

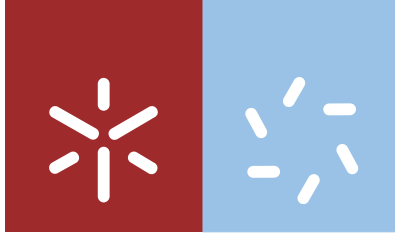


Universidade do Minho
Escola de Ciências

Maria José Ferreira de Sá

Relatório de atividade profissional

Mestrado em Ciências – Formação Contínua
de Professores
Área de Especialização em Biologia e Geologia



Universidade do Minho
Escola de Ciências

Maria José Ferreira de Sá

Relatório de atividade profissional
Ao abrigo do Despacho RT-38/2011

Mestrado em Ciências – Formação Contínua
de Professores
Área de Especialização em Biologia e Geologia

Trabalho realizado sob a supervisão da
Professora Doutora Cristina Aguiar

DECLARAÇÃO

Nome: Maria José Ferreira de Sá

Correio electrónico: zeca.sa@sapo.pt

Número do Bilhete de Identidade:10886093

Título: Relatório de Atividade Profissional

Ano de conclusão: 2015

Orientadora: Professora Doutora Cristina Aguiar

Mestrado em Ciências – Formação Contínua de Professores

Área de Especialização em Biologia e Geologia

É AUTORIZADA A REPRODUÇÃO INTEGRAL DESTES RELATÓRIOS APENAS PARA EFEITOS DE INVESTIGAÇÃO,
MEDIANTE DECLARAÇÃO ESCRITA DO INTERESSADO, QUE A TAL SE COMPROMETE.

Braga, ___/___/_____

Assinatura: _____

DEDICATÓRIA

Aos meus filhos, Guilherme e Matilde que, espero, vejam neste relatório a alegria e a recompensa da dedicação ao trabalho.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a toda a minha família, pelo esforço pessoal no apoio durante a redação deste relatório.

Agradeço à Professora Cristina Aguiar pela disponibilidade e orientação.

RESUMO

O presente relatório surge no âmbito do Mestrado em Ciências – Formação Contínua de Professores – Área de Especialização em Biologia e Geologia, ao abrigo do ponto 3, do Despacho RT-38/2011, organizando-se em duas partes.

A primeira parte desenvolve uma reflexão sobre a atividade profissional desenvolvida entre 1997 e 2015, parcialmente documentada em registos fotográficos, declarações e certificados. Consideram-se os cargos desempenhados, a frequência em ações de formação contínua, a descrição de estratégias pedagógicas implementadas em atividade diversas e a coordenação de projetos pedagógicos e científicos, dando particular relevo à mobilização de competências essenciais à formação integral dos alunos.

Na segunda parte é apresentado um trabalho de pesquisa bibliográfica intitulado “Aplicação de bacteriófagos em biocontrolo”. Pretende-se organizar informação relevante, do ponto de vista científico, sobre as vantagens da aplicação destes vírus no controlo de infeções causadas por bactérias em diversas áreas como na saúde, agropecuária, indústria alimentar e ambiente, entre outras. O interesse relacionado com a aplicação de bacteriófagos em biocontrolo está amplamente difundido na comunidade científica, no entanto, está praticamente ausente ao nível do ensino secundário podendo ser incluída ao nível dos programas educativos.

Após a leitura do documento, creio ser possível constatar uma prática educativa assente numa formação científica sólida, caracterizada pela implementação de metodologias diversificadas, com uma forte componente experimental de cariz empreendedor, enfatizando o papel da ciência na resolução de problemas do quotidiano.

ABSTRACT

The current report was written under the scope of the Master degree in Sciences - Further Education for Teachers specialization in Biology and Geology, and according to section 3 of Despacho RT-38/2011, being organized into two parts.

The first part presents a reflection on the professional activity carried out from 1997 to 2015, partially documented in photographic evidence, and certificates of attendance. The positions held and the participation in continuous training activities, the educational strategies implemented in different activities and also the supervision of educational and scientific projects, with particular emphasis on the mobilization of core competences to the integral formation of students, giving particular relevance to the acquisition and mobilization of key competences, all are considered in this work.

A bibliographic research work entitled "Application of bacteriophages in biocontrol" is presented in the second part. The aim is to organize relevant information, from the scientific point of view, on the advantages of the application of these viruses in controlling bacterial infections in several areas such as health, agriculture, food industry and environment, among others. The interest related to the application of bacteriophages in biocontrol is widespread among the scientific community; however, this is a topic which is almost absent in high school curricula but it could be included in educational programs.

After document reading I believe it is possible to see an educational practice based on a solid scientific background, characterized by the implementation of different approaches, with a strong experimental component of entrepreneurial nature, emphasizing the role of science in solving everyday problems.

ÍNDICE GERAL

RESUMO	iv
ABSTRACT	v
ÍNDICE GERAL	vi
ÍNDICE DE FIGURAS	ix
ÍNDICE DE TABELAS	xi
1. INTRODUÇÃO	1
PARTE I	3
2. REGISTO DE ATIVIDADE PROFISSIONAL	4
3. FORMAÇÃO CONTÍNUA E O SEU IMPACTO NO DESEMPENHO PROFISSIONAL	5
3.1. DOMÍNIO CIENTÍFICO	5
3.2. EDUCAÇÃO PARA A SAÚDE	7
3.3. TECNOLOGIAS DE INFORMAÇÃO	9
4. ESTRATÉGIAS PEDAGÓGICAS IMPLEMENTADAS E O SEU CONTRIBUTO NA MELHORIA DAS APRENDIZAGENS DOS ALUNOS	10
4.1. VISITAS DE ESTUDO	10
4.2. AULAS DE CAMPO	12
4.3. UTILIZAÇÃO DE MODELOS PEDAGÓGICOS	12
4.4. COLABORAÇÃO COM INSTITUIÇÕES DE INVESTIGAÇÃO	13
4.4.1. “CÓDIGO DA VIDA: O CRIMINOSO”	13
4.4.2. “CONSTRUÇÃO DE UM ALGÁRIO E EXTRAÇÃO DE AGAR-AGAR	14

4.5. ORIENTAÇÃO DE PROVAS DE APTIDÃO PROFISSIONAL (PAP).....	15
4.6. ARTICULAÇÃO ENTRE A ESCOLA E A COMUNIDADE	16
5. IMPLEMENTAÇÃO DO PROJETO DE EDUCAÇÃO PARA A SAÚDE (PES) E A SUA RELEVÂNCIA PARA A EDUCAÇÃO INTEGRAL DOS ALUNOS	17
5.1. “OPERAÇÃO MÃOS LIMPAS”	18
5.2. “O EFEITO DE SUBSTÂNCIAS PSICOATIVAS SOBRE O RITMO CARDÍACO”	19
6. PROJETOS CIENTÍFICOS DESENVOLVIDOS E O SEU CONTRIBUTO NO RECONHECIMENTO DO PAPEL DA CIÊNCIA NA RESOLUÇÃO DE PROBLEMAS DO QUOTIDIANO	20
6.1. DO PROJETO “E QUANDO OS ANTIBIÓTICOS NÃO FUNCIONAM” ATÉ AO PROJETO “FAGOTERAPIA PARA AS CÁRIES”	20
6.2. FASES DO PROJETO “FAGOTERAPIA PARA AS CÁRIES”	21
6.3. BALANÇO DA PARTICIPAÇÃO EM PROJETOS CIENTÍFICOS	25
7. CONCLUSÃO	28
PARTE II	29
8. APLICAÇÃO DE BACTERÍOFAGOS EM BIOCONTROLO	30
8.1. INTRODUÇÃO	30
8.2. OS VÍRUS – CARACTERÍSTICAS GERAIS	30
8.3. DIVERSIDADE E ECOLOGIA DOS BACTERÍOFAGOS	33
8.4. TAXONOMIA DOS BACTERÍOFAGOS	34
8.5. ESTRUTURA DOS BACTERÍOFAGOS COM CAUDA	37
8.6. CICLOS DE REPLICAÇÃO	38
8.7. ESPECIFICIDADE DOS BACTERÍOFAGOS	40

8.8. EVOLUÇÃO DOS SISTEMAS DE INFEÇÃO EM RESPOSTA AOS MECANISMOS DE RESISTÊNCIA	44
8.9. PERSPETIVA HISTÓRICA DA APLICAÇÃO DOS BACTERÍOFAGOS EM BIOCONTROLO	47
8.10. POTENCIAIS APLICAÇÕES DE BACTERÍOFAGOS EM BIOCONTROLO	49
8.10.1. SAÚDE HUMANA.....	49
8.10.2. AGRICULTURA E PRODUÇÃO ANIMAL.....	52
8.10.3. INDÚSTRIA DO PROCESSAMENTO DE ALIMENTOS.....	55
8.10.4. AMBIENTE	56
8.10.5. ERRADICAÇÃO DE BIOFILMES.....	57
8.10.6. LISINAS – ALTERNATIVA AO USO DE BACTERÍOFAGOS	59
8.10.7. BIOTERRORISMO	60
8.11. ISOLAMENTO E QUANTIFICAÇÃO DE BACTERÍOFAGOS	61
8.12. CONCLUSÃO	63
9. BIBLIOGRAFIA.....	66
10. ANEXOS	71

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Visita guiada ao museu de Geologia da UTAD.....	10
Figura 2: Aula de campo nas Fisgas de Ermelo.....	11
Figura 3: Observação de líquenes nas árvores.....	12
Figura 4: Importância das raízes na manutenção da estrutura do solo.....	13
Figura 5: Simulação de uma erupção vulcânica.....	13
Figura 6: Atividade experimental “Código da vida: o criminoso”.....	14
Figura 7: Construção de um algário.....	14
Figura 8: Alguns detalhes do procedimento realizado para extração de agar-agar de algas.....	15
Figura 9: Orientação da PAP- Produção de cogumelos <i>Pleurotus ostreatus</i>	16
Figura 10: Participação do IEFP na “Camilo Empreende”.....	17
Figura 11: Apresentação dos resultados da “Operação mãos limpas”.....	18
Figura 12: “O efeito de substâncias psicoativas sobre o ritmo cardíaco das dáfnias”.....	19
Figura 13: Rastreio de saúde oral realizado por técnicos da CESPU.....	22
Figura 14. Resultados do isolamento de bactérias de amostras de saliva.....	23
Figura 15: Observação de placas de lise.....	24
Figura 16: Apresentação dos resultados do projeto “Fagoterapia para as cáries”.....	24
Figura 17: Estrutura dos vírus nus e dos vírus com envelope.....	31
Figura 18: O ciclo de replicação de um vírus bacteriano.....	32
Figura 19: Curva de replicação viral.....	33
Figura 20: Classificação dos bacteriófagos com base na natureza da informação genética.....	34
Figura 21: Imagens de bacteriófagos (microscopia eletrónica).....	36

Figura 22: Famílias de fagos com cauda.....	36
Figura 23: Estrutura do bacteriófago T4.	37
Figura 24: Componentes estruturais do bacteriófago T4..	38
Figura 25: Diferentes ciclos de replicação dos bacteriófagos..	39
Figura 26 Estrutura da paredes das bactérias Gram-negativas.	41
Figura 27: Recetores de fagos de <i>Salmonella</i> (Gram-negativa).....	42
Figura 28: Processo de infeção de <i>E coli</i> pelo fago T4.	42
Figura 29: Parede celular de <i>Lactococcus lactis</i> as suas interações com bacteriófagos.....	43
Figura 30: Infeção de <i>Salmonella enterica</i> pelo bacteriófago iEPS5.....	44
Figura 31: Sistemas bacterianos antifago.....	45
Figura 32: Estratégias dos bacteriófagos para ter acesso a recetores do hospedeiro.....	46
Figura 33 Frederick Twort (1877-1950) e Felix d’Herelle (1873-1949)	47
Figura 34 Microscopia eletrónica de fagos isolados de <i>P. acnes</i>	51
Figura 35: Fotografia de microscopia eletrónica do Bacteriófago M102AD.....	52
Figura 36: Resultados do tratamento com fagos em aves..	54
Figura 37: Aplicação de bacteriófagos ao longo da cadeia alimentar.....	56
Figura 38: Ciclo de vida das bactérias em biofilme..	58
Figura 39: Estratégia de ataque dos bacteriófagos para a remoção do biofilme.....	58
Figura 40: Aplicação exógena da lisina ClyS sobre <i>Staphylococcus aureus</i>	59
Figura 41: Efeito de PlyG em <i>B. cereus</i>	61
Figura 42: Pcedimento para a cultura de bacteriófagos.	63

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1 Caracterização de algumas famílias de fagos.....	35
Tabela 2: Vantagens do uso de bacteriófagos relativamente ao uso de antibióticos.....	49

1. INTRODUÇÃO

“A vida é um constante ato de aprendizagem”

Jean Piaget

Atualmente, os tempos e os espaços de aprendizagem deixaram de estar estritamente confinados à sala de aula. As constantes mudanças a que a sociedade atual está sujeita, acompanhadas por alterações profundas nos campos científico e tecnológico, têm vindo a transformar a nossa relação com o conhecimento e a forma como ele é produzido, assimilado e divulgado. A valorização da autoaprendizagem sobre a aprendizagem enquanto processo mecanizado e, acima de tudo, a articulação e aplicação dessas aprendizagens, são essenciais para transformar alunos em cidadãos capazes de se orientarem na vida e de contribuírem ativa, crítica e positivamente para a sociedade em que se inserem.

O compromisso com a promoção da aprendizagem e com o desenvolvimento pessoal e cívico dos alunos exige a planificação e implementação de atividades estimulantes, assentes em conhecimentos cientificamente sólidos, com recurso a metodologias proativas e diversificadas. Por outro lado, é essencial a reflexão constante sobre as práticas, num processo de permanente construção e evolução no sentido de responder aos desafios educativos.

Na primeira parte deste relatório pretendo dar mais um contributo para a prática reflexiva, considerando os aspetos mais relevantes do meu percurso profissional, tendo como principais objetivos: caracterizar a minha atividade docente, identificar o seu contributo na formação académica e cívica dos alunos e partilhar experiências. Assim, no ponto 2, apresento um breve registo da minha atividade letiva, destacando também a participação ao nível das estruturas educativas intermédias. No ponto 3, descrevo o meu percurso relativo à formação contínua, apresentando o seu impacto no desempenho profissional. Durante o ponto 4, são descritas estratégias pedagógicas implementadas e o seu contributo na melhoria das aprendizagens dos alunos. Ao longo do ponto 5, abordo a implementação do Projeto de Educação para a Saúde (PES) e a sua relevância para a educação integral dos alunos. Finalmente, no ponto 6, apresento projetos científicos que considero terem contribuído significativamente, para o desenvolvimento

da curiosidade científica e para o reconhecimento do papel da ciência na resolução de problemas do cotidiano.

Na segunda parte, respondendo a uma exigência do Guião disponibilizado pela Comissão Diretiva do Mestrado para a elaboração deste Relatório, desenvolvo uma revisão bibliográfica intitulada "Aplicação de Bacteriófagos em Biocontrolo" com o objetivo de consolidar conhecimentos, sobre a possibilidade da aplicação de bacteriófagos no controlo de infeções bacterianas. Pretendo partilhar esses conhecimentos e utilizá-los no desenvolvimento de atividades experimentais catalisadoras da curiosidade científica dos alunos.

PARTE I

ATIVIDADE DOCENTE

2. REGISTO DE ATIVIDADE PROFISSIONAL

Licenciada em Ensino de Biologia/Geologia (anexo 1), ao longo da minha carreira trabalhei diferentes disciplinas relacionadas com as duas áreas de formação. Ao nível do 3º ciclo do ensino básico lecionei a disciplina de Ciências Naturais aos vários níveis, incluindo o Curso de Educação Formação e Ensino Vocacional. Ao nível do ensino secundário regular, ensinei as disciplinas de Ciências da Terra e da Vida (10º/11º ano), Técnicas Laboratoriais de Biologia (II e III) e Biologia (12º ano). Ao nível do ensino profissional, trabalhei várias disciplinas da componente técnica de diversos cursos profissionais: Microbiologia ao curso profissional de Processamento e Controlo da Qualidade Alimentar; as disciplinas de Anatomofisiologia e Higiene Segurança e Organização do Trabalho ao curso profissional de Prótese Dentária; a disciplina de Conservação da Natureza ao curso profissional de Técnico de Gestão de Ambiente e a disciplina de Tecnologia Alimentar ao curso profissional de Técnico de Restauração. Orientei alunos em Estudo Acompanhado, Área de Projeto, Educação para a Cidadania e no âmbito do ensino profissional fui orientadora de Formação em Contexto de Trabalho (FCT) e Prova de Aptidão Profissional (PAP) em diversas experiências que fui partilhando e procurei aperfeiçoar tendo em conta a competência e a ética profissional. Os últimos anos de atividade exigiram alguma “audácia” com desenvolvimento de programas de carácter predominantemente prático, relacionados com a formação técnica do ensino profissional, e a participação em projetos de âmbito científico, que conduziram à necessidade de atualização, quer recorrendo a pesquisa bibliográfica, quer desenvolvendo formação específica no âmbito da formação contínua. Foi sem dúvida um esforço pessoal considerável, quer pelo tempo disponibilizado quer pelo valor pecuniário algumas vezes envolvido.

