2ª edição



Microbiota Gastrointestinal
da disbiose ao tratamento

Dan L. Waitzberg
Rafael Malagoli Rocha
Ilanna Marques
Alan Hiltner Almeida

Atheneu

Microbiota Gastrointestinal

da Disbiose ao Tratamento

2ª edição



SAL

SERVIÇO DE ATENDIMENTO AO LEITOR

Tel.: 08000267753

www.atheneu.com.br

(21) 99165-6798 Facebook.com/editoraatheneu Twitter.com/editoraatheneu Youtube.com/atheneueditora

Microbiota Gastrointestinal

da Disbiose ao Tratamento

2ª edição

Dan L. Waitzberg
Ilanna Marques
Rafael Malagoli Rocha
Alan Hiltner Almeida

Atheneu
Rio de Janeiro • São Paulo
2025

EDITORA ATHENEU

São Paulo — Rua Maria Paula, 123 – 13º andar
Conjuntos 133 e 134
Tel.: (11) 2858-8750
E-mail: atheneu@atheneu.com.br

Rio de Janeiro — Rua Bambina, 74 – lojas A e B
Tel.: (21) 3094-1295
E-mail: atheneu@atheneu.com.br

Pré-produção e Produção Gráfica: Equipe Atheneu

Capa: FK Estúdio

Produção editorial: Villa d'Artes

CIP-BRASIL. CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO
SINDICATO NACIONAL DOS EDITORES DE LIVROS, RJ

M572
2. ed.

Microbiota gastrointestinal : da disbiose ao tratamento / editor Dan L. Waitzberg ... [et al.]. - 2. ed. - Rio de Janeiro : Atheneu, 2025.
24 cm.

Inclui bibliografia e índice
ISBN 978-85-388-1206-7

1. Gastroenterologia. 2. Aparelho digestivo - Doenças. 3. Sistema gastrointestinal - Microbiologia. I. Waitzberg, Dan L.

25-99325.0 CDD: 616.34
CDU: 616.34

Gabriela Faray Ferreira Lopes - Bibliotecária - CRB-7/6643

21/07/2025 23/07/2025

Waitzberg DL, Marques I, Rocha RM, Almeida AH.
Microbiota Gastrointestinal – da Disbiose ao Tratamento – 2ª edição

© Direitos reservados à EDITORA ATHENEU – Rio de Janeiro, São Paulo, 2025.

PARTE 1

Microbiota do Trato Gastrointestinal

Microbiota Intestinal – Caracterização e Função

Alan Hiltner Almeida
Ilanna Marques
Sulamita de Freitas Franco

Introdução: o projeto microbioma humano

No dia 26 de junho de 2000, Bill Clinton, então presidente dos Estados Unidos, acompanhado, via satélite, pelo primeiro-ministro britânico Tony Blair e, presencialmente, pelos cientistas Francis Collins e Craig Venter, fez um discurso televisionado a partir da Casa Branca anunciando a conclusão do primeiro rascunho do sequenciamento do genoma humano. Foi um momento emblemático para a ciência e representou a conclusão de uma das mais vastas jornadas exploratórias da história da humanidade. Até hoje, o Projeto Genoma Humano (PGH) permanece como o maior esforço colaborativo da biociência mundial, tendo envolvido centenas de cientistas em mais de 20 universidades e 6 países, com o objetivo de desvendar o código da vida descoberto por Watson e Crick quase 50 anos antes.

Um trecho do discurso de Clinton é suficiente para demonstrar a magnitude do projeto:

> *Estamos aqui para celebrar a conclusão do primeiro mapeamento de todo o genoma humano. Sem dúvida, este é o mapa mais importante e maravilhoso já produzido pela humanidade. O anúncio de hoje representa mais do que apenas um triunfo épico da ciência e da razão. Afinal, quando Galileu descobriu que podia usar as ferramentas da matemática e da mecânica para entender o movimento dos corpos celestes, ele sentiu, nas palavras de um eminente pesquisador, que ele havia aprendido a língua em que Deus havia criado o universo. Hoje, estamos aprendendo a linguagem na qual Deus criou a vida. Estamos cada vez mais admirados pela complexidade, a beleza, a maravilha do dom mais divino e sagrado de Deus. Com esse novo conhecimento profundo, a humanidade está prestes a ganhar imenso poder de cura. A ciência do genoma terá um impacto real em na vida de todos – e, ainda mais, na vida de nossos filhos. Revolucionará o diagnóstico, a prevenção e o tratamento da maioria, senão de todas, as doenças humanas. Nos próximos anos, os médicos serão cada vez mais capazes de curar doenças como*

Alzheimer, Parkinson, diabetes e câncer, atacando suas raízes genéticas (...). De fato, agora é concebível que os filhos de nossos filhos conheçam o termo câncer apenas como uma constelação de estrelas..."1

O primeiro rascunho anunciado por Clinton havia sequenciado fragmentos que correspondiam a 97% de todo o genoma humano e ordenado corretamente cerca de 85% dos 3 bilhões de pares de bases que compõem o DNA. O sequenciamento completo foi publicado nas revistas *Nature* e *Science*, em fevereiro de 2001, e o PGH foi oficialmente encerrado em abril de 2003, como um dos grandes triunfos da ciência.

Hoje, 25 anos após o anúncio histórico de Clinton, observamos que os avanços no tratamento do Alzheimer, da doença de Parkinson, do diabetes e de diversos tipos de câncer não evoluíram na velocidade que se previa naquela emblemática manhã de junho de 2000. O que aconteceu? Por que a profecia de Clinton ainda não se concretizou?

Em primeiro lugar, assim como publicar um livro não é o mesmo que compreendê-lo, sequenciar o genoma humano não equivale a entender as funções de todos seus genes. A interpretação do genoma revelou-se uma tarefa muito mais complexa do que se estimava originalmente.[a]

A principal razão, entretanto, é que nem tudo o que nosso corpo expressa é determinado exclusivamente pelo DNA. Nossos 20 mil genes não contam toda a história. No livro da vida humana, o DNA não escreve todos os capítulos. O papel do genoma na determinação da saúde foi superestimado. Não se havia considerado, por exemplo, a influência do microbioma. Os genes dos micro-organismos que nos habitam também desempenham papel fundamental na regulação da nossa saúde.

Na verdade, o próprio conceito de microbioma ainda era bastante incipiente. A compreensão do papel dos micro-organismos na saúde humana ainda se baseava na teoria dos germes, formulada por Louis Pasteur e refinada por Robert Koch e seus seguidores. Essa teoria, responsável por avanços notáveis na Medicina e pela cura de inúmeras doenças, concentrou-se principalmente no papel patogênico de bactérias, fungos e vírus, analisados de forma isolada. Embora Eli Metchnikov, ganhador do prêmio Nobel de Medicina por seus estudos sobre a fagocitose, já tivesse chamado a atenção, ainda em 1908, para o potencial benefício de certos micro-organismos no corpo humano, a perspectiva de análise herdada de Pasteur e Koch permaneceu dominante na ciência médica até tempos recentes.

