias potencialmente patogênicas, tais como

Streptococcus pneumoniae, *Neisseria meningitidis* e *Haemophilus influenzae*. Difteróides, um grupo extenso de bactérias Gram positivas não patogênicas que pertencem ao Gênero *Corynebacterium*, são comumente encontradas tanto no nariz quanto na nasofaringe.

A parte alta e baixa do trato respiratório (traquéia, brônquios, brônquiólos e alvéolos) não apresenta microbiota normal. Isso porque a maioria dos microrganismos é removida pela contínua produção e renovação de muco realizada pelas células ciliadas e pela ação fagocítica dos macrófagos alveolares. Além disso, o efeito bactericida exercido pela ação enzimática de lisozimas, presentes no muco nasal, também contribui para tal remoção.

OROFARINGE

A orofaringe fica na divisão da faringe entre o palato mole e a parte alta da epiglote. Assim como o nariz há uma grande quantidade de *S. aureus* e *S. epidermidis* colonizando esta área. As bactérias mais importantes encontradas nesta região pertencem ao grupo dos estreptococos alfa-hemolíticos (*S. oralis*, *S. milleri*, *S. gordonii* e *S. salivarius*); difteróides; *Branhamella catarrhalis*; uma pequena quantidade de cocos Gram-negativos, como *Neisseria meningitidis*.

O palato e as tonsilas apresentam microbiota bastante similar, com exceção das criptas tonsilares onde são encontrados *Micrococcus* e os anaeróbios *Porphyromonas*, *Prevotella* e *Fusobacterium*.

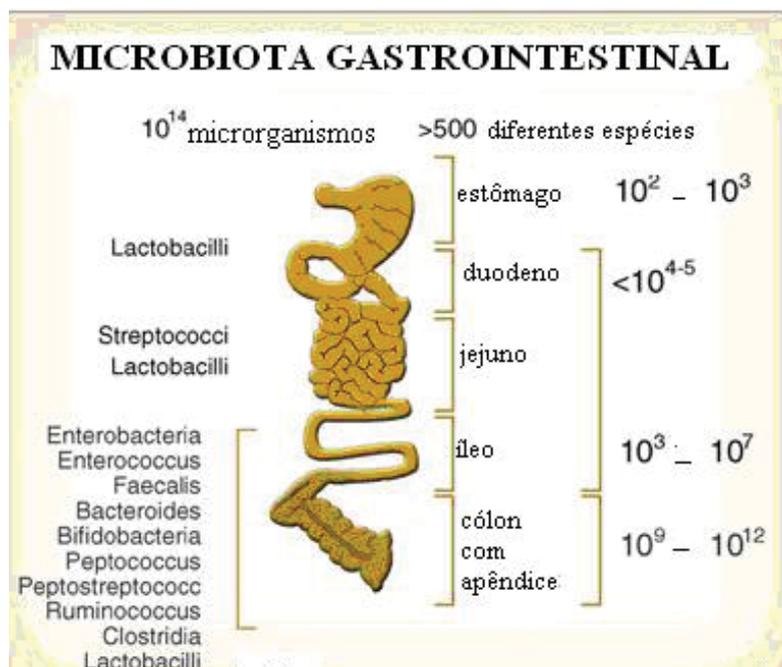
A cavidade oral contém microrganismos capazes de resistir a remoção mecânica que acontece na superfície das gengivas e dentes. Aqueles que não são capazes de se aderir acabam sendo removidos durante o movimento da saliva na boca sendo levados ao estômago e destruídos pelo ácido clorídrico. A contínua descamação celular que acontece na superfície do epitélio também contribui para sua remoção. Aqueles microrganismos capazes de colonizar a boca encontram um ambiente bastante propício para crescimento, já que existe água e nutrientes em abundância, pH neutro, temperatura e a presença de outros fatores de ajudam o crescimento.