A participação nas estruturas intermédias foi essencial para estabelecer a articulação entre a escola e a comunidade, contribuindo para a educação integral dos alunos. Foram vários os cargos desempenhados na componente não letiva: Diretora de turma, Diretora de curso, Coordenadora do Departamento Não Curricular dos Projetos Educativos, membro do Conselho Pedagógico, coordenadora do Projeto de Educação para a Saúde (PES) e coordenadora do programa Regional de Educação Sexual em Saúde Escolar (PRESSE). Os diversos cargos desempenhados permitiram a comunicação com as famílias dos alunos e a articulação com empresas no sentido de completar a sua

formação técnica. A Coordenação do PES permitiu a articulação entre a escola e os serviços de saúde e a implementação de programas no sentido de desenvolver nos alunos hábitos de vida saudável e comportamentos assertivos. A participação no Conselho Pedagógico permitiu articulação com diversas estruturas pedagógicas e participar nas decisões que regem a atividade diária de uma escola.

3. FORMAÇÃO CONTÍNUA E O SEU IMPACTO NO DESEMPENHO PROFISSIONAL

Considero a formação profissional essencial para o sucesso do trabalho como docente, pois este requer uma permanente reconstrução quer de competências científicas e técnicas quer pedagógicas, que permitem adequar os conteúdos e os processos de ensino aos diferentes contextos e necessidades dos alunos. Ao longo da minha atividade, desenvolvi estratégias de aquisição e atualização de competências, recorrendo ao autodidatismo e à participação em diversas ações de formação contínua como Cursos, Seminários e Oficinas promovidas por instituições credíveis e prestigiadas. A formação desenvolvida pode ser enquadrada em três domínios: Científico, Educação para a Saúde e Tecnologias da Informação e Comunicação destacando-se pelo nível de atualização, aprofundamento de conhecimentos e competências adquiridas relevantes no desenvolvimento de atividades curriculares e extracurriculares.

3.1. DOMÍNIO CIENTÍFICO

Durante o ano letivo de 1998-1999 participei na Excursão Geológica à Serra do Marão, no âmbito das atividades do Projeto Ciência Viva III – 679 – Geologia no Museu, na Escola e no campo: aprender pela experimentação (anexo 2) e na Conferência intitulada “A formação de jazigos de petróleo e a sua pesquisa. O caso português” proferida pelo Dr. João Pacheco, do Instituto Geológico e Mineiro, organizada pelo Departamento de Ciências da Terra (DCT) da Universidade do Minho (UM) e integrada no ciclo GeoFórum 1999/2000 (anexo 3).

Em 1999-2000 realizei os Cursos “Fundamentos da Microbiologia” com o registo de acreditação nº CCPFC/ACC -14201/99 (anexo 4) e “A Biologia dos Microrganismos e o seu Impacto na Vida e nos Ecossistemas – Uma perspetiva aplicada II”, com o registo

de acreditação nº CCPFC/ACC -10863/98, ambos promovidos pelo Centro de Formação Júlio Brandão e tendo uma duração de 25 horas (anexo 5).

Em 2000-2001 integrei o Curso “Geofórum: métodos de estudo de rochas ígneas e sua aplicação ao ensino”, sob o registo de acreditação CCPFC/ACC – 20470/00 de 16 de outubro (40 horas), na Escola de Ciências da Universidade do Minho (ECUM) (anexo 6).

Durante o ano letivo 2005-2006 frequentei o Curso “Genética e Biologia Molecular”, com o registo de acreditação CCPFC/ACC – 32557/03 promovido pelo Centro de Formação Contínua da Ordem dos Biólogos e ministrado no Departamento de Biologia (DB) da UM (anexo 7) e a Oficina “Pelos trilhos da natureza – uma nova abordagem em educação ambiental” registo CCPFC/ACC-38720/05, do Centro de Formação Camilo Castelo Branco, Vila Nova de Famalicão (anexo 8).

Em 2006-2007 integrei o Curso “Práticas de Biologia Celular na Sala de Aula”, registo CCPFC/ACC – 36000/04 do Centro de Formação Contínua da Ordem dos Biólogos na Escola Superior Agrária de Ponte de Lima (anexo 9).

Durante 2007-2008 frequentei o Curso “Imunidade e Controlo de doenças”, com o registo de acreditação CCPFC/ACC – 50518/08. Foi promovido pelo Centro de Formação Contínua da Ordem dos Biólogos e decorreu no DB da UM (anexo 10).

Em 2008-2009 frequentei o Curso “Os Micróbios tão perto de Nós” – registo de acreditação nº CCPFC/ACC – 55360/09 e duração de 25 horas que decorreu no DB da UM, promovido pelo Centro de Formação Contínua da Ordem dos Biólogos (anexo 11).

Em 2009-2010 participei no Curso "Fundamentos Básicos de Biologia Molecular", registo de acreditação nº CCPFC/ACC – 61654/10, com a duração de 25 horas. Foi promovida pelo Centro de Formação da Ordem dos Biólogos e decorreu na Faculdade de Medicina da Universidade do Porto (anexo 12). Em junho de 2010 participei nas XXXV Jornadas Portuguesas de Genética que decorreram na UM (anexo 13).

Durante o ano letivo 2010-2011 frequentei o Curso “Microbiologia Alimentar”, acreditado pelo Conselho Científico -Pedagógico de Formação Contínua (CCPFC) sob

o registo CCPFC/ACC – 66411/11, com a duração de 25 horas, e decorreu na Escola Secundária Camilo Castelo Branco (anexo 14).

No domínio científico procurei uma atualização permanente. Sempre que possível, optei pelas modalidades de oficina ou curso, pela relação que aí se estabelece com o trabalho prático de laboratório pois considero-o uma componente indispensável no ensino das ciências. A formação contínua na área da Geologia, embora menos expressiva, revelou grande utilidade na catalogação de amostras na escola e no desenvolvimento de aulas laboratoriais. Trabalhar no Curso Profissional de Processamento e Controlo da Qualidade Alimentar obrigou a uma especial dedicação à Microbiologia, uma vez que o controlo microbiológico de alimentos exige competências laboratoriais muito específicas. Por esta razão, a maioria da formação frequentada relaciona-se com a área. No entanto, a Genética e Biologia Molecular e a Imunidade e Controlo de Doenças foram também áreas que me permitiram desenvolver competências científicas, particularmente úteis ao nível da disciplina de Biologia do 12º ano do curso de ciências e tecnologias. A formação elencada permitiu-me adquirir conhecimentos específicos sobre o manuseamento de microrganismos, conhecer e preparar meios de cultura, dominar técnicas de sementeira, incubação, isolamento e contagem de microrganismos, assim como implementar as condições de assepsia essenciais neste tipo de trabalho. A formação específica em microbiologia alimentar foi, sem dúvida, uma mais-valia para o meu desempenho profissional devido, sobretudo, aos saberes de carácter prático que foram adquiridos e que se revelaram muito pertinentes no meu desenvolvimento científico, permitindo-me melhorar o desempenho na preparação das aulas de controlo microbiológico de alimentos. Por outro lado, a experiência adquirida encorajou-me a responder a um desafio lançado pelo Centro de Formação da Escola, que consistiu em organizar a ação de formação “Boas Práticas de Segurança Alimentar/HACCP e Higienização”, acreditada pela Direção Geral dos Recursos Humanos da Educação sob o Registo DGA/01-161/12, com a duração de 18 horas, dirigida aos assistentes operacionais da Escola Secundária Camilo Castelo Branco (anexo 15).

3.2. EDUCAÇÃO PARA A SAÚDE

Durante o ano letivo 2010/2011 participei na Oficina de Formação: “Atuação do Diretor de Turma na educação para a sexualidade – Um projeto de escola” acreditada

pelo CCPFC sob o registo CCPFC/ACC – 65125 com a duração total de 50 horas, promovido pelo Centro de Formação de Associação de Escolas de Vila Nova de Famalicão (anexo 16). Ainda no mesmo ano, frequentei a Oficina ”PRESSE - Programa Regional de Educação Sexual em Saúde Escolar”, com o nº de registo de acreditação CCPFC/ACC – 63478/10 e 35 horas de duração, promovida pelo Centro de Formação Júlio Resende (anexo 17). O PRESSE é promovido pela Administração Regional de Saúde do Norte, I.P. (ARSN) através do seu Departamento de Saúde Pública (DSP) em parceria com a Direção Regional de Educação do Norte (DREN) e apoia a implementação da educação sexual nas escolas, de uma forma estruturada e sustentada, envolvendo um trabalho conjunto entre os profissionais de educação e de saúde escolar. A formação possibilitou desenvolver competências importantes na organização e dinamização do Gabinete de Informação e Apoio (GIA), estrutura que se tornou obrigatória com a entrada em vigor da legislação referida. A organização do GIA da Escola Secundária Camilo Castelo Branco exigiu a coordenação de um espaço e de uma equipa multidisciplinar, cujo objetivo se relaciona com a orientação dos alunos em assuntos atinentes à saúde em geral e à educação sexual em particular. Foi um trabalho muito exigente, mas muito gratificante quer em termos profissionais quer pessoais, uma vez que, ajudar os adolescentes nas suas necessidades, permite-nos refletir e adaptar a nossa prática como educadores, tanto na escola como na própria família.

Após a formação, submeti o meu currículo à apreciação do CCPFC que procedeu ao meu registo como formador (CCPFC/RFO-30706/12), nas seguintes áreas e domínios: C05 – Didática Específica (Biologia); D11 – Educação para a Saúde e D12 - Práticas de Educação para a Saúde (Educação Sexual) aplicada a Educadores de Infância e Professores dos Ensino Básico e Secundário (anexo 18). A formação recebida e o Certificado de Qualificação de Formador permitiram-me, desde 2011/2012, colaborar com o Centro de Formação do Agrupamento de Escolas Camilo Castelo Branco e organizar e ministrar a formação “Educação para a Sexualidade na Aplicação do Programa PRESSE” dirigida aos diretores de turma (anexos 19, 20 e 21), no sentido de apoiar a aplicação da Lei n.º 60/2009 de 6 de agosto que estabelece o regime de aplicação da educação sexual em meio escolar. Esta formação foi organizada em parceria com as enfermeiras da saúde escolar e com a psicóloga dos serviços de psicologia e orientação.

3.3. TECNOLOGIAS DE INFORMAÇÃO E COMUNICAÇÃO (TIC)

Durante o ano letivo 1998-1999 participei no Curso “A informática no ensino” sob o registo de acreditação CCPFC/ACC – 13257/98. Com 50 horas, foi promovido pelo Centro de Formação Profissional do Sindicato de Professores da Zona Norte (anexo 22).

Em 2000-2001 frequentei a Formação “ O computador e os sensores no ensino das Ciências”, promovida pelo Departamento de Motricidade, Ciências Exatas e Naturais e o Projeto “Ciência Viva” da escola EB 2,3 Dr. Nuno Simões, em colaboração com a Noveduc – Material Didático, Lda (anexo 23).

Finalmente, neste domínio, em 2010-2011, frequentei o Curso “Competências Digitais (nível 1) com o registo de acreditação nº CCPFC/ACC – 58574/09, de 15 horas, que decorreu na Escola Secundária Camilo Castelo Branco (anexo 24).

As TIC mudaram completamente a minha prática pedagógica ao longo dos anos. Tomei conhecimento da existência de ferramentas e tecnologias que podem ser utilizadas em contexto de sala de aula e que são potenciadoras e facilitadoras do processo de ensino-aprendizagem, facultando aulas mais estimulantes e aumentando a motivação dos alunos. Por outro lado, tomei consciência das potencialidades dos programas informáticos no apoio à aplicação dos critérios de avaliação, com a construção de grelhas em programas de cálculo. O desenvolvimento de competências ao nível da utilização de plataformas facilitou também a comunicação com toda a comunidade, permitindo a disponibilização ou a recolha de materiais.

Após a conclusão de cada formação, refleti sobre as competências adquiridas e sobre a forma de as mobilizar para a melhoria do desempenho dos alunos. Foram vários os momentos em que tive oportunidade de as pôr em prática, quer na partilha com colegas de profissão, quer em atividades curriculares e extracurriculares.

4. ESTRATÉGIAS PEDAGÓGICAS IMPLEMENTADAS E O SEU CONTRIBUTO NA MELHORIA DAS APRENDIZAGENS DOS ALUNOS

“Aprende-se a fazer fazendo”

Aristóteles

Em ambas as áreas de formação, planifiquei e implementei diversas estratégias em atividades curriculares e extracurriculares, visando a melhoria das aprendizagens pelos alunos. Aqui, destaco algumas atividades que considero relevantes por serem esclarecedoras da compreensão de fenómenos naturais (cuja reprodução pode tornar-se difícil em sala de aula), por permitirem a aplicação de conhecimentos em situações do quotidiano (realçando a sua utilidade e visando uma aprendizagem criativa e ativa), por desenvolverem o espírito de curiosidade e permitirem a aplicação do método científico, pelo carácter diferenciador capaz de fomentar a abertura ao meio, criando sinergias positivas com diversas entidades internas e externas ao território educativo e, finalmente, pela experiência e conseqüente aprendizagem que me ofereceram.

4.1. VISITAS DE ESTUDO

No ano letivo 1998/1999 planifiquei uma visita de estudo no âmbito da Geologia inserida no programa do 7º ano (figura 1). Para além da visita ao Museu de Geologia da Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro (UTAD), dinamizou-se uma aula de campo nas Figsas de Ermelo e proporcionou-se a visita ao Planetário do Porto. No Museu de Geologia os alunos apreciaram uma vasta coleção de fósseis, minerais e



Figura 1: Visita guiada ao museu de Geologia da UTAD (1998/99).

rochas e observaram lâminas no microscópio petrográfico. Foi também possível observar os técnicos a transformar uma amostra numa lâmina delgada.

Mais tarde, a visita evoluiu para uma breve aula de campo, que decorreu em pleno Parque Natural do Alvão. Os alunos apreciaram a cascata das Fiskas de Ermelo (figura 2), ex-libris do Parque, verificando a forte incisão resultante da capacidade erosiva das águas do rio Olo sobre os quartzitos ordivícicos que se dispõem em bancadas formando um anticlinal. A aula de campo foi também interessante do ponto de vista ambiental, sendo possível perceber a importância das áreas protegidas, no sentido de preservar recursos geológicos para além da fauna e flora: nas aldeias de Lamas de Olo e de Fervença observou-se a valorização dos recursos geológicos da região, nas casas tradicionais de granito e xisto, com os seus telhados de colmo, assim como alguns espigueiros e as construções de sustentação de socacos.



Figura 2: Aula de campo nas Fiskas de Ermelo.

À tarde, já no Planetário do Porto, assistiu-se à apresentação “A nossa Estrela - o Sol”, permitindo perceber que o sol para além de fornecer a energia que suporta a vida, é responsável pelas auroras boreais, por alterações climáticas e por interrupções nas comunicações e no fornecimento de energia elétrica, e que a sua imutabilidade é apenas aparente pois, uma observação com equipamento adequado revela afinal uma estrela em atividade, permitindo, a compreensão do papel da tecnologia no avanço do conhecimento científico.

Tendo consciência da riqueza geológica da região de Trás-os-Montes e da importância das aulas de campo, preparei os alunos previamente para os aspetos mais importantes que iriam ser observados, no sentido de potenciar os resultados. Foram muitos quilómetros de autocarro decorridos num ambiente de motivação e alegria. Foi

também muito enriquecedor, pelo contacto que os alunos estabeleceram entre eles e com os professores. Para muitos, foi uma visita de estudo inesquecível, afinal, foi o dia em que alguns alunos residentes no concelho de Vila Flor foram ao Porto pela primeira vez.