Para mudar esse panorama, além da evolução tecnológica, foi necessário que cientistas de áreas fora da Medicina – especialmente os que estudavam o papel dos micro-organismos no meio ambiente, como no solo e nos oceanos – chamassem a atenção para o fato de que raramente os micro-organismos existem isoladamente. Em geral, eles atuam em consórcios complexos, e sua ação coordenada traz benefícios importantes para os ecossistemas marinhos e para o solo. No campo médico, quando se olhava para comunidades microbianas não patogênicas, como as que povoam o trato gastrointestinal (TGI), elas eram consideradas apenas comensais – organismos que obtêm vantagem ao viver em associação com o hospedeiro, mas sem causar efeitos positivos ou negativos relevantes. Naquele momento, ainda não se compreendia a magnitude das funções bioquímicas desempenhadas pelos genes do microbioma em comparação com os genes do DNA humano.

---

[a] *De acordo com o Projeto ENCODE, do ponto de vista bioquímico, cerca de 80% do nosso genoma serve a algum propósito, mesmo que não tenhamos clareza sobre qual seja. Outros estudos indicam que apenas 8,2% do nosso DNA tem funcionalidade, e que a parte restante é "ruído" ou "lixo evolutivo". Um estudo mais recente estima que a parte "funcional" do nosso DNA é de 25%. A magnitude da discrepância entre as "faixas de funcionalidade" do genoma humano evidencia que ainda estamos distantes de interpretá-lo completamente. A parte mais bem-entendida do DNA humano é o exoma, que codifica as proteínas funcionais. O exoma, entretanto, corresponde a apenas 1,5% do genoma total.*

Felizmente, as ciências dialogam entre si. Cientistas da área médica passaram a perceber que os conceitos desenvolvidos pelos microbiologistas ambientais também poderiam ser aplicados à saúde humana. Duas constatações foram fundamentais: a insuficiência do genoma humano para explicar todas as funções bioquímicas do organismo e o reconhecimento de que os micro-organismos que habitam o corpo humano atuam de forma integrada – e não isolada – em funções que extrapolam o comensalismo ou a patogenicidade.

À medida que esse entendimento se consolidava, tornava-se evidente a necessidade de identificar o conjunto de micro-organismos que colonizam o corpo humano. A boa notícia é que as tecnologias desenvolvidas para o sequenciamento do genoma humano poderiam ser adaptadas, com pequenas modificações, para esse novo propósito. Em vez de sequenciar uma longa cadeia de DNA – como o genoma humano, que tem cerca de 2,5 metros de comprimento quando esticado –, bastaria sequenciar milhares de fragmentos curtos de DNA bacteriano (que variam de 1 a 2 mm), o suficiente para identificar e diferenciar espécies microbianas.[b]

Assim, em 2007, o National Institutes of Health lançou o projeto Microbioma Humano (PMH), uma extensão lógica, do ponto de vista conceitual e experimental, do que havia sido o PGH. As tecnologias de sequenciamento genético desenvolvidas durante o PGH permitiram não apenas a identificação das espécies que colonizam o corpo humano, mas também o estudo de comunidades microbianas inteiras, superando as limitações anteriormente impostas pela necessidade de cultivo bacteriano.

O PMH foi estruturado em duas fases. Na primeira, realizada entre 2007 e 2014, o objetivo foi identificar e caracterizar as diferentes espécies de micro-organismos que compõem o microbioma humano correlacionando-as com os fenótipos dos indivíduos. Os primeiros resultados do projeto foram publicados em 2012, oferecendo, pela primeira vez, uma compreensão clara de que os seres humanos são, na verdade, superorganismos abrigando uma coletividade de espécies em constante interação.[2] O projeto sequenciou cinco sítios corporais (boca, nariz, pele, trato intestinal e genitais) – e revelou uma notável diversidade na composição microbiana entre essas regiões, bem como entre diferentes indivíduos em cada um desses sítios.

A publicação desses achados iniciais desencadeou uma verdadeira corrida científica, tornando o estudo do microbioma uma das mais ativas e promissoras fronteiras da pesquisa médica contemporânea. A Figura 1.1 ilustra o crescimento exponencial das publicações científicas sobre o tema.

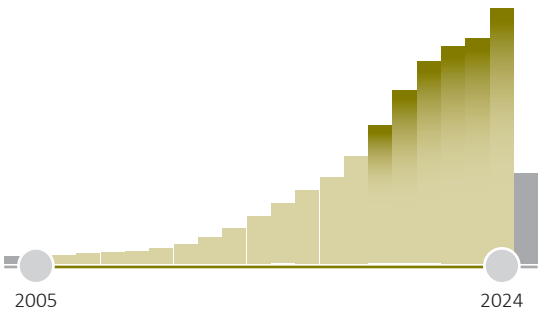


Figura 1.1 – Crescimento das publicações sobre microbioma.

Fonte: Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/.

[b] *Em verdade, como se explicará mais adiante, para identificar seguramente uma espécie bacteriana, não é necessário sequenciar todo o seu DNA, mas apenas o trecho denominado "região hipervariável".*

A primeira fase do PMH deixou claro que a composição taxonômica do microbioma não estava fortemente correlacionada com os fenótipos, o que exigia uma análise mais abrangente e profunda da inter-relação microbioma-hospedeiro. Essa constatação culminou na segunda fase do projeto, intitulada "Projeto Integrativo do Microbioma Humano".

O objetivo dessa nova fase foi elucidar os mecanismos de interação entre microbioma e hospedeiro que resultam em consequências para a saúde, bem como acompanhar a evolução dessas interações ao longo do tempo. Dado o amplo escopo da proposta, a fase 2 concentrou-se em três áreas bem-definidas:

a. Gestação e nascimento prematuro;

b. Doenças inflamatórias intestinais (DII);

c. Pré-diabetes.

A Figura 1.2 ilustra o escopo e os objetivos das duas fases do PMH.