A boca é colonizada horas após o nascimento. Inicialmente é composta por *Streptococcus*, *Neisseria*, *Actinomyces*, *Veillonella* e *Lactobacillus*. Algumas leveduras também estão presentes. A maioria dos microrganismos da boca são aeróbios e anaeróbios obrigatórios. Quando o primeiro dente nasce, os anaeróbios (*Porphyromonas*, *Prevotella* e *Fusobacterium*) tornam-se predominantes devido ao ambiente anaeróbio criado no espaço entre os dentes e gengivas. Quando os dentes começam a crescer, *Streptococcus sanguis* e *S. mutans* aderem a sua superfície; *S. salivarius* adere à superfície epitelial da boca e da gengiva e coloniza a saliva. Esses estreptococos produzem glicocálix e outros fatores de aderência que contribuem para sua adesão as superfícies da cavidade oral. A presença dessas bactérias contribui para a formação de biofilme, cáries, gengivite e doença periodontal.

MUCOSA DO TRATO GASTROINTESTINAL (TGI)

Alguns microrganismos da boca desembocam no estômago, onde o pH é bastante baixo, chegando a valores entre 2 e 3, o que acarreta a morte de tais microrganismos. Por esta razão o estômago contém menos de 10 bactérias viáveis por milímetro de fluido gástrico. As mais frequentes são as dos gêneros *Sarcina*, *Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Lactobacillus*, *Peptostreptococcus* e algumas leveduras como *Candida*. Caso ultrapassem rapidamente o estômago, ou sejam ingeridos com a comida, alguns microrganismos podem até resistir ao baixo pH, como é o caso das micobactérias. Normalmente o número de microrganismos aumenta após a refeição, diminuindo em seguida rapidamente devido à ação do ácido clorídrico. Muitas vezes acontece um aumento da microbiota do estômago devido ao aumento do pH, seguido de obstrução intestinal, o que permite um refluxo das secreções alcalinas do estômago.

O intestino delgado é dividido em duodeno, jejuno e íleo. O duodeno contém poucos microrganismos porque recebe o suco gástrico, a ação da bile e a secreção pancreática. Cocos e bastonetes Gram positivos, *Enterococcus faecalis*, *Lactobacillus*, difteróides e leveduras (*Candida albicans*) estão normalmente presente no jejuno. Na porção distal do íleo, a microbiota torna-se mais parecida com a do cólon. É no íleo que o pH se torna mais alcalino. Com isso bactérias anaeróbias Gram negativas e membros da família *Enterobacteriaceae* começam a se estabelecer. Na figura 1 é possível verificar as principais bactérias do trato gastrointestinal e respectivas concentrações por grama ou mililitro de conteúdo de cada nicho.



O intestino grosso ou cólon apresenta a maior comunidade microbiana no corpo. O cólon pode ser visto como um local onde ocorre uma enorme fermentação e a microbiota consiste basicamente de anaeróbios, Gram negativos, não formadores esporos, e bastonetes Gram positivos formadores de esporos e não formadores de esporos. Não apenas a maioria dos microrganismos é de anaeróbios, mas várias espécies estão presentes e em grande número. Alguns estudos demonstraram que a quantidade de bactérias anaeróbias em relação às facultativas está em torno de 1000:1. *E. coli* representa 0,1% desta população.

Apesar do número enorme de bactérias no intestino grosso, *Candida albicans* e alguns protozoários podem estar presentes em uma relação comensal. *Trichomonas hominis*, *Entamoeba hartmanni*, *Endolimax nana* e *Iodamoeba butschlii* são comumente encontrados.

Vários processos fisiológicos permitem que as bactérias sejam levadas ao cólon como o movimento peristáltico, a descamação do epitélio intestinal e a contínua produção de muco que carrega os microrganismos aderentes. Em condições normais a comunidade microbiana é controlada por si só. Competição e mutualismo entre os diferentes microrganismos e entre estes e o hospedeiro ajudam a manter o equilíbrio da microbiota. Porém, quando algum distúrbio acontece, esta pode ser alterada rapidamente. Dentre os fatores que podem causar distúrbio estão o estresse, mudança de altitude, fome, presença de parasitas, diarreia e o uso de antimicrobianos e probióticos.