4.2. AULAS DE CAMPO

O recurso a aulas de campo é das estratégias que mais motiva os alunos para o estudo das ciências. Com objetivos muito claros e metodologia bem definida, normalmente em grupos de trabalho, é possível desenvolver curiosidade científica, autonomia e espírito de liderança e cooperação. A figura 3 regista uma aula de campo, cujo principal objetivo foi identificar relações bióticas entre as espécies existentes nos canteiros da escola. Foi recolhida uma pequena amostra de líquenes, levada para o laboratório e observada à lupa e ao microscópio, no sentido de desenvolver o conceito de simbiose e competências psicomotoras relacionadas com o manuseamento dos instrumentos óticos.



Figura 3: Observação de líquenes nas árvores.

4.3. UTILIZAÇÃO DE MODELOS PEDAGÓGICOS

O recurso a modelos que simplifiquem a compreensão de fenómenos naturais pode revelar-se facilitador. No sentido de despertar o interesse sobre o papel das raízes das

plantas na estrutura do solo, foi montada a atividade ilustrada na figura 4, constituída por dois garrafões com solo, sendo que num deles cresceu uma planta . Após a adição de água nos dois solos, pela observação da diferença da cor da água infiltrada e recolhida, os alunos inferiram a importâncias das raízes na sustentação das partículas do solo, deduzindo sobre os efeitos negativos dos incêndios ou desflorestação, na sua estrutura.



Figura 4: Importância das raízes na manutenção da estrutura do solo.

Outras atividades experimentais foram realizadas com recurso a modelos. Na figura 5 apresenta-se a simulação de uma erupção vulcânica e a utilização de um modelo da estrutura interna da Terra.



Figura 5: Simulação de uma erupção vulcânica.

4.4. COLABORAÇÃO COM INSTITUIÇÕES DE INVESTIGAÇÃO

4.4.1. “CÓDIGO DA VIDA: O CRIMINOSO”

Decorreu nas instalações do IPATIMUP, permitindo aos alunos de Biologia do 12ºano compreender a importância da molécula de DNA na identificação de indivíduos, nomeadamente nas ciências forenses (figura 6). Com recurso a técnicas de biologia

molecular foram convidados a encontrar um criminoso de entre um conjunto de suspeitos.



Figura 6: Atividade experimental “Código da vida: o criminoso” (2008/2009).

A utilização de enzimas de restrição e a possibilidade de fazer uma eletroforese, permitiram aplicar conhecimentos adquiridos ao longo das aulas e ultrapassar algumas dificuldades relacionados com a falta de equipamentos na escola. Por outro lado o contacto com instituições de prestígio na investigação em Portugal, foi certamente um fator de motivação adicional para os alunos.

4.4.2. “CONSTRUÇÃO DE UM ALGÁRIO E EXTRAÇÃO DE AGAR-AGAR

Esta atividade decorreu em 2010/2011, nas instalações do Centro de Monitorização e Interpretação Ambiental (CMIA), Vila do Conde, cuja coordenação científico-técnica está a cargo do Centro Interdisciplinar de Investigação Marinha e Ambiental (CIIMAR) da Universidade do Porto. Enquadrou-se no estudo de organismos pertencentes ao reino dos Protista e possibilitou, aos alunos do Curso Profissional de Processamento e Controlo da Qualidade Alimentar, construir um algário (figura 7) e tomar consciência da enorme diversidade de algas na nossa costa.



Figura 7: Construção de um algário.

Posteriormente tiveram oportunidade de extrair agar-agar de algas do género *Gelidium* (figura 8). Como resultado, os alunos identificaram a origem do agar-agar que utilizam na preparação de meios para cultura de microrganismos e inferiram sobre a importância das algas na produção de gelificantes para a indústria alimentar.



Figura 8: Alguns detalhes do procedimento realizado para extração de agar-agar de algas.

4.5. ORIENTAÇÃO DE PROVAS DE APTIDÃO PROFISSIONAL (PAP)

Em 2009/2010 iniciei a atividade como formadora de Microbiologia ao Curso Profissional de Técnico de Processamento e Controlo da Qualidade Alimentar. Foi um dos maiores desafios da minha carreira, como atrás referido, dada a exigência de competências técnicas e laboratoriais específicas, uma vez que estes profissionais deverão ser capazes de aplicar Legislação e Normas de controlo microbiológico de alimentos. Perante a especificidade dos temas, a pesquisa bibliográfica foi essencial assim como a procura de formação específica já aludida. Foi muito útil também a utilização do site e-escola (<http://e-escola.tecnico.ulisboa.pt/>), que permitiu visualizar e compreender técnicas e procedimentos essenciais. Foram diversas as atividades de carácter laboratorial que foram desenvolvidas, distribuídas pelos diversos módulos da disciplina, desde a história da microbiologia, passando pelas características físicas e metabólicas dos microrganismos dos diversos reinos (monera, protista e fungos), até às técnicas de controlo microbiológico do leite e produtos lácteos, água, carne e produtos cárneos e peixe.

Neste âmbito ainda, saliento a orientação de Provas de Aptidão Profissional (PAP) que os alunos desenvolvem no último ano do curso, onde aplicam competências

adquiridas ao longo do seu percurso académico. Foram diversos os temas relacionados com a microbiologia. Destaco o projeto “Produção de cogumelos *Pleurotus ostreatus*” no qual duas alunas criaram as condições para produzir cogumelos no laboratório da escola (figura 9), durante o ano letivo 2011/12. Uma das minhas preocupações como orientadora da PAP foi fomentar nos alunos o espírito empreendedor e, neste caso, as alunas aliaram conhecimentos abordados ao longo do módulo “Fungos e leveduras” com técnicas de manipulação de microrganismos e inocularam em palha, *spawn* (micélio) da variedade comercial *Pleurotus ostreatus*. O *spawn* foi adquirido a uma empresa certificada e para além da cultura de cogumelos, foi possível observar o ciclo de vida dos Basidiomicetes.



Figura 9: Orientação da PAP- Produção de cogumelos *Pleurotus ostreatus*.

4.6. ARTICULAÇÃO ENTRE A ESCOLA E A COMUNIDADE

Desenvolver o carácter empreendedor das PAP dos alunos foi um dos objetivos que me levaram a organizar a segunda edição da atividade “Camilo empreende”. Após uma primeira edição em 2009/2010, a “Camilo empreende” 2014/2015 (figura 10) destacou-se pela sua forte relação com o “Espaço Famalicão *Made In*” (Gabinete de apoio ao empreendedor da Câmara Municipal de Vila Nova de Famalicão) e com o Instituto do Emprego e Formação Profissional (IEFP) de Vila Nova de Famalicão. A atividade foi destinada a cerca de 100 alunos do 3º ano dos cinco cursos profissionais e foram trabalhadas três grandes áreas: motivação e liderança, empreendedorismo e técnicas de procura de emprego. Foi essencial a articulação com as entidades parceiras, no sentido de despertar o interesse dos alunos pelo desenvolvimento do “próprio

emprego” e apresentar-lhes estruturas que poderão orientá-los durante a inserção no mundo do trabalho.



Figura 10: Participação do IIEFP na “Camilo Empreende”.

5. IMPLEMENTAÇÃO DO PROJETO DE EDUCAÇÃO PARA A SAÚDE (PES) E A SUA RELEVÂNCIA PARA A EDUCAÇÃO INTEGRAL DOS ALUNOS

A participação na equipa PES constituiu um dos projetos mais abrangentes da minha atividade docente, pelas atividades desenvolvidas, pelo envolvimento da comunidade educativa e pelas parcerias estabelecidas. A minha participação evoluiu para coordenadora da equipa constituída por diversos professores, psicóloga e enfermeiras da saúde escolar.

O desenvolvimento, nos alunos, de hábitos de vida saudável e comportamentos assertivos foram os principais objetivos da equipa que trabalhou na implementação de projetos de âmbito nacional ou regional, como sejam: PASSE (Programa de Alimentação Saudável em Saúde Escolar), PELT (Programa Escolas Livres de Tabaco), PNSO (Pano Nacional de Saúde Oral), e PRESSE (Programa Regional de Educação Sexual em Saúde Escolar). O gosto pelas atividades experimentais levaram-me a complementar a implementação dos programas referidos com atividades de carácter científico, sempre protagonizadas por alunos. Neste Relatório relevo as atividades “Operação mãos limpas” e “O efeito de substâncias psicoativas sobre o ritmo cardíaco”.

5.1. “OPERAÇÃO MÃOS LIMPAS”

A “Operação mãos limpas” resultou da tentativa de complementar o Plano de Contingência da Gripe A, definido na Escola Secundária Camilo Castelo Branco no ano letivo 2009/2010. A atividade foi desenvolvida por alunos do Curso Profissional de Processamento e Controlo da Qualidade Alimentar e alunos do 9º ano integrados na unidade “saúde individual e comunitária”, tendo como objetivos: demonstrar que as mãos possuem microrganismos potencialmente causadores de infeções, sensibilizar para a importância da higienização das mãos e desenvolver o espírito de curiosidade científica. Os alunos deslocaram-se às várias salas de aula, equipados com um *kit* (constituído por placas de Petri com meio de cultura, uma lamparina, fósforos e um frasco de gel desinfetante) para recolha das impressões das mãos de um aluno de cada turma. A recolha da amostra foi realizada em cada aluno 2 vezes: antes e depois de desinfetar as mãos com o “gel desinfetante” usado na escola. As placas de Petri foram incubadas a 37°C, cerca de 48 horas e os resultados expostos na biblioteca da escola, num local reservado para o efeito (figura 11).

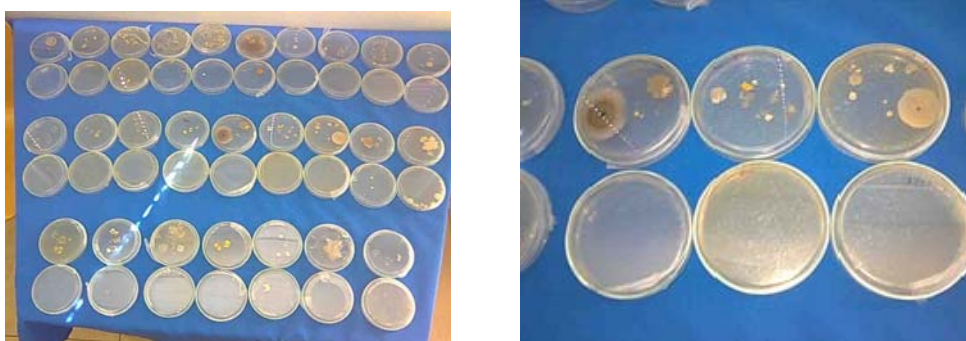


Figura 11: Apresentação dos resultados da “Operação mãos limpas”.

Pelos resultados, foi notória a importância da higienização das mãos, pois nas placas onde se recolheram as impressões após a desinfecção, na esmagadora maioria dos casos não apresentavam quaisquer colónias, em contraste com as placas onde se recolheram as impressões antes da desinfecção das mãos, onde existiam colónias em número variável. Esta atividade teve grande impacto na sensibilização da comunidade escolar para o cumprimento do Plano de Contingência da Gripe A, uma vez que comprovou a presença de microrganismos nas mãos e o efeito preventivo da desinfecção. Em simultâneo, os alunos tiveram oportunidade de aplicar técnicas e procedimentos importantes em microbiologia, tais como: preparação de meio de cultura, esterilização

de materiais e meios de cultura, plaqueamento, implementação de condições de assepsia, com a utilização da lamparina durante a recolha da amostra, observação e discussão dos resultados.

5.2. “O EFEITO DE SUBSTÂNCIAS PSICOATIVAS NO RITMO CARDÍACO”

A prevenção da toxicod dependência foi também uma preocupação da equipa PES, que em parceria com projeto “Mais vale prevenir” promovido pelo Centro de Solidariedade de Braga/Projeto Homem realizou uma sessão de esclarecimento sobre as consequências do consumo de substâncias psicoativas (figura 12). Mais uma vez, explorei as potencialidades da Biologia em benefício da Educação para a Saúde e implementei a atividade “O efeitos de substâncias psicoativas sobre o ritmo cardíaco”. Alunos de Ciências Naturais do 9º ano desenvolveram a atividade na biblioteca (figura 12) usando um modelo biológico (*Dáfnia magna*) que permite observar *in vivo* os efeitos de algumas substâncias sobre o sistema nervoso. Para o efeito foi utilizado uma solução alcoólica (*wiski*), uma solução à base de uma bebida energética (com cafeína), dáfnias, pipetas, laminas escavadas e microscópios.

Cada dáfnia era colocada numa lâmina em solução de álcool ou da bebida energética. Numa terceira montagem encontrava-se uma dáfnia mergulhada na água em que crescera, sem quaisquer aditivos. Pela contagem dos batimentos cardíacos por minuto, foi possível observar com clareza o efeito calmante do álcool e o efeito estimulante da cafeína sobre o ritmo cardíaco da dáfnia. A atividade foi aberta à comunidade e contou com a presença de inúmeros alunos, que acompanhados pelos professores se distribuíam pelos diversos microscópios e executavam o procedimento orientados pelos alunos da equipa organizativa.



Figura 12: “O efeito de substâncias psicoativas sobre o ritmo cardíaco das dáfnias.”

Esta atividade permitiu, por um lado, reforçar os conhecimentos dos alunos relativos à fisiologia do sistema nervoso e, por outro, alertar para as consequências do consumo de substâncias psicoativas e sensibilizar para a adoção de hábitos de vida saudável.

6. PROJETOS CIENTÍFICOS DESENVOLVIDOS E O SEU CONTRIBUTO NO RECONHECIMENTO DO PAPEL DA CIÊNCIA NA RESOLUÇÃO DE PROBLEMAS DO QUOTIDIANO

6.1. DO PROJETO “E QUANDO OS ANTIBIÓTICOS NÃO FUNCIONAM” ATÉ AO PROJETO “FAGOTERAPIA PARA AS CÁRIES”

A participação em projetos extracurriculares permite aos alunos o desenvolvimento de competências de autoaprendizagem de extrema importância no futuro, tanto ao nível académico como ao nível pessoal. Durante o meu percurso profissional, respondi a vários desafios extracurriculares que, embora tenham ocupado grande parte do tempo pessoal, possibilitaram também enriquecer a minha experiência e, acima de tudo, permitiram observar a evolução e satisfação dos alunos, pois o trabalho foi pensado e desenvolvido tornando-os o centro de todas as atividades.

Durante o ano letivo 2009/2010 participei no projeto “Oceanos, Biodiversidade e Saúde Humana”, promovido pela Agência Nacional para a Cultura Científica e Tecnológica (Ciência Viva), coordenando duas equipas que participaram no desafio “E quando os antibióticos não funcionam” (anexo 25). A equipa “Os Técnicos” era composta por alunos do 11º ano do Curso Profissional de Processamento e Controlo da Qualidade Alimentar (http://www.cvtv.pt/junior/index.asp?id_video=657&id_tag=15). A equipa, “004-Missão OBS” era composta por alunos da turma B do 12º ano do Curso de Ciências e Tecnologias, que solicitaram a minha colaboração no desenvolvimento de um projeto de investigação, enquadrado na disciplina de Área de Projeto. Embora não fosse professora dessa turma, aceitei colaborar com os alunos (<http://www.authorstream.com/Presentation/520escsb-412752-quando-os-antibi-ticos-n-o-funcionam-Grupo12C-0-Introdu-Atividade1-Conclus-e-ant-Entertainment-ppt-powerpoint/>).

O desafio “E quando os antibióticos não funcionam” teve como principais objetivos isolar bacteriófagos, presentes em cursos de água da região, com atividade lítica contra *Escherichia coli*, e estudar a possibilidade de serem usados como alternativa ao uso de antibióticos no seu controlo. O trabalho foi realizado nos laboratórios da Escola Secundária Camilo Castelo Branco, em Vila Nova de Famalicão. A participação neste projeto marcou-me, não só pela pertinência do tema, mas também pelo empenho dos alunos que me motivaram para o desenvolvimento de outros projetos de investigação.