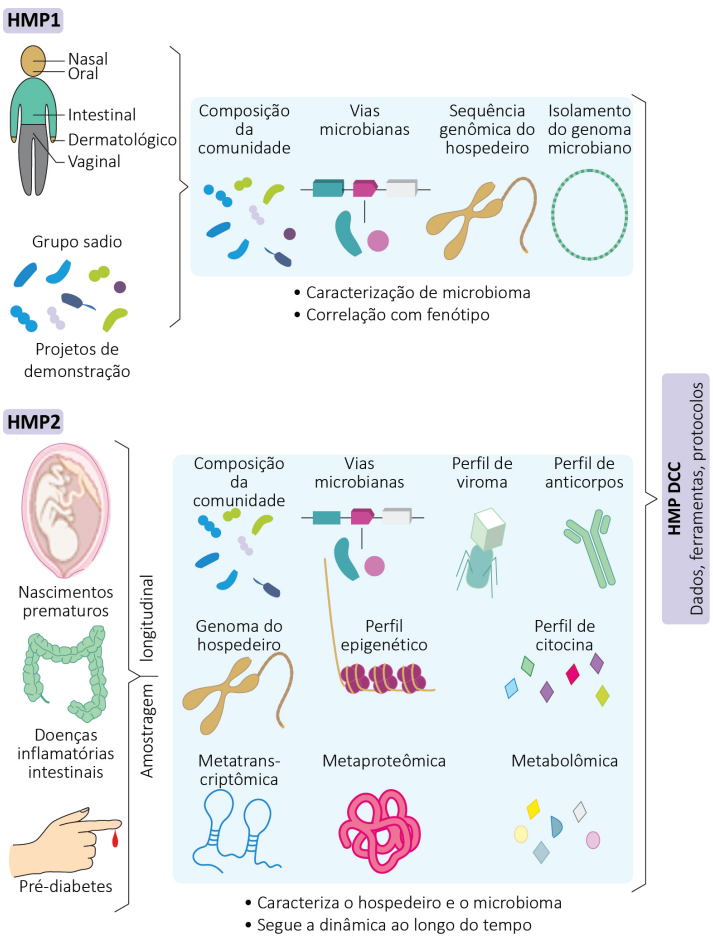


Figura 1.2 – Escopo das fases do projeto microbioma humano (PMH).

Fonte: Adaptada de Integrative HMP (iHMP) Research Network Consortium. The integrative human microbiome project: dynamic analysis of microbiome-host omics profiles during periods of human health and disease. Cell Host Microbe. 2014;16(3):276-89.

Projeto microbioma humano – *data coordination center*

Dados, ferramentas, protocolos

Juntas, as duas fases do PMH geraram 42 terabytes de dados – incluindo sequências genéticas, análises metagenômicas, informações clínicas e resultados – que estão arquivados, organizados e disponibilizados para acesso público no *Data Coordination Center* (DCC), do National Institutes of Health. Como frequentemente ocorre em grandes estudos seminais, o PMH levantou mais perguntas do que respostas. No entanto, abriu novas e promissoras avenidas de investigação, e os avanços tecnológicos subsequentes tornaram os processos de sequenciamento significativamente mais acessíveis, permitindo projetar um ritmo acelerado de novas descobertas nos próximos anos.

Estimativa da importância do microbioma na saúde humana

Os resultados do PMH alteraram a visão da ciência médica em relação aos micro-organismos. Talvez a mudança mais radical tenha sido a constatação de que a maior parte desses pequenos habitantes do organismo humano compõe um ecossistema funcional que presta serviços essenciais à saúde.

O PMH mostrou que cada indivíduo abriga um conjunto único de micro-organismos – longe de um padrão universal. Na verdade, pouquíssimos grupos bacterianos são comuns a todos. A composição microbiana de cada pessoa é tão singular quanto uma impressão digital. Estudos mostraram, por exemplo, que o microbioma de gêmeos univitelinos pode ser tão distinto quanto o de gêmeos bivitelinos. Enquanto o genoma humano é 99,5% idêntico entre indivíduos, o microbioma pode não apresentar nenhuma sobreposição entre as espécies presentes, conferindo um grau de personalização tão elevado que já se cogita seu uso em aplicações forenses.[3]

Outro achado relevante do PMH é que o microbioma é inicialmente transferido da mãe para o filho, desenvolve-se ao longo da infância e, na vida adulta, tende a atingir uma configuração relativamente estável e resiliente. Ainda assim, o microbioma é altamente responsivo a fatores externos. De forma geral, bactérias podem se duplicar a cada 20 minutos, o que permite alterações significativas na composição microbiana em um curto espaço de tempo, especialmente quando expostas a estímulos drásticos. Contudo, na ausência prolongada desses estímulos, a microbiota tende a retornar a seu estado original, evidenciando sua resiliência – até que um novo padrão estável se estabeleça.[3] A combinação dessas duas características, plasticidade e resiliência confere à modulação do microbioma uma estratégia terapêutica promissora e altamente adaptável às necessidades clínicas individuais.

Os conhecimentos adquiridos com o PMH caracterizam o microbioma como um componente integral da biologia humana, com papel preponderante na saúde e no bem-estar. Um exemplo notável ilustra a magnitude do microbioma: a bactéria intestinal *Bacteroides cellulosilyticus* WH2 é capaz de metabolizar 424 enzimas do tipo hidrolases de glicosídeos, polissacarídeos e esterases de carboidratos – número cerca de 25 vezes maior que o das enzimas codificadas pelo genoma humano e secretadas no TGI.[3]

A microbiota intestinal (MI) amplia a fisiologia digestiva dos mamíferos, fornecendo um repertório enzimático que permite a degradação de polissacarídeos complexos – enzimas estas ausentes no genoma dos próprios hospedeiros. A quebra dessas moléculas exige a ação coordenada de diversas enzimas ativas em carboidratos (CAZymes) e outras proteínas especializadas. Das 76 famílias de CAZymes identificadas na *B. cellulosilyticus* WH2, 56 não são expressas pelo

genoma humano, o que revela o impacto metabólico que uma única espécie bacteriana pode ter na digestão. Sem o auxílio da MI, humanos e diversos tipos de animais seriam incapazes de extrair nutrientes de uma parcela substancial de polissacarídeos alimentares. De fato, nossa capacidade intrínseca de digerir moléculas de carboidratos complexos permanece limitada ao amido, à lactose e à sacarose.