MUCOSAS DO TRATO GENITURINÁRIO (TGU)

O trato urinário alto composto por rins, ureter e bexiga normalmente não contém microrganismos. Tanto na mulher quanto no homem as seguintes espécies estão presentes, em pequena quantidade, na porção distal da uretra: *S. epidermidis*, *E. faecalis* e *Corynebacterium* spp. *Neisseria* e alguns membros da família *Enterobacteriaceae* podem ser encontrados ocasionalmente.

Em geral, a uretra anterior e a vagina são as únicas áreas anatômicas do TGU permanentemente colonizadas. A bexiga urinária pode ser colonizada transitoriamente com bactérias migrando ascendentemente a partir da uretra. Entretanto, sob condições normais, estas são eliminadas pela atividade bactericida das células uro-epiteliais e pela ação mecânica do jato de urina no esvaziamento do órgão.

Na uretra anterior há uma variedade de microrganismos, sendo os lactobacilos, estreptococos e estafilococos coagulase-negativos predominantes. Pode ser também transitoriamente colonizada por microrganismos fecais como *Enterococcus*, e membros da família *Enterobacteriaceae*, ao contrário do grupo anterior, capazes de invadir o trato urinário, multiplicar-

se na urina e causar infecção. Patógenos como *Neisseria gonorrhoeae* e *Chlamydia trachomatis* são causas comuns de uretrite e podem persistir como colonizadores assintomáticos da uretra.

A microbiota vaginal varia com a idade da mulher devido a modificações que influenciam na seleção destes microrganismos. Estas modificações do microambiente incluem pH, secreção de hormônios e alteração dos receptores celulares. Ao nascer as meninas são colonizadas predominantemente por *Lactobacillus acidophilus*, ácido-tolerantes conhecidos como bacilos de Döderlein. Esta microbiota se mantém por cerca de seis semanas, quando os níveis de estrogênio materno declinam e a microbiota vai sendo substituída por principalmente por *Streptococcus* e *Staphylococcus*. O TGU feminino adulto, devido a sua extensa área e muco produzido, apresentam uma complexa microbiota que muda constantemente devido ao ciclo menstrual. Os principais microrganismos são *Lactobacillus acidophilus*, que fermentam o glicogênio produzido pelo epitélio vaginal, formando ácido lático. Com isso o pH da vagina e cérvix é mantido em torno de 4,4 e 4,6.

++ = Quase 100 por cento + = comum (cerca de 25%) +/- = rara (menos de 5%) * = potencial patógeno

(Fonte: www.textbookofbacteriology.net)

PROBIÓTICOS, PREBIÓTICOS E SIMBIONTES

PROBIÓTICOS

De acordo com Fuller probiótico constitui-se em um suplemento alimentar que contém organismos vivos que trazem benefícios ao hospedeiro animal, fazendo com que sua microbiota desempenhe melhor sua função. Alguns exemplos incluem, alimentos a base de leite fermentado, assim como aqueles que contêm bactéria liofilizada.

Os microrganismos comumente utilizados nestes produtos são lactobacilos e bifidobactérias. Para que um probiótico seja considerado efetivo, este deve ter características como trazer benefícios para o hospedeiro; não ser patogênico, nem tão pouco tóxico; conter grande quantidade de células viáveis; ser capaz de ser metabolizado e de sobreviver no aparelho digestivo; manter-se vivo durante o seu uso e estocagem; aderir a mucosa intestinal do hospedeiro e ser de fácil cultivo.

Dentre as principais vantagens na saúde que os probióticos devem trazer, podemos citar o alívio os sintomas da má absorção da lactose; aumentar, naturalmente, a resistência das doenças infecciosas do trato intestinal; suprimir o desenvolvimento do câncer; a diminuição da concentração do colesterol sérico; ajudar na digestão e estimular a imunidade gastrintestinal.