Em 2010/2011 participei na 9ª edição do concurso “Ciência na Escola” promovido pela Fundação Ilídio Pinho. Integrada no “Clube da Ciência” (http://clubedacienciaescb.blogspot.pt/2011_02_01_archive.html) e inspirada pela experiência do ano anterior, criei o projeto “Fagoterapia para as cáries”. Neste trabalho pretendeu-se investigar uma alternativa para prevenir e tratar cáries dentárias através da aplicação de bacteriófagos. Inicialmente de carácter meramente pedagógico, o projeto evoluiu e passou a assumir responsabilidades na área da educação para a saúde, tendo tido um impulso renovado depois dos contactos estabelecidos com Investigadores do Departamento de Biologia (DB) da Faculdade de Ciências da Universidade do Porto (FCUP) e com professores da Cooperativa de Ensino Superior, Politécnico e Universitário (CESPU).

6.2. DESENVOLVIMENTO DO PROJETO “FAGOTERAPIA PARA AS CÁRIES”

Foram definidas três fases de trabalho: Fase 1-Promoção do projeto; Fase 2- Desenvolvimento de trabalho de investigação; Fase 3- Apresentação dos resultados.

A fase 1 teve como objetivos a promoção do projeto e a produção dos protocolos laboratoriais. Durante algumas semanas, decorreram encontros com os alunos na biblioteca da escola, com o objetivo de proceder à revisão da literatura sobre saúde oral, em geral, e das condições promotoras do desenvolvimento de cáries, em particular. Este trabalho mereceu a atenção especial dos alunos do Curso Profissional Auxiliar Protésico, naturalmente mais sensibilizados para o tema. Estes alunos desenvolveram também um logótipo e alguns materiais identificativos do grupo de trabalho, assim como um *blog* promotor do projeto (fagoterapiacaries.blogspot.com). Paralelamente,

alunos do 12º ano do Curso Profissional de Processamento e Controlo da Qualidade Alimentar fizeram o inventário de todos os materiais necessários, dada a sua maior experiência em microbiologia. Foram também desenvolvidos contactos no sentido de estabelecer novas parcerias. A iniciativa teve sucesso, pois tivemos a colaboração de multinacionais que ofereceram embalagens de dentífricos para distribuir aos participantes.

Em fevereiro decorreu um rastreio de saúde oral, realizado pelos técnicos da CESPU, apoiados pelos alunos do Curso Profissional Auxiliar Protésico, que excederam as expectativas em termos de empenho e responsabilidade no trabalho (figura 13).



Figura 13: Rastreio de saúde oral realizado por técnicos da CESPU.

A fase 2 do projeto correspondeu ao trabalho de investigação e teve como objetivos isolar bacteriófagos da microbiota oral e estudar a possibilidade de serem utilizados no controlo de bactérias causadoras de cárie; desenvolver competências científicas (teóricas e práticas) no domínio das Ciências em geral e da Microbiologia em particular e reconhecer a importância da investigação científica na resolução de problemas do quotidiano. A investigação foi organizada em três atividades distintas a serem efetuadas de um modo sequencial. Atividade 1 - Preparação de material, soluções e meios de cultura; Atividade 2 - Isolamento, purificação e identificação de bactérias da flora oral a partir de amostras de saliva, nomeadamente as promotoras do desenvolvimento de cárie (*Streptococos mutans*, *Streptococos sobrinus*, *Streptococos salivairus*); Atividade 3 - Isolamento, purificação de bacteriófagos das amostras de saliva e identificação do painel de hospedeiros dos fagos isolados.

Durante a primeira atividade, os alunos procederam à esterilização dos materiais, soluções e meios de cultura necessários às próximas fases, recorrendo à autoclave e à

estufa. Na atividade 2, após a recolha 5ml de saliva de 2 alunos voluntários, efetuaram-se diluições seriadas em soro fisiológico. Posteriormente procedeu-se à inoculação em Agar Mitis Salivarius (MSA) com telurito de potássio (1%), um meio seletivo recomendado para isolamento de culturas mistas de estreptococos associados ao desenvolvimento de cárie, permitindo distinguir diversas espécies pelas características das colónias. A incubação foi feita em anaerobiose, a 37 °C, durante 48 horas. Posteriormente, foram selecionadas as colónias provenientes de um aluno, o Luís, que apresentavam as características correspondentes às espécies consideradas (figura 14). Quatro colónias diferentes foram então repicadas, no sentido de proceder ao seu isolamento. A cada uma foi atribuído um código (primeira letra do nome do aluno e um número, correspondente a diferentes colónias), para evitar confusões no prosseguimento do trabalho, uma vez que não foi possível a sua identificação por métodos bioquímicos.

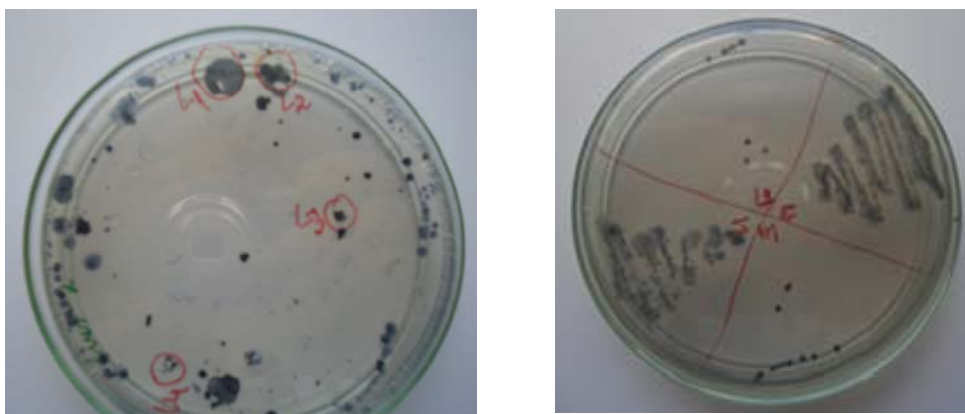


Figura 14. Resultados do isolamento de bactérias de amostras de saliva.

A atividade 3 decorreu ao longo de 4 dias. A partir de uma amostra de saliva do mesmo aluno, procedeu-se à amplificação dos potenciais bacteriófagos existentes recorrendo a uma cultura de *S. mutans* (ATCC). Simultaneamente, várias culturas de bactérias isoladas na atividade 1 foram incubadas em Brain-Heart Infusion (BHI), meio enriquecido para cultura das bactérias em estudo. Na última etapa da atividade, foram inoculadas culturas contendo bactérias e bacteriófagos, ambos isolados da saliva do mesmo aluno, em placa com BHI agar, recorrendo à técnica da dupla camada. Mais uma vez, as placas foram incubadas a 37 °C em anaerobiose, em posição invertida. Ao 4º dia foi possível fazer as observações (figura 15), proceder ao registo e à discussão dos resultados. Na cultura correspondente à bactéria L4, foi possível observar algumas zonas onde esse crescimento foi impedido (zonas translúcidas). Na cultura

correspondente à bactéria L7 apenas se observaram zonas mais claras na camada em crescimento. Nas placas utilizadas como controlo, onde se inoculou apenas bactérias, a camada em crescimento apresentava-se homogénea não se verificando “zonas claras”.



Figura 15: Observação de placas de lise. Resultados da atividade 3.

As zonas referidas poderão corresponder a placas de lise indicando infeção fágica, no entanto carecem de confirmação, uma vez que não nos foi possível o isolamento dos bacteriófagos a partir dessas zonas. A necessidade de reestruturar procedimentos dificultou o cumprimento de alguns objetivos inicialmente propostos, no entanto, as observações foram muito reconfortantes para a equipa de jovens investigadores.

Durante a última fase do projeto (fase 3), foram apresentados os resultados da investigação à comunidade escolar e feita a avaliação de todo o trabalho. A sessão, durante a qual os alunos participantes apresentaram o trabalho desenvolvido, no auditório da escola, contou com a presença dos parceiros (Figura 16).



Figura 16: Apresentação dos resultados do projeto “Fagoterapia para as cáries”.

6.3. BALANÇO DA PARTICIPAÇÃO EM PROJETOS CIENTÍFICOS

A coordenação do projeto “Fagoterapia para as Cáries” possibilitou o desenvolvimento de um trabalho colaborativo com universidades, nomeadamente durante a planificação do projeto e o desenvolvimento do trabalho de investigação. Para o sucesso do trabalho, gostaria de realçar a colaboração de professores e alunos do Curso Profissional de Audiovisuais, que deram um contributo indispensável na produção e edição do vídeo exigido pelo júri do concurso que pode ser consultado no *blog* cujo endereço é <http://fagoterapiacaries.blogspot.pt/>, criado para a divulgação do projeto.

A seleção do projeto à última fase do concurso (anexo 26) permitiu, para além da promoção da identidade da escola, a atribuição de um prémio de Mérito pelo Júri Nacional de Concurso de Ideias do Prémio da Fundação Ilídio Pinho “Ciência na Escola”. A verba atribuída enriqueceu o inventário dos laboratórios com equipamentos, indispensáveis não só para a realização do projeto mas também de outras atividades.

Para a avaliação do sucesso do trabalho, considerou-se como ponto de partida o facto dos alunos participantes pertencerem ao 1º ano do ensino profissional, com poucas ou raras competências em termos de trabalho experimental. Apesar desta dificuldade, o facto de pertencerem à variante Prótese Dentária do Curso Profissional Auxiliar Protésico favoreceu a motivação. Tomando em consideração o inquérito aplicado aos alunos, no final do projeto, concluímos que houve efeitos nas aprendizagens, nomeadamente no desenvolvimento de conhecimentos e atitudes mais responsáveis ao nível de higiene oral, no desenvolvimento de competências ao nível psicomotor relacionadas com atividades experimentais, nomeadamente a aquisição de regras básicas de segurança durante o trabalho no laboratório; a identificação de equipamentos; o domínio das técnicas de esterilização de material de vidro, soluções e meios de cultura; a produção de meios de cultura e o seu plaqueamento; a aplicação de técnicas de cultura de microrganismos; o domínio de técnicas de obtenção de culturas puras, nomeadamente técnica das diluições seriadas e repicagem; a pipetagem com utilização de pipetas de vidro e micropipetas; o desenvolvimento de condições de assepsia com a utilização de lamparina e da câmara de fluxo laminar. O facto de trabalharem com amostras da própria saliva despertou interesse e todo o trabalho permitiu que tivessem uma perspetiva real sobre o desenvolvimento de uma investigação, desde a identificação

do problema, passando pela exigência do trabalho no laboratório até à leitura e interpretação de resultados. Foram também desenvolvidas competências relacionadas com a apresentação pública de trabalhos e contribuiu para o reconhecimento da importância da investigação científica na resolução de problemas do quotidiano.

O papel das universidades no desenvolvimento da investigação, foi também reconhecida pelos alunos e despertou o interesse na continuidade dos estudos ao nível do ensino superior. Estiveram envolvidos diretamente no projeto cerca de 30 alunos, trabalhando quase diariamente, embora muitos outros participassem nas atividades que foram sendo desenvolvidas, nomeadamente no rastreio de saúde oral e na sessão de apresentação dos resultados.

Considero que iniciativas desta natureza se revelam importantes para os diversos intervenientes. As universidades percebem a realidade das escolas do ensino secundário, identificam as dificuldades de trabalho ao nível de recursos materiais e humanos e as necessidades de formação docente em áreas específicas. Do ponto de vista da escola, estas iniciativas são de extrema importância para o sucesso do Projeto Educativo, impelindo dinamismo no Plano de Atividades, valorizando as relações interpessoais, promovendo o sucesso escolar e reforçando a sua identidade na comunidade. Por outro lado permitem a aquisição de materiais, como foi aquisição de meios de cultura desidratados, filtros de 0,22 μm e uma microcentrífuga, que enriqueceram o inventário dos laboratórios e que são essenciais para o desenvolvimento de atividades experimentais, funcionando como um estímulo ao trabalho dos professores e alunos. Na perspectiva do professor, a participação nestas atividades é uma oportunidade de desenvolver competências, funcionando como uma “Ação de Formação Contínua”, permitindo demonstrar a motivação, que os leva a ultrapassar dificuldades associada ao facto das condições para desenvolver trabalhos laboratoriais serem muitas vezes limitadas.

O trabalho de equipa em iniciativas desta dimensão é essencial sendo necessário um espírito de liderança que mantenha a equipa coesa e motivada para o trabalho, que nem sempre correu bem. Pelo facto de não existirem protocolos experimentais pré-definidos, houve necessidade de repetir procedimentos que demoravam dias a concluir. Posso referir o caso da seleção do meio de cultura, pois o meio inicialmente utilizado, não permitiu o crescimento das culturas e foi substituído. A filtração da saliva constituiu

outro obstáculo, pois é uma substância que apresenta elevada viscosidade sendo completamente impossível filtrar diretamente nos filtros recomendados (0,22 μm). Estes são exemplos de situações que atrasaram os trabalhos mas, do ponto de vista pedagógico resultaram em excelência, permitindo transmitir aos alunos a realidade de um trabalho de investigação, as dificuldades que um investigador tem de ultrapassar e a importância de um trabalho de equipa para superar as dificuldades.

Para finalizar, gostaria de salientar, para além do carácter pedagógico e promotor de saúde oral, a importância científica do trabalho em causa. A cárie é uma doença bem difundida, constituindo uma preocupação das autoridades de saúde e deve ser prevenida desde tenra idade. A terapia fágica está a ser estudada atualmente podendo constituir uma solução para a sua prevenção ou tratamento. Motivada por toda a aprendizagem adquirida e pela experiência enriquecedora, decidi avançar na investigação relacionada com a aplicação de bacteriófagos em biocontrolo, que desenvolvo na segunda parte deste relatório.

7. CONCLUSÃO

O trabalho descrito representa parte do universo de dezanove anos de atividade docente, refletindo uma evolução e a mobilização de competências. A formação esteve sempre fortemente associada ao meu percurso profissional, respondendo a necessidades específicas, diagnosticadas em cada ano letivo.

A minha prática educativa é caracterizada pela implementação de metodologias diversificadas, com uma forte componente experimental, focada no desenvolvimento da curiosidade científica e baseada na importância da investigação na resolução de problemas do quotidiano. Outra característica associada ao trabalho desenvolvido é o carácter empreendedor de algumas atividades, que reconheço como essencial para o sucesso dos alunos durante o ingresso no mundo do trabalho. A formação cívica dos alunos, para além da sua formação académica, foi também uma preocupação, nomeadamente o desenvolvimento de competências relacionadas com o desenvolvimento de hábitos de vida saudável e de respeito pelos outros, considerando as suas diferenças.

Finalmente, reconheço o forte carácter colaborativo do trabalho desenvolvido, catalizador do sucesso do processo educativo. Valorizo a aprendizagem informal, procedente da troca de experiências e reconheço a importância da articulação com instituições do ensino superior, essencial para a preparação de docentes motivados e motivadores.

PARTE II

APLICAÇÃO DE BACTERÍOFAGOS EM BIOCONTROLO

8. APLICAÇÃO DE BACTERÍOFAGOS EM BIOCONTROLO

8.1. INTRODUÇÃO

Na área da microbiologia, a relação bacteriófago/bactéria sempre me inspirou curiosidade. O modo como a relação se estabelece, as potenciais vantagens dessa relação na área da saúde, no controlo da qualidade alimentar e ambiente, entre outras, são aparentemente muito promissoras na resolução de diversos problemas do quotidiano. Com este trabalho, pretendo preparar-me cientificamente sobre este tema para, num momento futuro, desenvolver com os meus alunos atividades capazes de promover curiosidade científica e o gosto pela investigação, contribuindo simultaneamente para o desenvolvimento de cidadãos proativos, interessados na construção de projetos científicos inovadores e potenciadores da resolução dos problemas do quotidiano. Por outro lado, pretendo desenvolver um trabalho com utilidade científica que poderá ser utilizada por qualquer professor durante as aulas de Ciências Naturais ou Biologia. Finalmente, após um estudo cuidadoso dos programas de Biologia do Ensino Secundário, pretendo definir momentos pertinentes à abordagem deste assunto, em articulação com as diversas unidades temáticas.