Não menos importante, vale lembrar que as doenças, com frequência, são resultado de desordens bioquímicas. A bioquímica do organismo, por sua vez, é fortemente condicionada pelos genes – e o microbioma humano contém uma quantidade de genes significativamente superior à do genoma humano. Estima-se que o microbioma intestinal de um indivíduo abrigue entre 500 e 1 mil espécies bacterianas, dentro de um universo potencial de cerca de 35 mil espécies conhecidas. Considerando uma média de 1 mil espécies por indivíduo e cerca de 2 mil genes por espécie, o referido artigo estima que o microbioma abriga um catálogo de aproximadamente 2 milhões de genes – número cerca de 100 vezes maior do que os cerca de 20 mil genes presentes no genoma humano.[3-6]

Diante disso, não se pode subestimar a importância do microbioma no tratamento de diversas doenças. A microbiologia humana se estende muito além do tratamento de infecções e doenças gastrointestinais, para áreas antes consideradas fora de seu escopo, como o metabolismo, as neoplasias, a gestação e o funcionamento do sistema nervoso central (SNC). A Figura 1.3 ilustra a esfera de influência do microbioma.[3]

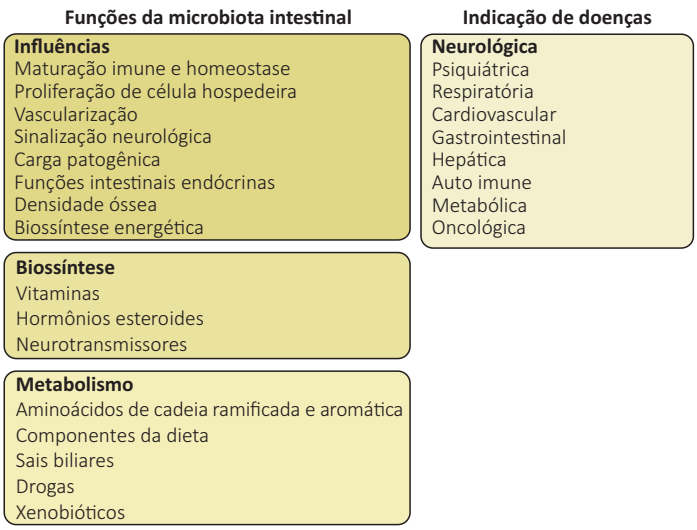


Figura 1.3 – Âmbito de influência do microbioma humano.

Fonte: Adaptada de Lynch SV, Pedersen O. The human intestinal microbiome in health and disease. N Engl J Med. 2016;375(24):2369-79.

Descrição do microbioma no trato gastrointestinal

Muitas vezes, os termos "microbioma" e "microbiota" têm sido frequentemente utilizados como sinônimos. No entanto, é importante esclarecer que se trata de conceitos distintos. O termo "microbioma" refere-se ao conjunto de micro-organismos, seus genes e metabólitos que

habitam um ambiente ou hospedeiro, ao passo que o termo "microbiota" se refere ao subconjunto de micro-organismos (p. ex., as bactérias) que reside em um sítio particular do hospedeiro. O foco deste livro é a MI, razão pela qual se faz necessária essa breve caracterização.

Estima-se que a MI represente cerca de 70% das espécies presentes no microbioma humano, sendo a mais relevante em termos de processos metabólicos e de impacto na promoção da saúde ou no desenvolvimento de doenças. A maior parte da MI é composta de bactérias anaeróbicas que podem pertencer a até 50 filos distintos. Apesar dessas múltiplas possibilidades, uma microbiota saudável é majoritariamente dominada por dois filos: Firmicutes e Bacteroidetes que, somados, respondem por cerca de 90% do total. Outros filos comumente encontrados, embora em menor proporção, incluem Proteobacteria, Verrucomicrobia, Actinobacteria, Fusobacteria e Cyanobacteria. Demais filos podem aparecer em proporções reduzidas ou eventualmente estar ausentes. No capítulo 2, serão apresentadas informações sobre interpretação do sequenciamento genético da MI, com discussão detalhada sobre a importância desses filos.

A microbiota do TGI não é homogênea. Sua composição e concentração variam de acordo com a porção do trato considerada. A densidade de colonização aumenta progressivamente ao longo do TGI, sendo mínima no estômago e máxima no cólon e reto. O estômago e o duodeno são ambientes inóspitos, e poucas espécies de bactérias são capazes de resistir à acidez gástrica, à concentração de bile e às enzimas pancreáticas. Em média, o estômago abriga 10^1 bactérias por grama de conteúdo, quantidade que se eleva para 10^3 no duodeno, 10^4 no jejuno, 10^7 no íleo e, finalmente, alcança 10^{12} no cólon.[3] É importante destacar que o microbioma não é composto apenas por bactérias. Vírus, fungos, arqueias e fagos também fazem parte dessa comunidade complexa, e seu papel na manutenção de uma microbiota saudável não deve ser subestimado.

A Figura 1.4 ilustra a distribuição quantitativa e o perfil das bactérias ao longo do TGI.

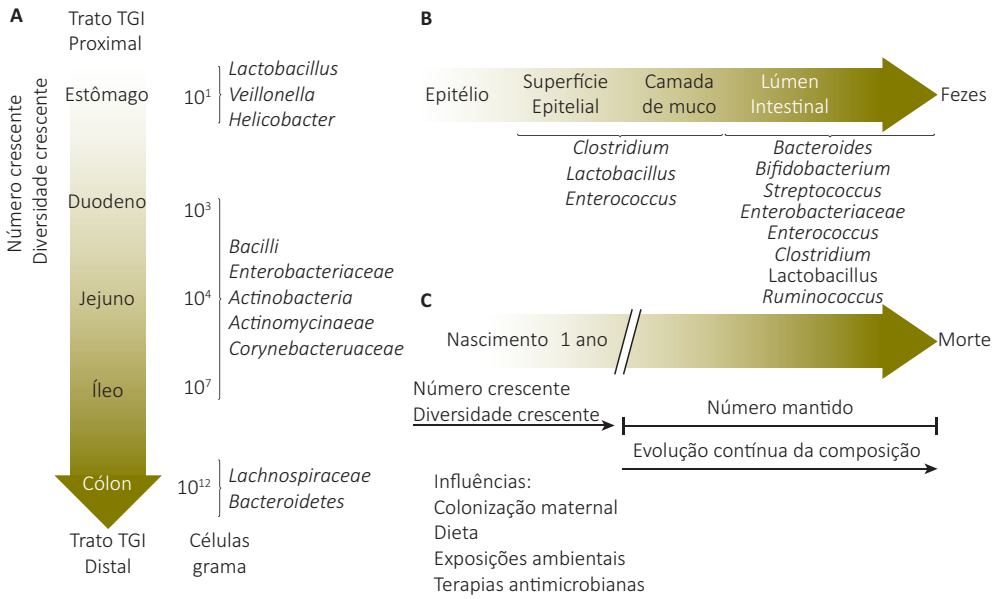


Figura 1.4 – Colonização microbiana longitudinal e transversal do trato gastrointestinal.

TGI: trato gastrointestinal.

Fonte: Adaptada de Sekirov I, Russell SL, Antunes LC et al. Gut microbiota in health and disease. Physiol Rev. 2010;90(3):859-904.

Além de oscilar longitudinalmente, os perfis bacterianos também variam de acordo com a profundidade da camada intestinal: maior diversidade no lúmen e menor diversidade no epitélio intestinal. Essa variação é de suma importância para a manutenção da saúde, pois as diferentes camadas atuam como barreiras protetoras, impedindo que bactérias – inclusive as consideradas benéficas – atinjam a corrente sanguínea. A translocação bacteriana, mesmo de cepas comensais, pode resultar em consequências graves à saúde.