Alguns estudos já relataram que a espécie *Lactobacillus acidophilus*, quando utilizada como suplemento em crianças, foi capaz de causar aumento no peso. Em outros estudos, a administração de *L. casei* em crianças com diarreia aguda, causada por rotavírus, proporcionou uma melhora acentuada. Além disso, quando a vacina contra rotavírus foi administrada com *L. casei*, pode ser observado um aumento nas células secretoras de IgM específica, causando uma soro conversão de IgA anti-rotavírus. Foi demonstrada que a administração destas duas espécies de lactobacilos em crianças com diarreia, causada por *Escherichia coli*, *Salmonella* e *Shigella* foi bastante efetiva.

Bifidobactéria também já foi utilizada como suplemento alimentar em crianças, individualmente ou junto com lactobacilos, por administração oral, e tiveram resultados positivos na enterite por *Campylobacter* em crianças.

PRÉBITÓTICOS

Prebiótico é um ingrediente não digerível presente em um alimento que beneficia o hospedeiro ao selecionar e estimular o crescimento de uma determinada bactéria já existente no trato intestinal. Algumas características são necessárias para que um alimento seja considerado um prebiótico, como de ser hidrolisado ou absorvido no trato gastrointestinal. Deve servir de substrato para uma ou um grupo determinado de bactérias, estimulando seu crescimento e tornando-a metabolicamente ativa na microbiota do cólon, e, como consequência deve ser capaz de alterar a microbiota a fim de que a mesma se torne mais saudável.

Apesar de qualquer ingrediente presente na comida possa ser um candidato a ser um prebiótico, é a capacidade que esse tem de selecionar microrganismos fermentadores que é levado em consideração. Até agora, a procura por prebióticos está direcionada para aqueles organismos capazes de realizar fermentação láctica. Isso se deve aos benefícios à saúde que tais produtos podem trazer. Alguns estudos já vêm demonstrando que um prebiótico também pode influenciar nos microrganismos patogênicos presentes na microbiota intestinal. Por exemplo, a celobiose tem a capacidade de atenuar a virulência de *Listeria monocytogenes*.

Se, como alguns autores já demonstraram, bifidobactéria é o gênero predominante durante na alimentação com o leite materno em bebês, então já se pode pensar em fórmulas para uso infantil deste prebiótico. Em adultos, a absorção de frutooligossacarídeos (FOS) e galactooligossacarídeos (GOS) é devido à presença de tal gênero na microbiota. Por isso, bifidobactéria é um forte alvo para um prebiótico. Algumas espécies são mais predominantes em crianças (*Bifidobacterium infantis* e *B. breve*) e em adultos *B. adolescentis* e *B. longum*. Alguns benefícios associados com a presença de bifidobactéria em adultos e crianças foram relatados, tais como inibição do crescimento de patógenos; regulação da atividade imunológica; restauração

da microbiota intestinal após o uso de antibióticos; produção de enzimas digestivas; efeitos positivos em diarreias associadas ao uso de antibióticos e diminuição nas infecções causadas por rotavírus.

SIMBIONTES

Uma outra maneira de influenciar na microbiota é por meio do uso de simbioses, que é a combinação de probióticos com prebióticos. O uso de alimentos vivos (probióticos) pode ser utilizado juntamente com substratos específicos (prebióticos) para o crescimento, como por exemplo FOS combinado com uma cepa de bifidobactéria ou lactitol combinado com lactobacilos. Esta combinação poderia aumentar a sobrevivência de um organismo probiótico, pois um substrato específico está disponível para uma bactéria específica. Vários probióticos, prébióticos e simbioses já podem ser utilizados para o consumo humano.

Dentre os probióticos mais usados tem-se Lactobacilos (*L. acidophilus*, *L. casei*, *L. delbrückii* subsp. *bulgaricus*, *L. reuteri* e *L. brevis*); cocos Gram positivos (*Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*; *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus*; *Enterococcus faecium* e *S. intermedius*) e Bifidobactéria (*B. bifidum*; *B. adolescentis*; *B. animalis*; *B. infantis*; *B. longum* e *B. thermophilum*). Dentre os prebióticos mais usados encontra-se FOS (Oligofrutose), inulina, GOS, Lactulose e Lactitol e, entre os simbióticos, bifidobactéria + FOS; lactobacilos + lactitol e bifidobactéria + GOS.