8.2. OS VÍRUS – CARACTERÍSTICAS GERAIS

Os vírus constituem um importante grupo estudado na Microbiologia e distinguem-se de todos os outros microrganismos por não possuírem capacidade metabólica própria. São estruturas estáticas, muito estáveis e incapazes de autonomamente trocarem ou substituírem os seus constituintes. Possuem os seus próprios genes, no entanto, carecem de ribossomas sendo por isso incapazes de sintetizar as próprias proteínas dependendo de células hospedeiras para fornecer a energia e os materiais necessários à sua replicação. Podem ser classificados de acordo com a natureza e a estrutura do seu ácido nucleico: ADN ou ARN, em cadeia simples (*ss*, do inglês *single strand*) ou dupla (*ds*, do inglês *double strand*), linear (L) ou circular (C)⁽¹⁾. Os vírus exibem vários tamanhos e formas. A maioria é menor do que as células procariotas, variando o seu tamanho entre 0,02 µm e 0,3 µm. O ácido nucleico está sempre localizado dentro duma estrutura designada de cápside, constituída por proteínas (capsómeros) organizadas de forma precisa e padrão altamente repetitivo. O complexo constituído pelo ácido nucleico e a cápside é chamado de nucleocápside ou nucleocapsídeo. Alguns vírus possuem uma

camada contendo lípidos em torno da nucleocápside, designada envelope. Os vírus que não possuem envelope, são chamados de vírus sem envelope ou "nus" (figura 17)⁽¹⁾.

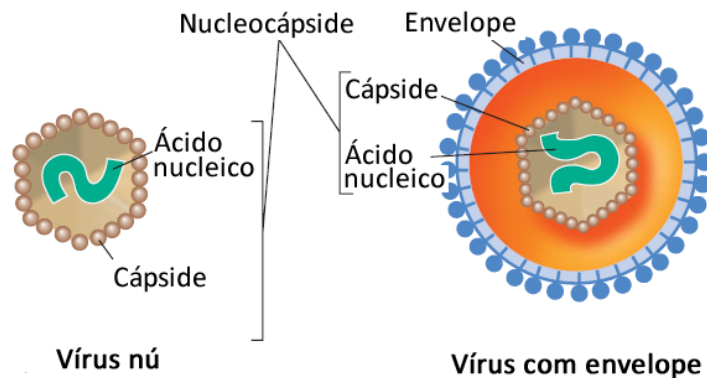


Figura 17: Estrutura dos vírus nus e dos vírus com envelope. Adaptado de⁽¹⁾.

Alguns vírus contêm enzimas que desempenham papéis importantes no processo de infecção do hospedeiro. Por exemplo, alguns vírus que infetam bactérias contêm lisozima (lisina) capaz de fazer pequenos orifícios na parede das células, permitindo injetar o ácido nucleico no citoplasma da célula hospedeira. A lisozima é novamente produzida em grandes quantidades na fase final da infecção, causando a lise da célula bacteriana e a liberação das novas partículas virais⁽¹⁾.

Os vírus podem existir no interior ou no exterior das células que infetam. Fora das células podem sobreviver por muito tempo em condições adversas, como entidades inertes chamadas viriões. Nestas condições, não são capazes de replicar o seu genoma ou produzir as suas próprias proteínas, uma vez que não possuem a maquinaria enzimática necessária. Por outro lado, podem infetar células reconhecendo os seus recetores específicos. Esses recetores são moléculas da célula hospedeira envolvidas nas funções celulares de rotina. Uma porção de um complexo molecular na superfície do vírus tem um formato complementar da forma desse recetor, permitindo ao vírus ligar-se à superfície da célula. Após a adesão, os vírus injetam o genoma viral, no citoplasma do hospedeiro, por vezes acompanhado de proteínas adicionais essenciais ao sucesso da infecção⁽²⁾.

Para que um vírus se consiga replicar deve induzir uma célula hospedeira viva a sintetizar todos os seus componentes que devem em seguida ser montados em novas partículas virais que são libertadas podendo infectar outras células. O ciclo de replicação viral, representado na figura 18, pode dividir-se em cinco etapas: 1^a- Adsorção, que consiste na adesão do vírus aos recetores da célula hospedeira; 2^a- Penetração, resultando na injeção do ácido nucleico viral na célula hospedeira; 3^a- Síntese de ácido nucleico e das proteínas do vírus (pelo metabolismo da célula hospedeira); 4- Maturação, que consiste na montagem das cápsides e empacotamento de genomas virais em novas partículas virais e 5^a- Libertação com a evasão dos viriões maduros após lise celular⁽¹⁾.

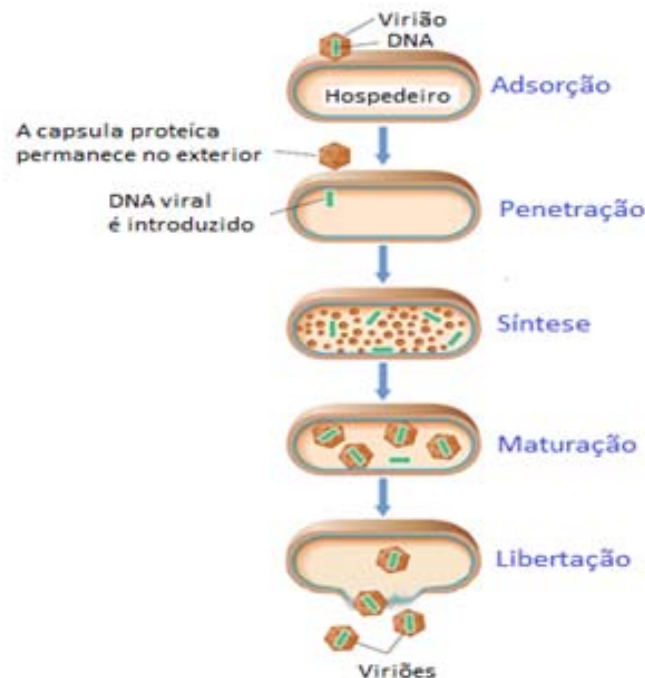


Figura 18: O ciclo de replicação de um vírus bacteriano. Adaptado de⁽¹⁾.

Na figura 19 está representada a curva de replicação viral. Nos primeiros minutos após infeção, o número de partículas virais no meio sofre um eclipse que se inicia logo que as partículas infecciosas são removidas do ambiente por adsorção, para dentro das células hospedeiras, deixando de estar disponíveis para infectar outras células. Durante a fase de maturação, a quantidade de viriões ativos dentro da célula hospedeira aumenta exponencialmente. No entanto, as novas partículas virais ainda não podem ser detetadas na cultura, pois ainda se encontram dentro da célula. Em conjunto, os períodos

de eclipse e maturação designam-se de período de latência. No final da maturação, os viriões maduros são libertados em consequência da lise celular e o seu número varia de acordo com o vírus ou a célula hospedeira podendo atingir alguns milhares⁽¹⁾.

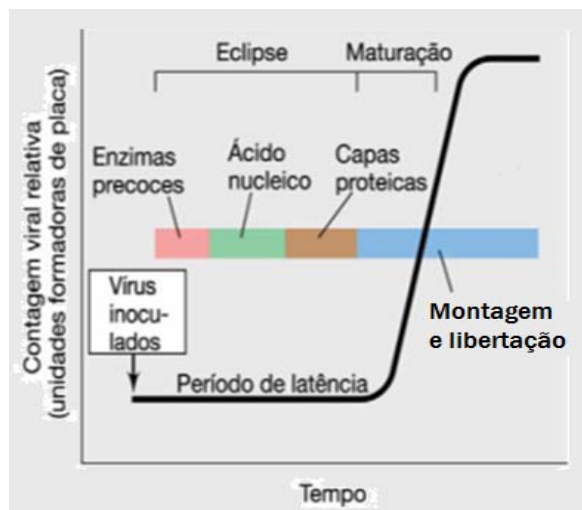


Figura 19: Curva de replicação viral. Adaptado de⁽¹⁾.

A classificação dos vírus ainda suscita imensas questões. Alguns biólogos argumentam que a parte “viva” do vírus não é o virião mas a fábrica viral, dentro da célula infetada com toda a sua atividade biossintética associada. O virião corresponderá à “semente” de uma planta que se torna ativa metabolicamente quando cai em solo fértil (no caso de um vírus, quando infeta uma célula suscetível)⁽³⁾.

Os vírus que infetam bactérias e utilizam os seus recursos são classificados como bacteriófagos ou fagos. A palavra "bacteriófago" significa “comer bactérias”, por causarem a lise da célula bacteriana hospedeira⁽¹⁾.

8.3. DIVERSIDADE E ECOLOGIA DOS BACTERIÓFAGOS

Os bacteriófagos são muito abundantes na biosfera. Omnipresentes na vida dos procariontes⁽⁶⁾, são muito comuns em todos os ambientes naturais, estando o seu número diretamente relacionado com o número de bactérias presentes, podendo ser facilmente isolados a partir de fezes, alimentos, águas residuais e outras fontes naturais⁽²⁾. Desvendar a biologia dos bacteriófagos e a relação com os seus anfitriões – os procariontes, é fundamental para a compreensão dos sistemas microbianos e a sua exploração. Evidências experimentais têm mostrado que as populações de

fagos/hospedeiros oscilam com o tempo e que os bacteriófagos podem ser agentes da diversificação dos anfitriões, conferindo-lhes novas características, através da transferência de genes úteis. Durante várias décadas, apenas um reduzido número de fagos foi estudado em grande detalhe. O interesse recente foi desencadeado devido a uma crescente consciência do número de fagos existentes em ambientes bacterianos e da sua interferência em aspetos relevantes da biologia das bactérias, como por exemplo nas alterações da dinâmica populacional ou na sua evolução⁽⁴⁾.

8.4. TAXONOMIA DOS BACTERIÓFAGOS

Os bacteriófagos são um grupo de vírus bastante diversificado. Os mais conhecidos contêm genomas de dsDNA, no entanto, muitos outros incluem genomas de ssRNA, dsRNA e ssDNA^(1,2). A figura 20 apresenta a classificação dos bacteriófagos tendo em conta a natureza da sua informação genética.

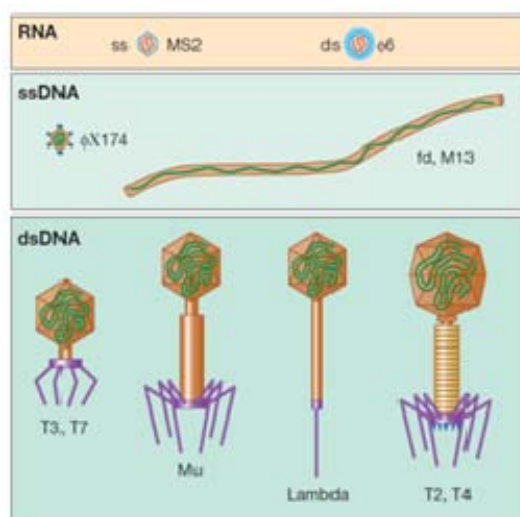
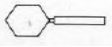
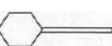










Figura 20: Classificação dos bacteriófagos com base na natureza da informação genética⁽¹⁾

O Comité Internacional de Taxonomia Viral (ICTV) é o único organismo internacional que se ocupa da taxonomia dos vírus. Atualmente são classificados em 7 ordens e 26 famílias, existindo adicionalmente 77 famílias sem ordem definida⁽⁵⁾. O ICTV usa todos os critérios de classificação disponíveis que, em bacteriófagos, equivale a cerca de 70 características. Na prática, as propriedades mais importantes são a morfologia, incluindo a presença ou ausência de envelope, a natureza e estrutura do ácido nucleico e as suas propriedades físico-químicas⁽⁶⁾. Na tabela 1 caracterizam-se algumas famílias de bacteriófagos.

Tabela 1 Caracterização de algumas famílias de fagos. Adaptado de^(6,7).

	Forma	Família	Características	Exemplos
Com cauda		Myoviridae	dsDNA, L cauda contráctil	T4
		Siphoviridae	dsDNA, L cauda longa, não contráctil	λ
		Podoviridae	dsDNA, L cauda curta	T7
Poliédricos		Microviridae	ssDNA, C, 27 nm, 12 capsómeros	ϕ X174
		Corticoviridae	dsDNA, C, capsula complexa, lípidos, 63 nm	PM2
		Tectiviridae	dsDNA, L, vesículas lipídicas no interior, pseudocauda, 60 nm	PRD1
		Leviviridae	ssRNA, L, como os poliovirus, 23 nm,	MS2
		Cystoviridae	dsRNA, L, segmentado, envelope lipídico, 70–80 nm	Φ 6
Filamentosos		Inoviridae	ssDNA, C, filamentos, 85–1950 de comprimento	fd
Polimórficos		Plasmaviridae	dsDNA, C, envelope lipídico, ausência de cápside, 80 nm	MVL2

Os fagos polimórficos são representados pelas famílias Plasmaviridae, Fusseloviridae e Guttaviridae que apresentam dsDNA. A família Plasmaviridae inclui fagos que são cobertos por um envelope de lipoproteínas e não apresentam cápside. Os membros da família Fusseloviridae, apresentam o genoma dentro de uma cápsula com forma de limão. A família Guttaviridae apresenta fagos em forma de gota. Os fagos com organização filamentosa estão representados pelas famílias Inoviridae (ssDNA) e famílias Lipothrixviridae e Rudiviridae (dsDNA). Os bacteriofagos poliédricos apresentam simetria icosaédrica. Os fagos da família Leviviridae possuem ssRNA enquanto a família Corticoviridae contém três moléculas de dsRNA e apresentam RNA

polimerase. Os fagos da família Microviridae estão representados por pequenas partículas virais com uma única molécula de ssDNA circular. A família Cystoviridae apresenta a cápside formada por uma camada externa de proteínas com uma bicamada lipídica interna e apresenta dsRNA no genoma. A família, Tectiviridae, é caracterizada pela presença de vesículas de lipoproteínas e apresentam genoma com dsDNA. Estas três últimas famílias apresentam picos na região apical do envelope⁽²⁾. Na figura 21 apresentam-se imagens de algumas famílias de bacteriófagos.

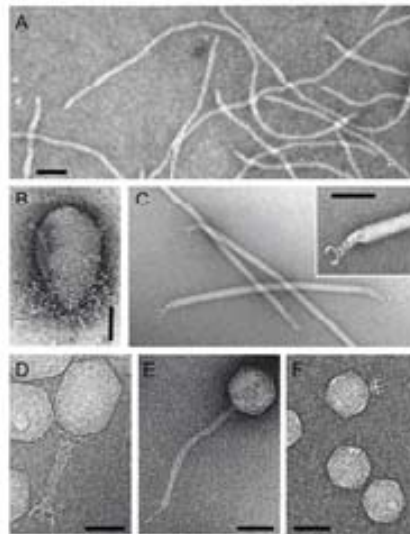


Figura 21: Imagens de bacteriófagos (microscopia eletrónica). A e C- fagos filamentosos; B- fago Polimórfico (Guttaviridae). Fagos com cauda: D (Myoviridae), E (Siphoviridae) e F (Podoviridae). Adaptado de⁽²⁾.

Os fagos com cauda foram classificados na ordem Caudavirales e apresentam dsDNA, representando 96% dos bacteriófagos conhecidos. São separados em três famílias filogeneticamente próximas: Myoviridae com caudas contrácteis, Siphoviridae com caudas longas não contrácteis e Podoviridae, com caudas curtas⁽²⁾, cuja representação esquemática se encontra na figura 22.

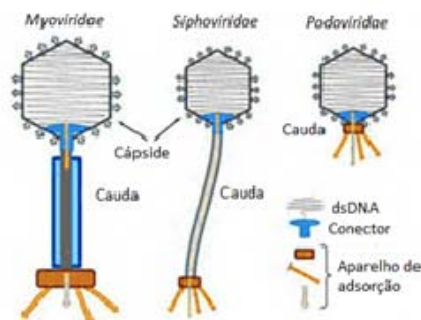


Figura 22: Famílias de fagos com cauda. Adaptado de⁽²⁾.

8.5. ESTRUTURA DOS BACTERIÓFAGOS COM CAUDA

As cápsides dos fagos com cauda apresentam tamanhos que variam, em diâmetro, entre 400-1700Å. A maioria dos Caudovirales examinados ao microscópio eletrônico apresentam cápsides icosaédricas cujo vértice, ao qual se liga a cauda, é ocupado por uma proteína “portal”, também chamada de conector. A proteína portal forma, em conjunto com outras proteínas, o “pescoço” do bacteriófago e é responsável por formar um canal para o empacotamento do genoma durante a montagem do virião e por permitir a sua saída, durante o processo de infecção. O pescoço é rodeado por fibrinas que desempenham um papel importante durante a montagem do vírus. A maioria dos bacteriófagos da família Caudovirales contém proteínas dentro da cápside. Algumas destas proteínas são injetadas para dentro da célula hospedeira durante a infecção, antes ou juntamente com o genoma do bacteriófago, para o proteger dos mecanismos de resistência das bactérias^(8,9). Na figura 23 pode observar-se uma representação da estrutura de bacteriófago T4.