A primeira barreira é microbiana. Ela se estabelece entre o lúmen e a camada externa de muco, sendo composta por bactérias comensais e simbióticas que exercem exclusão competitiva sobre micro-organismos patogênicos (resistência à colonização patogênica). A segunda barreira é química, localizada na camada de muco, e resulta da ação bactericida de proteínas presentes na mucina.[c] Somente bactérias especializadas são capazes de sobreviver nesse ambiente e utilizar o muco como fonte de nutrientes. A *Akkermansia muciniphila* é uma das mais estudadas nesse contexto em virtude de sua capacidade de estimular a produção da mucina.[4]

A terceira barreira é física, formada pela parede epitelial. Nessa camada, a integridade das junções entre os enterócitos determina a permeabilidade paracelular, enquanto o funcionamento dos próprios enterócitos regula a permeabilidade transcelular. Quando essas junções não são suficientemente firmes, caracteriza-se a condição de aumento da permeabilidade intestinal (*leaky gut*), o que pode ativar cronicamente o sistema imunológico e promover um estado inflamatório persistente. Por fim, a quarta barreira é a imunológica, localizada na lâmina própria. Ela é composta por células imunes, como linfócitos T e B, macrófagos e células dendríticas, que atuam de forma coordenada na defesa da mucosa. Assim, o perfil da MI exerce influência direta sobre a primeira barreira, por meio da exclusão competitiva de patógenos, e sobre a segunda, por sua contribuição à regulação da espessura da camada de muco – fator essencial para dificultar a translocação bacteriana.[3] A Figura 1.5 ilustra esses mecanismos de defesa em múltiplas camadas.

Métodos de avaliação do microbioma

A redução dos custos das tecnologias de sequenciamento genético transformou a capacidade científica de investigar a composição e a dinâmica do universo de micro-organismos que habitam o corpo humano. A interação entre a microbiota e o sistema imunológico tem papel central na manutenção da saúde ou na perpetuação e progressão de doenças. Até pouco tempo, era impossível determinar com precisão o que as bactérias residentes promoviam no organismo. Esse cenário começou a mudar com a introdução das tecnologias de mapeamento do microbioma, que vêm se consolidando como ferramentas promissoras no campo da Medicina personalizada.

Embora a quantidade de publicações sobre o tema venha crescendo exponencialmente, os resultados nem sempre são convergentes – um fenômeno comum em áreas de fronteira científica. Atualmente, até mesmo a comparação entre estudos é dificultada pela falta de padronização em diversas etapas: técnicas de coleta; escolha da região gênica sequenciada; e métodos de taxonomização dos dados. Essa ausência de uniformidade compromete a reprodutibilidade dos experimentos e, por consequência, a validação de suas conclusões.

Dessa forma, é de grande importância compreender adequadamente as técnicas utilizadas no sequenciamento genético do microbioma, a fim de garantir o uso adequado dessas tecnologias e a interpretação precisa de seus resultados.

[c] *O perfil de microbiota no muco é significativamente diferente do encontrado nas fezes, pois as bactérias do muco aderem a ele e não se deixam levar com facilidade para as fezes.*

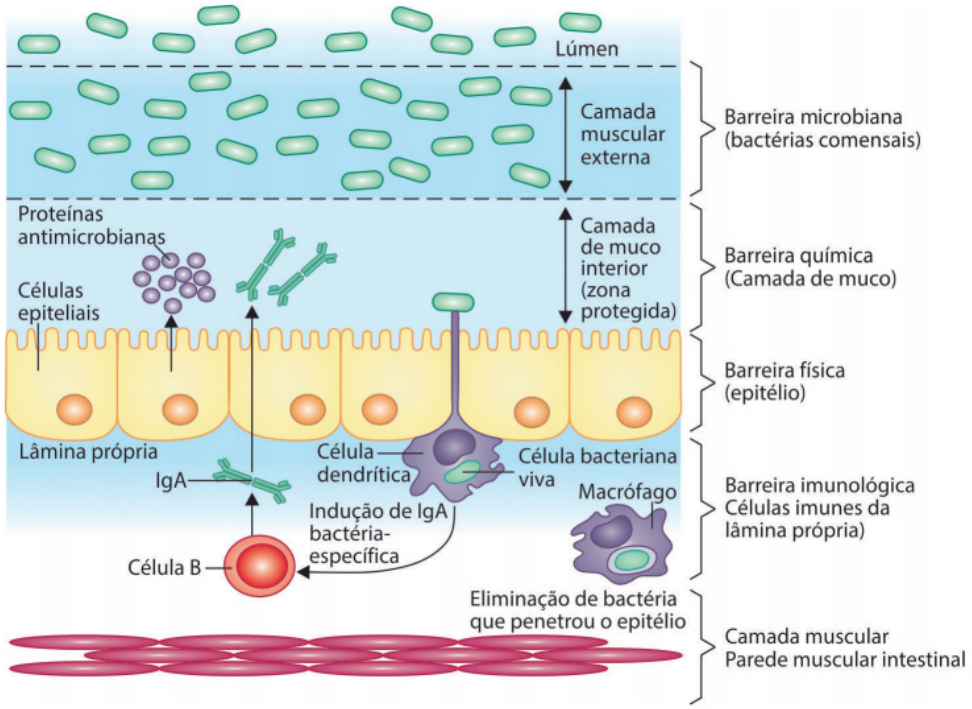


Figura 1.5 – Barreiras contra a translocação microbiana.

IgA: imunoglobulina A.

Fonte: Adaptada de Wei Laboratories (2018).

Técnicas de sequenciamento do microbioma

A metagenômica compreende o conjunto de técnicas utilizadas para identificar o perfil do microbioma, definido como a identificação e distribuição de frequência dos micro-organismos presentes em um hospedeiro, sítio ou ambiente estudado. As duas principais técnicas metagenômica são: a análise por gene marcador – sendo o gene 16S do RNA ribossômico (16S rRNA) o mais comumente utilizado –; e o sequenciamento genômico total, também conhecido como *shotgun* ou *whole genome sequencing* (WGS).

As duas técnicas envolvem o sequenciamento do DNA contido em uma amostra biológica, cujos fragmentos são comparados a sequências depositadas em bancos de dados taxonômicos. Esses bancos armazenam sequências genéticas características e específicas de cada micro-organismo.