ATIVIDADES

1. Defina microbiota normal ou residente e microbiota transitória.
2. Conceitue microbiota anfibiótica.
3. Explique por que animais germ free são ótimos modelos de estudo para o entendimento da relação entre hospedeiro e microrganismo.
4. Quais os principais benefícios produzidos pela microbiota normal humana?
5. Como se adquire a microbiota normal?
6. Quais as condições para que a microbiota se estabeleça?
7. Explique as relações dos microrganismos com o hospedeiro.
8. Comente sobre as funções da microbiota normal.
9. Listar os sítios de distribuição da microbiota no organismo humano, citando os microrganismos encontrados e os fatores que influenciam no estabelecimento da população microbiana nestes locais.
10. Defina e caracterize prebióticos, probióticos e simbioses, ressaltando as vantagens de seu emprego, dando exemplos.



COMENTÁRIO SOBRE AS ATIVIDADES

1. Os microrganismos representam um dos mais vastos componentes da biodiversidade em nosso planeta. Acredita-se que aproximadamente 1010 genes bacterianos estejam distribuídos pela biosfera há mais de 2,5 bilhões de anos. Precisamos entender que servimos de hospedeiros para uma infinidade de microrganismos de forma permanente ou temporária e, que nosso genoma, fisiologia e desenvolvimento após o nascimento foram moldados devido a esta co-evolução.
2. Se você conseguiu definir o microbiota anfibiótica é porque você compreendeu o tema em estudo.
3. Explique partindo do princípio que foram fundamentais para comprovação de tal relação.
4. Citando os benefícios você entenderá a multifuncionalidade da microbiota normal.
5. Desenvolva a atividade partindo do princípio que “todo ser humano nasce isento de microrganismos”.
6. Cite as estratégias dos microrganismos para colonização do organismo hospedeiro.
7. Comente sobre as interações microrganismos versus hospedeiro.
8. As funções enfatizam a relevância da presença da microbiota.
9. Entendo a distribuição e os componentes da microbiota normal você poderá associar e distinguir colonização de infecção.
10. Leia mais sobre prebióticos, probióticos e simbioses em sites na internet; pesquise sobre o kefir.

CONCLUSÃO

Sabendo-se quais os microrganismos presentes em uma região do corpo torna-se mais fácil descobrir o agente causador da doença naquele local.

Conhecendo-se a microbiota normal presente em um tecido infectado, o médico poderá saber a possível fonte e o significado daquele microrganismo isolado no local da infecção. Poderá entender as causas e consequências da colonização de uma determinada área que normalmente é ausente de microrganismos.

Já está comprovado que a microbiota estimula o sistema imune, prevenindo contra infecções causadas por possíveis patógenos.

RESUMO

Em um indivíduo normal, o cérebro, sangue, fluido espinhal e músculos, são normalmente livres de quaisquer microrganismos. Ao contrário, pele e mucosas estão constantemente em contato com os microrganismos do ambiente e se tornam colonizadas por algumas espécies. A mistura desses microrganismos regularmente encontrados nesses sítios anatômicos é chamada de microbiota normal ou microbiota anfiótica normal. Outros organismos também podem ser encontrados como, fungos leveduriformes e protozoários. A microbiota transitória é composta pelos microrganismos que estão presentes por períodos variáveis, vindo a perecerem.

REFERÊNCIAS

- JAWETZ E, MELNICK J & ADELBERG E. Microbiologia Médica. 21ª Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 2000.
- SCHAECHTER, M. Mecanismos das doenças Infeciosas. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 2002.
- STROHL WA, ROUSE H & FISHER B. Microbiologia Ilustrada. 1ª Ed. Porto Alegre: Artmed. 2004.
- TORTORA GJ, FUNKE BR & CASE CL. Microbiologia. 8ª Ed. Porto Alegre: Guanabara Koogan. 2002.
- TRABULSI LR & ALTERTHUM F. 2004. Microbiologia. 3ª Ed. Rio de Janeiro: Atheneu. 2004.