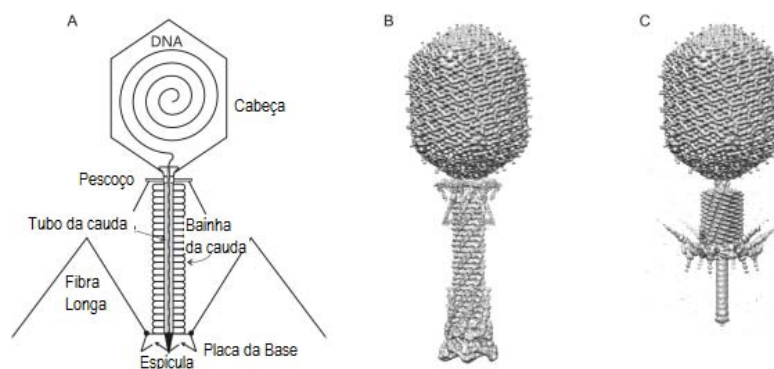


Figura 23: Estrutura do bacteriófago T4 antes (A,B) e após adsorção (C). Adaptado de⁽⁸⁾.

As caudas dos bacteriófagos são máquinas moleculares criadas para reconhecer as células hospedeiras, penetrar através da parede celular e injetar o genoma no citoplasma. Apresentam diferente morfologia e tamanhos que variam entre 100 a 8000Å. As caudas dos fagos Siphoviridae e Myoviridae constituem uma estrutura complexa. A placa da base da cauda tem um tamanho e morfologia diferentes em diferentes fagos, adaptados a diferentes tipos de recetores dos hospedeiros. Além disso os bacteriófagos apresentam, geralmente, fibras de cauda ligadas à placa da base, bem como uma espícula central. Os fagos Myoviridae possuem uma bainha externa, contrátil ao longo do tubo da cauda. A placa da base da cauda dos bacteriófagos

Myoviridae mais extensivamente estudada é a do fago T4 (figura 24), que é composta por 16 proteínas diferentes. Apresenta 6 fibras de cauda longas e 6 fibras de cauda curtas, na sua periferia. O genoma do bacteriófago T4 apresenta cerca de 300 genes os quais codificam as proteínas responsáveis pela estrutura e montagem dos viriões⁽⁹⁾.

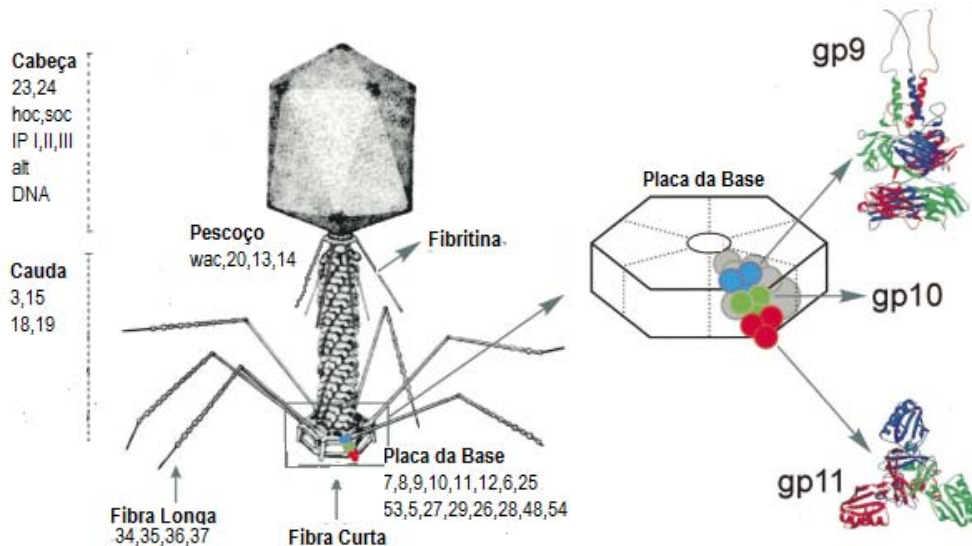


Figura 24: Componentes estruturais do bacteriófago T4. Posições da cabeça, cauda, placa da base e das fibras da cauda. As proteínas constituintes estão identificadas com o número ou nome do gene correspondente (*gp*, do inglês *gene product*): Adaptado de^(9,10).

Os bacteriófagos da família Podoviridae apresentam caudas curtas. Apesar das variações de tamanho e forma, apresentam uma estrutura tubular central com fibras associadas e uma proteína perfurante (agulha), localizada no interior do tubo de cauda, em forma de espiral, que serve como um tampão para evitar uma perda prematura do DNA⁽¹¹⁾.

Devido aos progressos em microscopia, identificaram-se numerosas estruturas de fagos e as suas componentes proteicas. Estas estruturas sugerem que os fagos de cauda com dsDNA apresentam origem evolutiva comum⁽¹¹⁾.

8.6. CICLOS DE REPLICAÇÃO

O ciclo de replicação dos bacteriófagos pode ser classificado, de acordo com as características da infecção, em lítico, lisogénico (ou temperado) e pseudolisogénico (figura 25). Durante a infecção lítica, são reprogramadas as bactérias hospedeiras para benefício dos agentes infecciosos, produzindo 50 a 200 novos fagos. Mais tarde, ocorre a

lise celular causando a morte da célula bacteriana sendo libertados os novos bacteriófagos no espaço extracelular⁽²⁾.

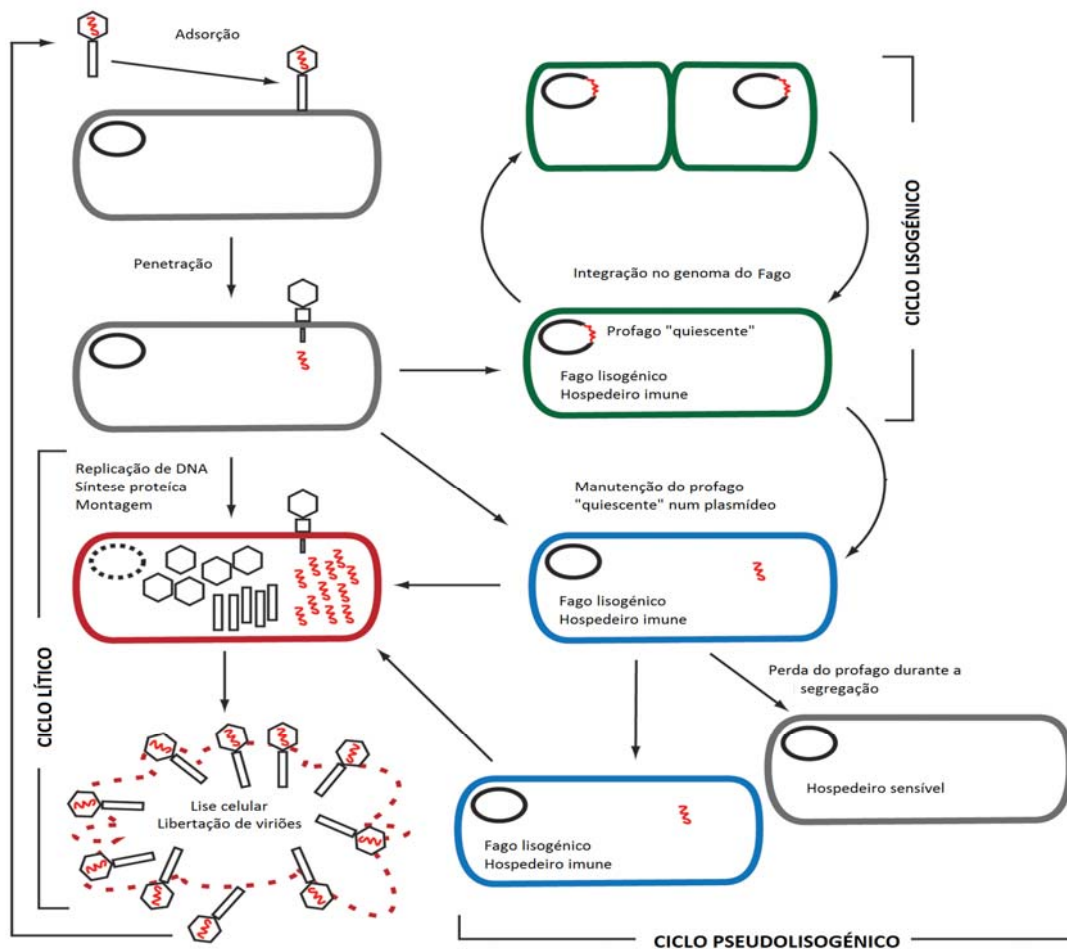


Figura 25: Diferentes ciclos de replicação dos bacteriófagos. Adaptado de⁽¹²⁾.

A infecção lisogênica ou ciclo temperado, é caracterizada pela integração do DNA do fago no genoma do hospedeiro e conseqüentemente novas bactérias herdarão o DNA viral. No entanto a integridade celular mantém-se. Em certas condições, o ciclo lisogênico poderá reverter num ciclo lítico, por exemplo, se o número de células hospedeiras for reduzindo⁽²⁾.

Alguns bacteriófagos apresentam um ciclo de vida pseudolisogênico, caracterizado pela não integração do genoma viral no genoma do hospedeiro permanecendo nesse “modo” até que ocorram condições que desencadeiem ou o ciclo de vida lítico ou o lisogênico. Nestes casos, os genomas virais replicam-se, geralmente,

como plasmídeos dentro do citoplasma, podendo eventualmente perder-se durante a divisão celular⁽⁴⁾.

Classicamente a relação fago/bactéria foi interpretada num quadro de predador/presa, no entanto esta definição não é clara. Os bacteriófagos não podem extinguir as células hospedeiras, pois contam com a sua capacidade de tradução, para os próprios não se extinguirem. Por outro lado existem evidências que defendem que as bactérias vivem melhor com os fagos do que sem eles pois, durante a infecção, podem ser transmitidos genes úteis traduzindo-se em vantagem seletiva. Considerando a baixa frequência de reprodução sexuada nos procariontes “o sexo infecioso” contribui para a enorme diversidade genética entre as bactérias e para a sua evolução⁽³⁾.

A capacidade infecciosa de um bacteriófago está diretamente relacionada com a sua capacidade de se ligar a recetores celulares durante a adsorção. O reconhecimento pelos recetores do hospedeiro determina a sua especificidade que consiste na capacidade de infetar uma estreita gama de hospedeiros, uma espécie ou estirpe microbiana em concreto. Esta especificidade depende de peculiaridades estruturais dos recetores na superfície celular bacteriana cuja natureza, composição química e configuração espacial desempenham um papel fundamental na relação bacteriófago/hospedeiro estável. A adsorção é um processo importante no reconhecimento pela célula hospedeira sensível, ou seja, a especificidade de infecção do fago é definida nesse momento. Os bacteriófagos, como qualquer vírus, são parasitas intracelulares obrigatórios tornando a adsorção, bem sucedida, uma condição essencial para a sua replicação⁽¹³⁾.

8.7. ESPECIFICIDADE DOS BACTERIÓFAGOS

Rakhuba et al. (2010) num artigo de revisão sobre as estruturas bacterianas que regem o reconhecimento dos bacteriófagos e os mecanismos de adsorção e penetração na célula microbiana, apresentam diversos recetores que podem estar presentes nas bactérias e podem ou não ser reconhecidos por diferentes fagos, definindo assim a sua especificidade. Os recetores bacterianos que entram em contacto com bacteriófagos, estão envolvidos em atividades do metabolismo celular, sendo diferentes entre os representantes dos diversos grupos taxonómicos e podendo localizar-se na parede celular ou noutras estruturas de revestimento ou locomoção⁽¹³⁾.

As bactérias Gram-negativas são geralmente limitadas por duas estruturas membranares (figura 26). A membrana citoplasmática (interna), que circunda o citoplasma bacteriano é composta por uma bicamada de fosfolípidos. A membrana externa, por seu lado, apresenta uma estrutura trilamelar com dois folhetos densos, exterior e interior, contendo proteínas. O folheto externo é composto principalmente por lipopolissacarídeos (LPS) e o folheto interno contém fosfolípidos e lipoproteínas. Os LPS das bactérias Gram-negativas são constituídos por um lípido-A e um núcleo de polissacárido com cadeias de polissacarídeos específicas (antigénio-O) que se projetam para o exterior. As duas membranas, interna e externa, são separadas por uma camada de gel conhecida por Periplasma que contém uma camada fina de peptidoglicano (PG)⁽¹⁴⁾.

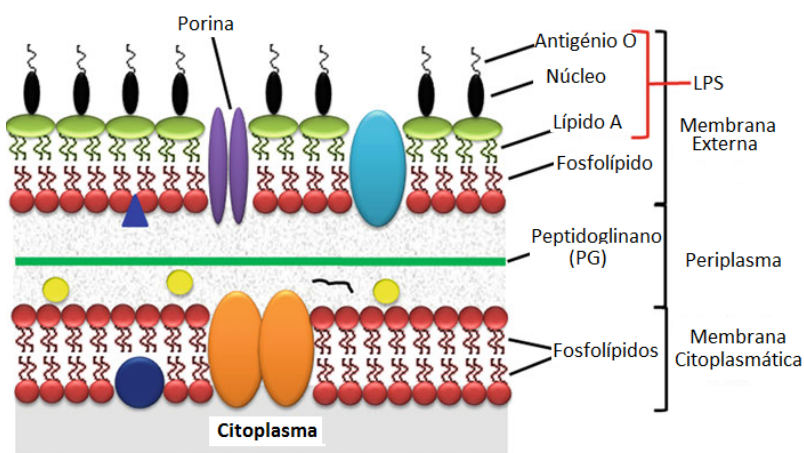


Figura 26: Estrutura da paredes das bactérias Gram-negativas. Adaptado de⁽¹⁴⁾.

As proteínas localizadas na membrana externa e vários locais de LPS podem servir como recetores de bacteriófagos. Em muitos casos os fagos requerem moléculas de ambos os tipos durante a adsorção. Relativamente às proteínas estas podem ser estruturais como por exemplo OmpA (normalmente envolvida no processo de conjugação bacteriana e recetor para o fago K3); porinas que formam canais de membrana como a OmpC (recetor para os fagos Hy2, SS4, Tulb e T4) e OmpF (recetor para o fago T2); enzimas como as proteases OmpT e OmpX (recetores dos bacteriófagos M1 e Ox2 respetivamente) e proteínas transportadoras como LambB (recetora para o fago λ)⁽¹⁴⁾. Na figura 27 estão representados diversos recetores de fagos de *Salmonella* (Gram-negativa), que podem incluir glicolípidos do LPS (antigénios O), proteínas de membrana (OmpF, BtuB e TolC) e proteínas de flagelos (FliC, FljB e FliK)⁽¹³⁾.

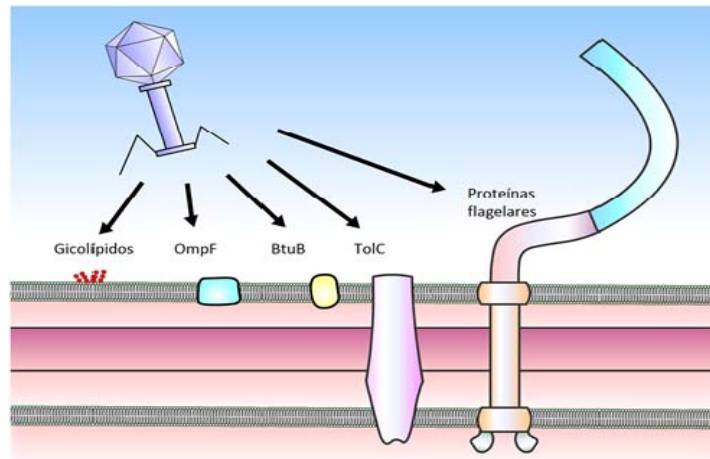


Figura 27: Recetores de fagos de *Salmonella* (Gram-negativa). Adaptado de⁽¹⁵⁾.