A principal diferença entre as duas técnicas está no escopo do sequenciamento. A técnica *shotgun* realiza o sequenciamento de todo o DNA presente na amostra, abrangendo todos os micro-organismos nela contidos. Já a técnica 16S realiza o sequenciamento apenas de um segmento específico do DNA – denominado "gene marcador" – e é restrita à identificação de bactérias e arqueias. Por focar apenas em uma porção do material genético, a técnica 16S apresenta menor custo em comparação ao WGS. A lógica por trás da técnica 16S baseia-se em um princípio semelhante ao da identificação por impressão digital: não é necessário analisar o todo

para identificar algo de forma única. Assim como a digital de um dedo pode identificar inequivocamente uma pessoa, o sequenciamento de um trecho específico do DNA pode individualizar um micro-organismo.

Investigando a integralidade do DNA de diversos micro-organismos, os cientistas descobriram que o gene 16S rRNA, presente em todas as bactérias, apresenta regiões suficientemente distintas entre diferentes micro-organismos, permitindo sua identificação taxonômica. Esse gene contém nove regiões hipervariáveis, designadas de V1 a V9, e as técnicas de sequenciamento 16S rRNA analisam uma ou mais dessas regiões para classificar o micro-organismo nos âmbitos de gênero e espécie.

A técnica 16S rRNA apresenta duas limitações em relação ao *shotgun*:

- *Restrição a procariotos*: como apenas procariotos (bactérias e arqueas) têm o gene 16S, a técnica não pode ser utilizada para identificar outros micro-organismos, como fungos e vírus. Assim, quando há necessidade de investigar doenças associadas a micro-organismos além das bactérias, a técnica 16S rRNA não é recomendada;
- *Limitações de resolução taxonômica*: em alguns casos, diferentes espécies bacterianas apresentam sequências muito semelhantes na região do gene 16S, tornando impossível determinar com precisão a qual espécie pertence o fragmento de DNA sequenciado. Nesses casos, a técnica 16S rRNA classifica o micro-organismo em um nível taxonômico superior – geralmente, no âmbito de gênero.

As limitações da técnica 16S rRNA são, em geral, aceitáveis para a maior parte dos escopos de pesquisa e compensadas pelo seu menor custo, o que tornou essa avaliação a mais utilizada para estudos de sequenciamento de microbioma em todo o mundo. No entanto, é razoável supor que, com a contínua redução dos custos do WGS, aliada a sua maior precisão e à capacidade de identificar a totalidade dos micro-organismos presentes em uma amostra, o WGS venha a se tornar a técnica predominante nos próximos anos. O Quadro 1.1 apresenta uma comparação entre as duas técnicas.[3]

Vale ressaltar que as técnicas metagenômicas – como o 16S rRNA e o *shotgun* – têm como objetivo descrever a estrutura da microbiota, ou seja, identificar quais micro-organismos estão presentes em uma amostra e em que proporção. No entanto, essas técnicas não informam sobre a função desses micro-organismos, não distinguem se os organismos identificados estão vivos, ativos, dormentes ou mortos, nem revelam o que estão fazendo ou potencialmente podem fazer. Para compreender a função do microbioma – isto é, o que cada micro-organismo efetivamente realiza –, são necessárias técnicas de metabolômica que permitem identificar e quantificar os metabólitos produzidos ou modificados por esses organismos.[5] O metaboloma representa o conjunto de todos os metabólitos gerados por um organismo, sendo esses compostos consideradas os produtos finais dos processos celulares.

Paralelamente, para avaliar se os micro-organismos estão ativos, utiliza-se a metatranscriptômica, definida como a ciência que estuda a expressão gênica de micro-organismos. Essa abordagem permite investigar a diversidade dos genes em atividade dentro de uma comunidade microbiana, quantificar seus níveis de expressão e monitorar alterações nessas expressões sob diferentes condições. A grande vantagem da metatranscriptômica é sua capacidade de revelar diferenças funcionais entre comunidades microbianas que, do ponto de vista estrutural (composição), aparentam ser semelhantes.[7]

Quadro 1.1: Prós e contras das principais técnicas de metagenômica

Método	*Prós*	*Contras*
Análise por gene marcador (p. ex., 16S rRNA)	• Preparação de amostras e análise simples, rápida e com menor custo • Correlaciona bem com conteúdo genômico • Possibilita a análise de amostras com baixa biomassa e de hospedeiros altamente contaminados • Grandes conjuntos de dados públicos disponíveis para comparação	• Não diferencia organismos vivos, mortos ou ativos • Sujeito a viés de amplificação • Requer conhecimento prévio da comunidade microbiana • Resolução normalmente limitada ao nível de gênero • Requer controles negativos apropriados • Informações funcionais limitadas
WGS	• Pode inferir diretamente na abundância relativa de genes funcionais microbianos: a identidade taxonômica e filogenética microbiana no âmbito das espécies e linhagens é atingível para os organismos conhecidos • É capaz de identificar fungos, vírus, plasmídeos, eucariontes microbianos etc. • Sem viés relacionado à amplificação • Pode estimar taxas de crescimento *in situ* para organismos-alvo com genomas sequenciados • Permite a montagem de genomas microbianos com média populacional • Pode ser utilizado para identificação de novos genes	• Relativo alto custo, com etapas de preparação de amostras e análise de dados complexa • Vírus e plasmídeos não são bem-anotados por metodologias padrão • Não é possível discriminar organismos vivos, mortos ou ativos • Média populacional de genomas microbianos tende a ser imprecisa em virtude de artefato de montagem
Metatranscriptoma	• Estima qual micro-organismo da comunidade está transcrevendo quando em parceria com análise de gene marcador • É capaz de diferenciar micro-organismos vivos ativos, inativos ou mortos e DNA extracelular • Captura variação dinâmica intraindividual • Avalia diretamente a atividade microbiana, excluindo respostas à intervenção e exposição a eventos	• Preparação de amostras e análise mais complexas e com maior custo • Contaminação por mRNA hospedeiro e rRNA devem ser removidos • Requer maiores cuidados na coleta e armazenamento de amostras • Os dados são desviados a organismos com altas taxas de transcrição • Requer sequenciamento de DNA emparelhado para desacoplar as taxas de transcrição de alterações na abundância bacteriana

WGS: shotgun ou whole genome sequencing.

Fonte: Adaptada de Knight R, Vrbanac A, Taylor BC et al. Best practices for analysing microbiomes. Nat Rev Microbiol. 2018;16(7):410-22.