Além das proteínas, o LPS pode também servir como recetor para a adsorção de bacteriófagos (figura 28). Existem dois tipos de LPS: liso (S) e rugoso (R). Fagos específicos para LPS tipo S exibem uma extrema especificidade de hospedeiros determinada pela grande variabilidade da estrutura do antígeno-O, em bactérias de diferentes grupos taxonómicos. Bacteriófagos que reconhecem o LPS tipo R mostram uma gama de hospedeiros mais ampla, uma vez que a estrutura do núcleo do LPS é comum em diferentes géneros de bactérias Gram negativas⁽¹³⁾.

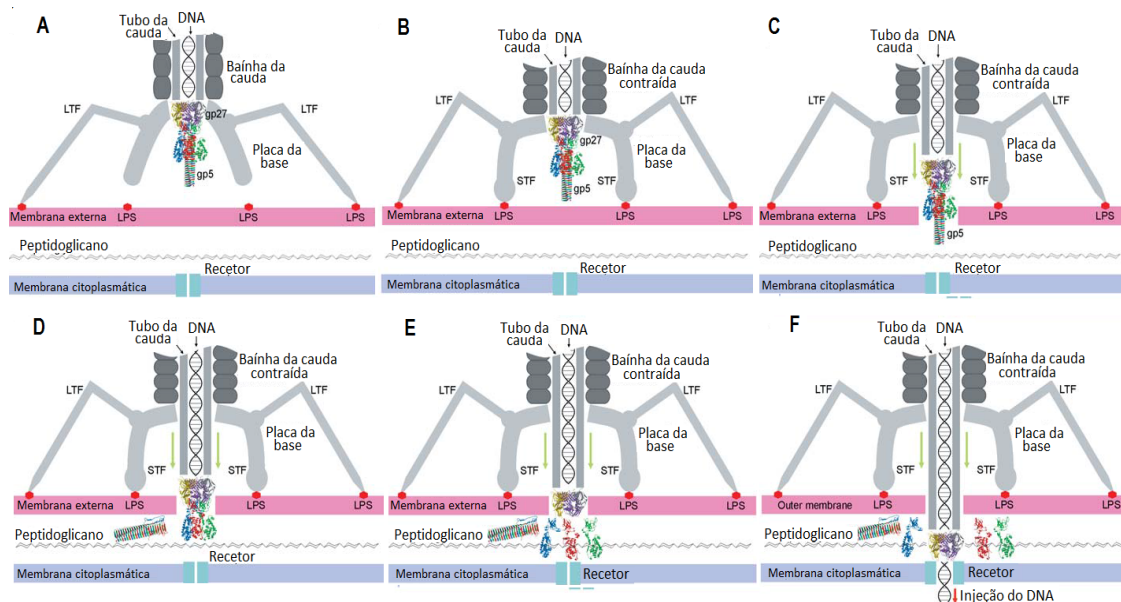


Figura 28: Processo de infecção de *E. coli* pelo fago T4: A- reconhecimento das moléculas de LPS pelas fibras longas da cauda (LTF) numa ligação reversível; B- ligação irreversível aos recetores pelas fibras curtas (STF) e início da contração da bainha; C- a contração da bainha faz com que a agulha perfure a membrana externa; D- ativação dos domínios de lisozima; E- destruição do peptidoglicano pela lisozima; F- reconhecimento da gp27 por um recetor na membrana interna e injeção do DNA. Adaptado de⁽¹⁶⁾.

A parede celular de bactérias Gram-positivas difere significativamente das espécies Gram-negativas. O componente principal é peptidoglicano, constituindo 40% a 90% do peso seco das células, sendo composto por dissacáridos formados pelos ácidos N-acetilglucosamina e N-acetilmurâmico. Os ácidos teicóicos (WTA e LTA) são outro constituinte e podem ser utilizados como recetores pelos bacteriófagos. Constituem a maior parte dos antígenos de superfície da célula bacteriana e desempenham um papel múltiplo e variado na sua fisiologia estando envolvidos, por exemplo, na regulação iónica e no controlo da divisão celular⁽¹⁷⁾. Na figura 29 pode observar-se uma representação esquemática da parede celular de *Lactococcus lactis* (Gram positiva) e as suas interações com bacteriófagos infestantes através do reconhecimento específico de recetores (polissacarídeos) localizados na superfície bacteriana⁽¹⁷⁾.

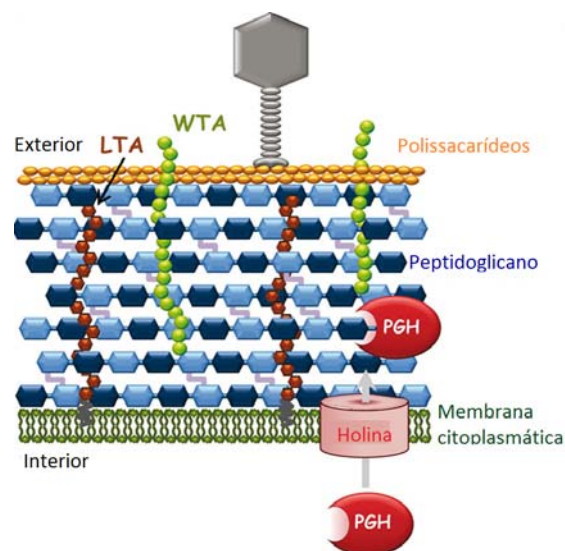


Figura 29: Parede celular de *Lactococcus lactis* as suas interações com bacteriófagos. No final do ciclo de infeção, no interior do hospedeiro, a holina (PGH, do inglês peptidoglycan hydrolase), endolisina codificada pelo genoma do fago, tem acesso ao peptidoglicano, destruindo a sua estrutura para libertação dos viriões. Adaptado de⁽¹⁷⁾.

Por outro lado, muitos bacteriófagos são atraídos para recetores bacterianos localizados em flagelos, *pili* e cápsulas⁽¹³⁾. Na figura 30, observa-se a infeção de *Salmonella enterica* pelo bacteriófago iEPS5, cujo DNA foi marcado. Nos primeiros 10 minutos, alguns flagelos da bactéria tornaram-se fluorescentes. Após 1 hora a fluorescência deslocou-se para o citoplasma, durante a injeção do DNA do bacteriófago⁽¹⁸⁾.

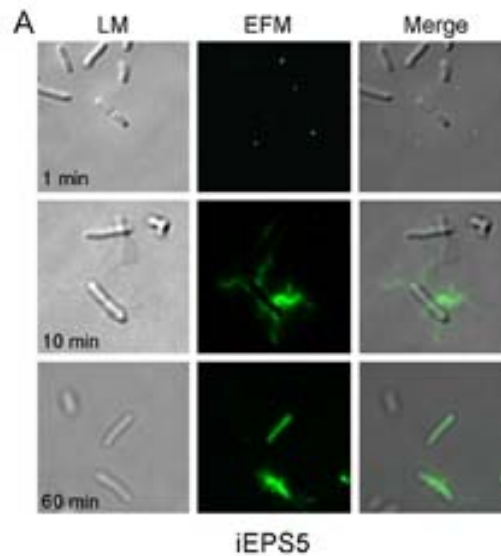


Figura 30: Infecção de *Salmonella enterica* pelo bacteriófago iEPS5. LM (microscópio ótico); EFM (microscopia de epifluorescência); Merge (fusão de LM e EFM). Ampliação 1000. Adaptado de⁽¹⁸⁾.

Os mecanismos de adsorção e a taxa de penetração variam em cada par fago/hospedeiro. Como os bacteriófagos não têm estruturas específicas responsáveis por movimento, não se podem mover de forma independente. Assim, o processo de adsorção é o resultado da colisão aleatória entre as bactérias e os fagos, que aumenta à medida que a concentração de cada um aumenta. A taxa de adsorção é também determinada por uma série de fatores físico-químicos (pH, temperatura e a presença de alguns iões) e depende das condições fisiológicas do hospedeiro⁽¹³⁾.

8.8. EVOLUÇÃO DOS SISTEMAS DE INFEÇÃO EM RESPOSTA AOS MECANISMOS DE RESISTÊNCIA

As bactérias e os seus predadores virais (bacteriófagos) batem-se numa batalha constante. A fim de proliferar em ambientes ricos em fagos, as bactérias desenvolveram mecanismos de defesa e, em resposta, os fagos evoluíram desenvolvendo estratégias eficazes contra esses sistemas antivirais. Assim, as bactérias adquiriram uma notável variedade de mecanismos para se protegerem contra muitos fagos invasores. Sistemas bacterianos antifagos incluem a inibição da ligação dos fagos a recetores da superfície celular, clivagem do genoma do fago invasor e ainda a indução suicida, “altruísta”, de células infetadas. Moineau et al (2013), num artigo de revisão, descrevem as várias táticas que são usadas pelos bacteriófagos para superar os mecanismos de resistência bacteriana, enfatizando o papel da coevolução no desenvolvimento desses mecanismos

(figura 31). No entanto, apesar deste arsenal, uma grande proporção de bactérias sucumbe à infecção, pois devido à sua plasticidade genômica e às taxas de replicação rápida, os fagos desenvolveram estratégias igualmente diversificadas para prosperar em células bacterianas aparentemente bem protegidas⁽¹⁹⁾.

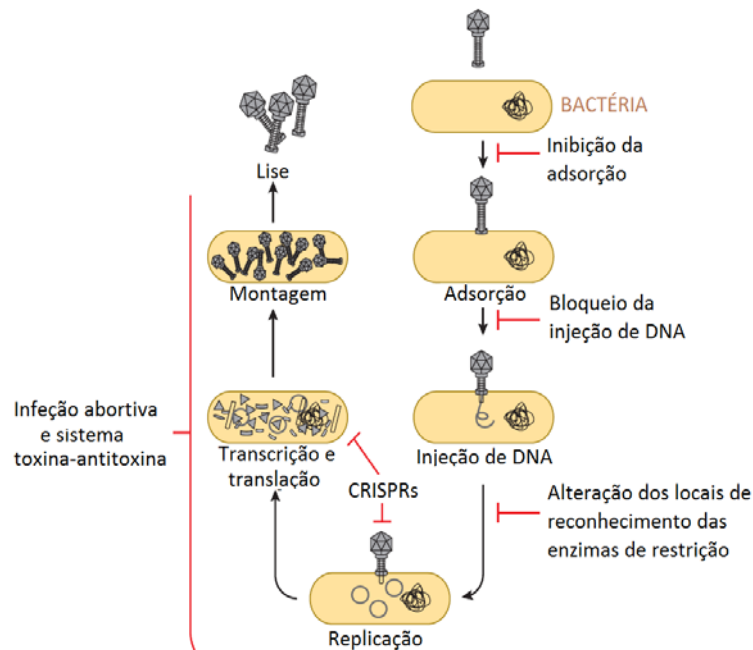


Figura 31: Sistemas bacterianos antifago. As bactérias possuem uma gama de estratégias de defesa que podem ocorrer em diferentes fases do ciclo de replicação dos bacteriófagos. Adaptado de⁽²⁰⁾.

As proteínas de ligação dos bacteriófagos - RBP (do inglês *Recognise Bacteriophage Protein*), reconhecem recetores específicos na superfície bacteriana, no entanto, se esses recetores forem modificados através de mutação, ficam impedidos de adsorver ao hospedeiro. Para ultrapassar esta dificuldade, são capazes de adquirir mutações nos genes que codificam as proteínas de ligação reconhecendo novos recetores (figura 32A). Por outro lado, algumas bactérias apresentam cápsula ou EPS como forma de resistirem a ataques de bacteriófagos ou outras substâncias. Alguns bacteriófagos desenvolveram a capacidade de hidrolisar esses polissacarídeos, no sentido de aceder aos recetores (figura 32B). Nos casos em que os recetores do hospedeiro são expressos temporariamente (sob condições ambientais específicas), os bacteriófagos codificam proteínas de ligação com especificidades variáveis aumentando as probabilidades de contaminar o hospedeiro (figura 32C). Quando o genoma dum bacteriófago entra num hospedeiro, pode enfrentar vários sistemas antivirais, nomeadamente o ataque de enzimas de restrição que o destróem impedindo a sua

integração no DNA da bactéria. Para dar resposta a este mecanismo de resistência, alguns bacteriófagos alteram os locais de reconhecimento das endonucleases de restrição. Outros, juntamente com o seu DNA, injetam proteínas fágicas que se ligam ao seu genoma disfarçando os locais de reconhecimento das endonucleases impedindo a sua ação. Outro mecanismo antifago que protege o hospedeiro é o sistema CRISPR-Cas. CRISPR (do inglês *Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats*) e Cas (*CRISPR associated sequence*) confere imunidade bacteriana a elementos genéticos estranhos tais como plasmídeos ou fagos, sendo capaz de identificar e cortar o genoma invasor em locais específicos, impedindo a sua inserção no genoma bacteriano. Alguns bacteriófagos desenvolveram mecanismos para iludir o sistema de defesa CRISPR-Cas, por mutação da região que deveria ser reconhecida. Outros apresentam junto com o seu genoma proteínas anti-CRISPR, que neutralizam a vigilância deste sistema de defesa. Noutras situações algumas bactérias assumem uma atitude altruísta após infeção e produzem toxinas que conduzem à sua própria morte evitando a replicação dos bacteriófagos. Estes desenvolveram entretanto mecanismos que neutralizam as toxinas, garantindo a sua replicação e proliferação⁽¹⁹⁾.

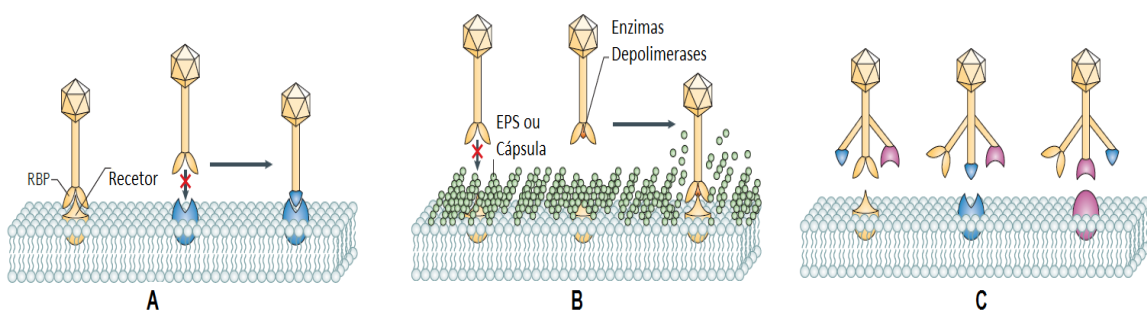


Figura 32: Estratégias dos bacteriófagos para ter acesso a recetores do hospedeiro. A- expressão de novas RBP; B -hidrólise de polissacarídeos protetores; C -expressão estocástica das RBP. Adaptado de⁽¹⁹⁾.

Compreender a dinâmica da interação fago/hospedeiro é importante por várias razões. Por um lado, os bacteriófagos desempenham papéis cruciais nas comunidades microbianas envolvidas nos ciclos biogeoquímicos, tornando necessário entender o seu impacto ambiental. Por outro lado, nas indústrias de alimentos e de biotecnologia, que dependem de bactérias para a fabricação de produtos, é necessário controlar infeções para maximizar o rendimento e a qualidade. Finalmente, a possível utilização de bacteriófagos como agentes de controlo biológico exige a compreensão dessa relação de forma que a sua aplicação se torne segura⁽¹⁹⁾.

8.9. PERSPETIVA HISTÓRICA DA APLICAÇÃO DOS BACTERÍOFAGOS EM BIOCONTROLO

Antes do uso generalizado dos antibióticos, os médicos tratavam com sucesso uma variedade de infeções bacterianas com bacteriófagos. Com a produção de antibióticos em massa, o interesse no tratamento por fagos, em grande parte, perdeu-se. Atualmente, os antibióticos estão a perder a sua eficácia, devido ao seu uso excessivo, por exemplo na exploração animal, para prevenir doenças e aumentar a velocidade de crescimento, acabando vertidos em fossas ou lixiviados no solo e nas águas subterrâneas, contribuindo para os *hot spot* de resistência aos antibióticos no ambiente⁽²¹⁾.