A metagenômica, a metabolômica e a metatranscriptômica podem, ainda, ser complementadas pela proteômica, técnica que se propõe a identificar o conjunto completo de proteínas produzidas por uma célula – o proteoma —, analisando suas estruturas e funções.[8] A integração entre as abordagens "ômicas" é frequentemente referida como genômica funcional. Em analogia com outras áreas da Biologia e Medicina, a metagenômica seria equivalente à anatomia (estrutura), enquanto a metabolômica, transcriptômica e proteômica corresponderiam à fisiologia (função).[9]

As técnicas voltadas à identificação das funções do microbioma ainda apresentam custos significativamente mais elevados em comparação às abordagens que avaliam apenas sua estrutura. Por esse motivo, a metagenômica tem sido amplamente utilizada e produziu um volume muito maior de estudos do que as demais abordagens "ômicas". Como alternativa mais acessível para investigar a função do microbioma, muitos estudos passaram a buscar correlações entre a composição da microbiota e manifestações clínicas. No entanto, é importante destacar que a correlação não implica causalidade. Esses estudos apenas apontam associações entre determinadas configurações da microbiota e o aparecimento de sinais, sintomas ou doenças, sem necessariamente estabelecer uma relação causal. A partir desse tipo de investigação, surgiu o conceito de assinatura microbiana.

Define-se como assinatura microbiana a identificação, dentro de uma comunidade microbiana complexa, de um subconjunto de espécies cuja distribuição relativa apresenta correlação consistente com determinadas condições clínicas. Em outras palavras, trata-se de um grupo específico de micro-organismos cuja presença ou proporção alterada se associa de forma recorrente a um quadro clínico específico. A assinatura microbiana é, portanto, uma forma particular de disbiose, cuja configuração está associada a determinada doença ou condição fisiopatológica. A título de exemplo, a Figura 1.6 ilustra uma assinatura microbiana encontrada para a esclerose múltipla.

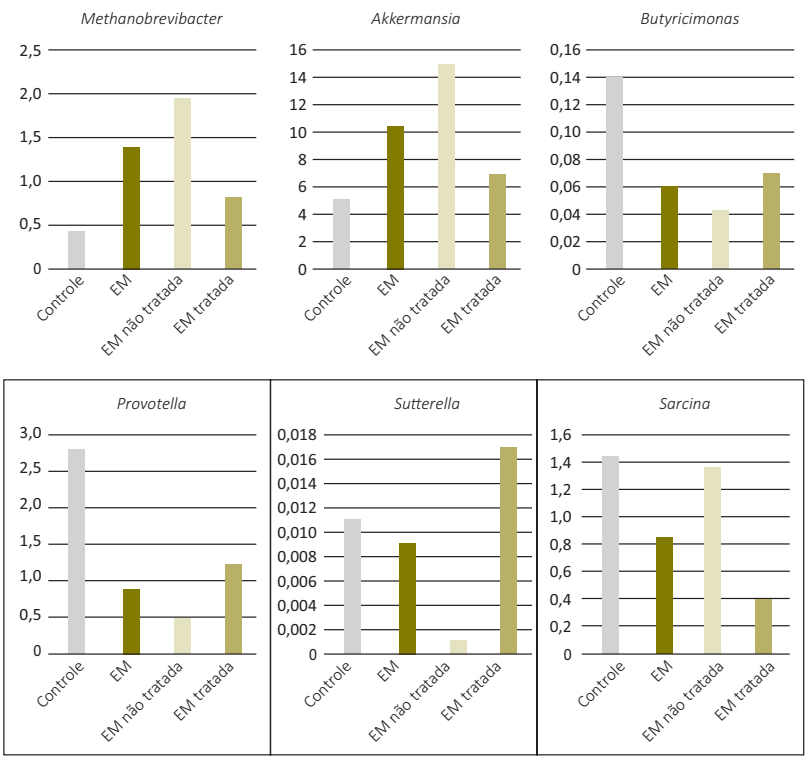


Figura 1.6 – Assinatura microbiana da esclerose múltipla: comparação de perfil de microbioma entre pacientes saudáveis (controle) e portadores de esclerose múltipla (EM), tratados ou não tratados.

Fonte: Adaptada de Jangi S, Gandhi R, Cox LM et al. Alterations of the human gut microbiome in multiple sclerosis. Nat Commun. 2016;28;7:12015.[10]

Atualmente, ainda não é possível afirmar com certeza se a presença de um perfil específico de microbiota – a chamada assinatura microbiana – representa uma causa ou uma consequência da doença. No entanto, existem situações em que alterações no perfil da MI podem ser detectadas antes mesmo do surgimento das manifestações clínicas, como ocorre na doença de Crohn e artrite reumatoide. Esse rastreamento precoce pode favorecer o manejo antecipado dos sintomas e a adoção de estratégias preventivas.

No caso de doenças já estabelecidas, a análise do microbioma pode funcionar como uma ferramenta complementar importante no acompanhamento clínico e na definição de terapias personalizadas. Nesses casos, intervenções que visem modular o microbioma – aproximando seu perfil da condição de eubiose – podem contribuir para a redução dos sintomas e a melhora da qualidade de vida do paciente. Além disso, a caracterização detalhada da MI, por meio da análise do microbioma, pode auxiliar na individualização de condutas nutricionais e terapêuticas, ampliando as possibilidades de atuação dentro da Medicina personalizada.

Vias de intervenção sobre o microbioma

Duas características fundamentais do microbioma são suas plasticidade e estabilidade. Isso significa que, embora possa ser modificado, o microbioma tende a retornar a sua configuração original. No entanto, é possível induzir uma nova estrutura composicional em torno da qual ele se estabilize. As principais formas de intervenção sobre o microbioma são descritas a seguir.

Terapia nutricional

A dieta tem potencial para influenciar profundamente a composição e função da MI. Assim, estratégias nutricionais se consolidam como estratégias de baixo risco e alta aplicabilidade para a modulação da microbiota.

A relação entre dieta e microbiota é bidirecional: os alimentos influenciam a composição microbiana, enquanto a própria microbiota pode afetar aspectos do comportamento alimentar e da regulação metabólica. Por exemplo, estudos indicam que a MI pode influenciar os níveis de hormônios relacionados à fome e à saciedade, como a leptina.[9] Além disso, concentrações elevadas de acetato – um ácido graxo de cadeia curta (AGCC) produzido por determinadas bactérias – estão associadas ao aumento da grelina, hormônio que estimula o apetite, criando um ciclo fisiológico de retroalimentação.

Uma questão ainda em aberto diz respeito à influência direta do microbioma sobre as preferências alimentares, tema que vem sendo investigado em estudos recentes. Os fatores nutricionais que modulam a MI serão explorados em mais detalhes no Capítulo 41 – Estratégias Nutricionais para Modular a Microbiota Intestinal.

Antibióticos

Os antibióticos exercem um dos efeitos mais impactantes sobre a MI, quando comparados a outros fatores externos. Eles reduzem rapidamente a diversidade microbiana e sua administração durante a infância pode provocar alterações duradouras no perfil da microbiota na vida adulta, favorecendo o surgimento de doenças futuras.

Apesar de seus efeitos adversos, os antibióticos não devem ser descartados como potenciais agentes de modulação ou restauração da microbiota em certos contextos clínicos. No entanto, ainda são necessários estudos mais robustos para elucidar os efeitos colaterais desses fármacos

sobre a estrutura e funcionalidade da MI. Com o avanço das pesquisas, têm sido desenvolvidos antibióticos mais específicos, como a fidaxomicina, que visam preservar a microbiota com o menor impacto possível sobre os micro-organismos comensais.[11]

Adequação de estilo de vida

O estilo de vida impacta fortemente a composição e a funcionalidade da microbiota. Diversos aspectos do cotidiano têm sido associados à modulação microbiana, de forma positiva ou negativa.[12-15] Entre os principais fatores, destacam-se:

1. Convivência com animais domésticos: a interação com animais de estimação, especialmente na infância, tem sido associada a menor risco de desenvolvimento de doenças alérgicas e asma.[12]
2. Prática regular de exercícios físicos: a atividade física está correlacionada ao aumento da diversidade microbiana.
3. Qualidade do sono: a privação de sono tem sido associada ao aumento da razão Firmicutes/Bacteroidetes e maior abundância das famílias Coriobacteriaceae e Erysipelotrichaceae.[13]
4. Níveis de estresse: o estresse crônico aumenta a permeabilidade intestinal e influencia negativamente a resposta inflamatória.[14-15]
5. Ambiente de habitação ou trabalho: o microbioma humano pode sofrer alterações conforme o ambiente. Por exemplo, o microbioma de marinheiros difere significativamente quando estes estão em terra em comparação a quando permanecem longos períodos no mar.
6. Interação física entre indivíduos: o contato físico intenso e frequente favorece o compartilhamento e a transferência de micro-organismos entre as pessoas.
7. Hábitos de higiene: a exposição excessiva a ambientes estéreis, ou pouco colonizados, pode reduzir o contato com micro-organismos benéficos, afetando negativamente a diversidade da microbiota.

Uso de prebióticos, probióticos, simbióticos e transplante de microbiota fecal

Prebióticos, probióticos e simbióticos são opções terapêuticas muito estudadas e utilizadas no manejo da MI. Os inúmeros impactos positivos do uso de alimentos e suplementos fontes de prebióticos, probióticos e simbióticos serão descritos detalhadamente nos capítulos que compõem a parte 3 deste livro, dedicada ao tema "Alterações em Saúde, Disbiose e Terapia com Prebióticos, Probióticos e Simbióticos".

No caso do transplante de microbiota fecal (TMF), embora atualmente seja uma abordagem reconhecida para o tratamento de diversas condições – sobretudo infecções por *Clostridium difficile* e retocolite ulcerativa –, sua origem remonta ao século II, na China. Os detalhes sobre indicações clínicas, evidências científicas e metodologias aplicadas ao TMF estão apresentados no Capítulo 21 – Transplante de Microbiota Fecal para Infecção por *Clostridium difficile*.

Conclusões

As análises de microbioma vêm revolucionando a prática clínica, o que possibilita uma estratificação mais precisa dos pacientes, amplia a compreensão de múltiplas doenças e cria bases para terapias verdadeiramente personalizadas.

Com o avanço das tecnologias analíticas voltadas à MI, é cada vez mais plausível que o sequenciamento do microbioma passe a ser utilizado de forma rotineira na identificação de biomarcadores clínicos, capazes de predizer ou diagnosticar condições de forma não invasiva.

Embora o sequenciamento da microbiota já apresente aplicações relevantes na prática médica atual, estamos apenas no início dessa trajetória. No futuro, provavelmente nos perguntaremos como foi possível ignorar, por tanto tempo, a modulação da MI como estratégia terapêutica.

Os próximos capítulos apresentarão o estado da arte da pesquisa sobre o microbioma humano, um campo que atravessa praticamente todas as especialidades médicas. Da Pediatria à Geriatria, da Ortopedia à Psiquiatria, passando pelo tratamento de diferentes tipos de câncer, as descobertas sobre o microbioma estão impulsionando uma nova era de avanços na Medicina.

Referências bibliográficas

8. Pennisi E. Encode project writes eulogy for junk DNA; 2012.
9. Integrative HMP (iHMP) Research Network Consortium. The integrative human microbiome project: dynamic analysis of microbiome-host omics profiles during periods of human health and disease. Cell Host Microbe. 2014;16(3):276-89.
10. Knight R, Vrbanac A, Taylor BC, Aksenov A, Callewaert C, Debelius J et al. Best practices for analysing microbiomes. Nat Rev Microbiol. 2018;16(7):410-22.
11. Forbes JD, Bernstein CN, Tremlett H, Van Domselaar G, Knox NC. A fungal world: could the gut mycobiome be involved in neurological disease? Front Microbiol. 2019;9:3249.
12. Sekirov I, Russell SL, Antunes LC, Finlay BB. Gut microbiota in health and disease. Physiol Rev. 2010;90(3):859-904.
13. Villas-Bôas SG, Gombert AK. Análise do metaboloma: uma ferramenta biotecnológica emergente na era pós-genômica. Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento. 2006;36:58-69.
14. Lynch SV, Pedersen O. The human intestinal microbiome in health and disease. N Engl J Med. 2016;375(24):2369-79.
15. Bashiardes S, Zilberman-Schapira G, Elinav E. Use of metatranscriptomics in microbiome research. Bioinform Biol Insights. 2016;10:19-25.
16. ISAAA. 'Omics' sciences: genomics, proteomics, and metabolomics. Pocket K. 2006;15. Disponível na Internet: https://www.isaaa.org/resources/publications/pocketk/15/default.asp (23 maio2025).
17. Jangi S, Gandhi R, Cox LM, Li N, von Glehn F, Yan R et al. Alterations of the human gut microbiome in multiple sclerosis. Nat Commun. 2016;28;7:12015.
18. Zhang C, Yin A, Li H, Wang R, Wu G, Shen J et al. Dietary modulation of gut microbiota contributes to alleviation of both genetic and simple obesity in children. EBioMedicine. 2015;2(8):968-84.
19. Young VB. The role of the microbiome in human health and disease: an introduction for clinicians. BMJ. 2017;356:j831.
20. Von Mutius E. The microbial environment and its influence on asthma prevention in early life. J Allergy Clin Immunol. 2016;137(3):680-9.
21. Benedict C, Vogel H, Jonas W, Woting A, Blaut M, Schürmann A et al. Gut microbiota and glucometabolic alterations in response to recurrent partial sleep deprivation in normal-weight young individuals. Mol Metab. 2016; 24;5(12):1175-86.
22. Karl JP, Margolis LM, Madslien EH, Murphy NE, Castellani JW, Gundersen Y et al. Changes in intestinal microbiota composition and metabolism coincide with increased intestinal permeability in young adults under prolonged physiological stress. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol. 2017;312(6):G559-71.