O uso de bacteriófagos em biocontrolo começou em 1896, quando Ernest Hankin relatou a existência de atividade antibacteriana contra *Vibrio cholera* (o agente causador da cólera) considerado um dos mais mortíferos que tinha enfrentado⁽²²⁾. Em 1915, o bacteriologista britânico Frederick Twort (figura 33) descobriu um agente capaz de matar colónias de bactérias de culturas em crescimento, sendo o seu trabalho interrompido pelo início da primeira guerra mundial. Felix d'Herelle (figura 33), de forma independente, no Instituto Pasteur em França, no ano de 1917, descobriu um agente que matava bactérias, observando que culturas de bactérias responsáveis pela disenteria morriam com a adição de um filtrado obtido a partir de esgotos⁽²³⁾.



Figura 33 Frederick Twort (1877-1950) e Felix d'Herelle (1873-1949)⁽²³⁾.

D'Herelle foi também o primeiro a fazer experiências com bacteriófagos em medicina, usando-os para tratar um menino que sofria de disenteria. Após a administração dos fagos, a criança recuperou com sucesso^(2,22). Mais tarde D'Herelle e cientistas da Geórgia (ex-URSS) criaram um instituto para estudar as propriedades dos

bacteriófagos e a sua utilização no tratamento de infeções bacterianas, uma década antes da descoberta da penicilina. No final da década de 1930, os antibióticos foram descobertos e, devido à sua elevada eficácia, quase abafaram os estudos sobre o uso medicinal de bacteriófagos. No entanto, ao longo do tempo surgiu a resistência bacteriana aos antibióticos. As bactérias adaptaram-se e tornaram-se resistentes às drogas mais potentes utilizadas na medicina moderna. O surgimento de estirpes resistentes, tais como *Mycobacterium tuberculosis*, *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Acinetobacter baumannii* e *Pseudomonas aeruginosa*, criou grandes problemas no tratamento de pacientes em hospitais. Por outro lado, o tempo necessário para a produção de novos antibióticos é mais longo do que o tempo de adaptação das bactérias^(2,21). Embora o conceito de fagoterapia tenha morrido no ocidente, na ex-União Soviética continuou em prática. No Instituto Eliava, em Tbilisi (Geórgia), a fagoterapia é intensivamente estudada e aplicada sendo considerado pioneiro neste assunto⁽²²⁾. Investigadores do leste europeu continuaram a estudar estes vírus durante décadas. Nesses países, os fagos continuam a ser administrados por via oral, na forma de comprimidos e líquidos, topicamente e por via retal, não havendo registos de efeitos colaterais graves⁽²¹⁾.

A principal vantagem da utilização de bacteriófagos é a sua especificidade para as bactérias alvo, o que reduz muito o dano na flora simbiótica do paciente, sendo seguros, sem ou com poucos efeitos secundários. Após administração, os fagos distribuem-se rapidamente por todo o corpo. Se as bactérias se tornam resistentes, os fagos evoluem naturalmente e vão conseguir infetá-las, minimizando assim as hipóteses de fuga bacteriana, resultando noutra vantagem do fago sobre o uso dos antibióticos⁽²²⁾.

Recentemente, sendo reconhecidos como predadores naturais das bactérias e, uma vez que deixam as células de animais e plantas incólumes, os bacteriófagos têm sido propostos como alternativa aos antibióticos, atuando contra muitas espécies resistentes e podendo ser usados como agentes de controlo biológico, por exemplo, na medicina, na indústria alimentar na agricultura e no ambiente. Por outro lado, apresentam potencialidades na área da biotecnologia uma vez que são facilmente manipuláveis⁽²³⁾. Atualmente, alguns investigadores estão à procura da era pré-antibiótica, com o objetivo de ressuscitar os bacteriófagos como antídotos para a resistência aos antibióticos e resolver problemas médicos, agrícolas e ambientais⁽²¹⁾.

8.10. POTENCIAIS APLICAÇÕES DE BACTERIÓFAGOS EM BIOCONTROLO

8.10.1. SAÚDE HUMANA

O uso de bacteriófagos no tratamento de infeções bacterianas (fagoterapia) está a ser defendido como uma alternativa às terapias com antibióticos. É caracterizada pela utilização de fagos líticos sobre estirpes bacterianas específicas causando perturbação no seu metabolismo e lise celular. Este agente seletivo (pois apresenta especificidade), em conjunto com a resposta imunitária do organismo, reduz a população de bactérias para níveis considerados inofensivos⁽²⁴⁾. Fagos temperados, pelas características do seu ciclo replicativo, não são adequados para o fagoterapia⁽²⁾. Na tabela 2, apresenta-se as vantagens da utilização de fagos, como agentes terapêuticos, comparando com os antibióticos tradicionais (tabela 2)⁽²⁵⁾.

Tabela 2: Vantagens do uso de bacteriófagos relativamente ao uso de antibióticos. Adaptado de⁽²⁵⁾.

Bacteriófagos	Antibióticos
Altamente eficazes em matar as bactérias alvo, ou seja, a sua ação é bactericida	Alguns antibióticos são bacteriostáticos. Inibem o crescimento de bactérias, não as matando.
Produção é simples e barata.	Produção complexa e dispendiosa.
São uma droga "inteligente": multiplicam-se no local da infeção, até que não haja mais bactérias.	Não se concentram apenas no local da infeção, distribuindo-se pelo organismo.
Dose inicial aumenta exponencialmente, enquanto os hospedeiros estão disponíveis sendo desnecessário administrar os fagos repetidamente.	Necessidade de administrar doses repetidas de antibiótico para curar a doença bacteriana.
Elevada seletividade permitindo direcionar tratamento a bactérias específicas, sem afetar a flora bacteriana simbiótica.	Apresentam espectro alargado, afetando o equilíbrio microbiano do paciente, levando a efeitos colaterais.
Elevada especificidade evitando o desenvolvimento de resistência noutras espécies bacterianas (não alvo).	Atividade de largo espectro, podendo selecionar mutantes resistentes de muitas espécies de bactérias patogénicas.
Os seres humanos são tolerantes aos fagos, não havendo efeitos secundários descritos.	Observam-se vários efeitos colaterais: distúrbio intestinal, alergias e infeções secundárias (por exemplo, infeções fúngicas)
Bactérias resistentes a alguns fagos permanecem suscetíveis para outros.	A diversidade de antibióticos é limitada.
Os bacteriófagos coevoluem com as bactérias, permitindo encontrar novos fagos quando as bactérias se tornarem resistentes.	O desenvolvimento de um novo antibiótico é um processo muito demorado
Podem ser considerados como boa alternativa para pacientes alérgicos a antibióticos.	Se o paciente é alérgico a antibióticos, o tratamento é muito difícil.

Do ponto de vista clínico, a terapia com bacteriófagos parece ser muito segura, tendo sido já avaliada a sua eficácia contra *Streptococcus* e espécies dos géneros *Escherichia*, *Pseudomonas*, *Proteus*, *Salmonella*, *Shigella*, *Serratia*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Campylobacter*, *Yersinia*, *Acinetobacter* e *Brucella*. Por outro lado, os fagos podem ser modificados geneticamente para melhorar a sua capacidade terapêutica⁽²⁵⁾, ou podem mesmo ser usados em combinação durante o tratamento com antibióticos⁽²⁴⁾, uma vez que a resistência bacteriana aos antibióticos não afeta a atividade infecciosa de um bacteriófago⁽²⁾.

A utilização dos bacteriófagos para fins terapêuticos tem uma longa tradição na Europa Oriental, onde são disponibilizadas soluções compostas por complexos *cocktails* de fagos, cujas composições não estão descritas. Shawna McCallin et al. (2013) investigaram a composição dum *cocktail* de fagos, “ColiProteus”, disponibilizado pela companhia farmacêutica russa Microgen, direcionado para tratamento de infeções causadas por bactérias género *Proteus* e por *E. coli*. A microscopia eletrónica identificou seis tipos de fagos distribuídos pelas famílias Podoviridae, Myoviridae e Siphoviridae. A análise bioinformática não revelou genes indesejáveis e num pequeno ensaio voluntário em humanos, não se observaram efeitos adversos com a administração oral dos fagos. O ensaio foi realizado em cinco adultos saudáveis, cinco crianças com idades entre os 5 e os 10 anos e cinco crianças com menos de 5 anos de idade, todos do Bangladesh. Os indivíduos receberam o cocktail com uma dose elevada, com uma dose dez vezes menor e um placebo. Cada sujeito recebeu os três tratamentos por uma ordem aleatória, funcionando também como controlo, no sentido de facilitar a deteção de efeitos adversos. Todos os indivíduos foram seguidos por exames físicos completos semanais não apresentando problemas. Nenhum fago foi detetado na corrente sanguínea nem se verificou o aumento de anticorpos para os fagos no soro dos indivíduos em estudo⁽²⁶⁾.

Propionibacterium acnes é a principal bactéria comensal da pele, encontrada em pele com acne e em pele saudável. Para investigar a diversidade de bacteriófagos que infetam *P. acnes*, Laura J. Marinelli et al. (2012) isolaram, a partir do conteúdo de folículos sebáceos, nove fagos (figura 34). Cinco foram obtidos a partir de doadores saudáveis e quatro isoladas a partir de doadores com acne⁽²⁷⁾.

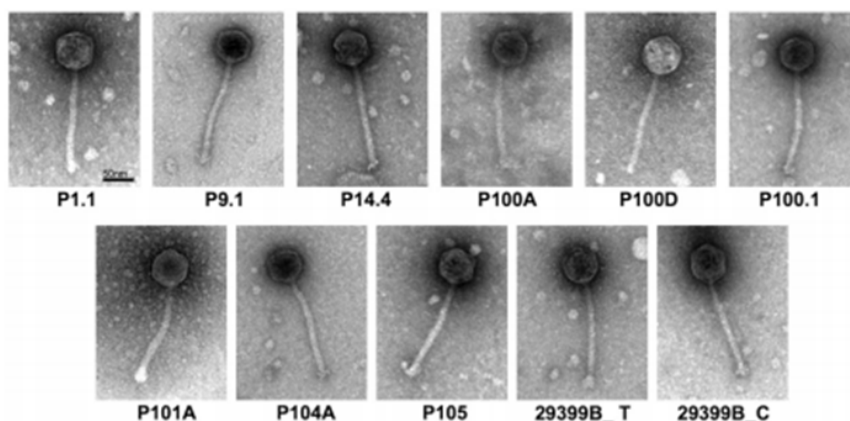


Figura 34: Microscopia eletrônica de fagos isolados de *P. acnes*. Os onze fagos caracterizados neste estudo revelam que todos pertencem à família Siphoviridae. Os fagos 29399B_T e 29399B_C são temporalmente e geograficamente separados dos outros fagos isolados neste estudo⁽²⁷⁾.

O resultado deste estudo aponta o caminho para a necessidade de uma investigação mais aprofundada dos bacteriófagos de *P. acnes* e indicam a possibilidade de utilizar estes vírus como uma abordagem orientada para tratamento da acne⁽²⁷⁾. Sorel Fitz-Gibbon et al. (2013), no sentido de compreender o papel do *P. acnes* no desenvolvimento da acne, apresentaram um estudo que demonstrou uma forte associação entre a presença de algumas estirpes de *P. acnes* na pele e o desenvolvimento da doença⁽²⁸⁾.

Embora existam numerosos estudos sobre comunidades virais, poucos focam a microbiota humana. David T Pride et al (2012) analisaram a saliva de cinco seres humanos adultos saudáveis durante um período de 60 a 90 dias a fim de conhecer os habitantes virais da cavidade oral humana. A grande maioria dos vírus salivares humanos foi identificada como sendo vírus de bactérias⁽²⁹⁾. É geralmente aceite que *Streptococcus mutans* é a principal bactéria responsável pela iniciação da cárie no esmalte humano, uma vez que tem sido identificada como o agente etiológico presumido em 70% a 100% das populações de pacientes estudadas⁽³⁰⁾. O bacteriófago M102 é um fago específico e virulento para o serotipo C de *S. mutans*. Shibata, Yasmashita e Van der Ploeg (2009) concluíram que o potencial do uso de bacteriófagos para remover o cariogénio *S. mutans* da placa bacteriana é limitado pelo facto do fago apresentar especificidade apenas para o serotipo C, deixando incólumes os serotipos E, F e K⁽³¹⁾. Delisle et al. (2012) reclassificaram o fago M102 como M102AD (figura 35),

após uma reanálise do genoma que revelou diferenças em relação à sequência do genoma de M102. No entanto, confirmaram a sua alta especificidade para o serotipo C de *S. mutans*. Este estudo também refere a necessidade de caracterizar completamente qualquer fago de interesse e de realizar testes moleculares de autenticação para evitar o uso de bacteriófagos errados. Apontam também para a necessidade de depositar os principais representantes de fagos em coleções públicas para garantir o acesso contínuo aos mesmos⁽³²⁾.

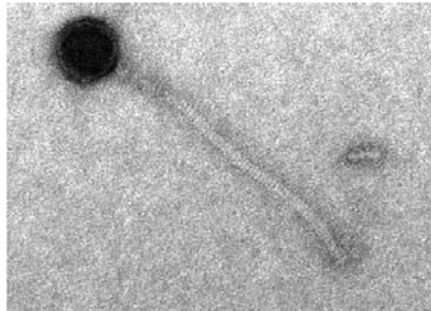


Figura 35: Fotografia de microscopia eletrónica do Bacteriófago M102AD⁽³²⁾.

8.10.2. AGRICULTURA E PRODUÇÃO ANIMAL

Algumas bactérias causam uma série de doenças em plantas economicamente importantes. Focos bacterianos são geralmente difíceis de controlar devido à falta de agentes bactericidas eficazes, podendo os bacteriófagos ser utilizados para controlar uma série de fitobactérias. Preocupações sobre a poluição do meio ambiente, resultante do uso de pesticidas, e a popularidade crescente da produção biológica contribuem para o interesse sobre o conhecimento das características biológicas dos fagos. Segundo Tan e Tony (2014), os bacteriófagos foram encontrados pela primeira vez em associação com bactérias fitopatogénicas quando Mallman e Hemstreet, em 1924, demonstraram que um filtrado de repolho decomposto inibiu o crescimento do "organismo da podridão do repolho"⁽³³⁾. Fujiwara et al. (2011) trataram células de *Ralstonia solanacearum* com o fago Φ RSL1 e descobriram que as células infetadas mantiveram uma baixa densidade. Verificaram que Φ RSL1 também inibiu a murchidão bacteriana, causada por *Ralstonia solanacearum*, em tomateiros pré-tratados⁽³⁴⁾. A bactéria *Erwinia chrysanthemi* causa apodrecimento e pé negro na batata. Para controlar esse problema, Adriaenssens et al. (2012) isolaram e caracterizaram dois bacteriófagos, vB_DsoM_LIMEstone1 e

vB_DsoM_LIMEstone2, capazes de reduzir a incidência e gravidade da doença em tubérculos de batata em ensaios de laboratório. Durante os ensaios de campo, com tubérculos de batata previamente infetados com fagos, o tratamento experimental resultou em maior rendimento produtivo, confirmando o potencial da utilização de bacteriófagos como agente de controlo biológico em culturas⁽³⁵⁾. A virulência das bactérias do género *Xanthomonas* está correlacionada com a sua capacidade de produzir biofilme tornando-as resistentes aos produtos fitossanitários, dificultando o seu controlo. Ali Ahmad e colaboradores (2014) identificaram o fago filamentosso XacF1 e mostraram que, após infeção pelo fago, as bactérias perderam a capacidade de formar cancos cítricos e reduziram significativamente a produção de biofilme⁽³⁶⁾. Tan e Tony (2014) apresentam, um estudo que teve como objetivos incorporar bacteriófagos com fertilizantes para o controlo da murcha bacteriana no tomate, da podridão mole bacteriana na pitiaia e examinar a eficácia deste produto no campo. Verificaram que a incorporação de bacteriófagos nos fertilizantes contribuiu para a eliminação dos sintomas de murcha do tomate em 80% e revelou um impacto positivo no crescimento vegetativo da pitiaia, mostrando que o processo de fertilização e prevenção de doença podem ser realizados ao mesmo tempo⁽³³⁾.

O uso profilático e terapêutico de antibióticos na produção animal tornou-se uma grande preocupação, devido à possibilidade de contribuir para o declínio da sua eficácia durante o tratamento de infeções bacterianas em seres humanos e, promoverem o aparecimento de superbactérias resistentes como a *Salmonella* DT104 ou *Staphylococcus aureus*⁽³⁷⁾. A campilobacteriose é atualmente uma zoonose de origem alimentar frequente em muitos países e associada ao consumo de carne de frango. Fischer et al. (2013) desenvolveram um estudo com o objetivo de aumentar o conhecimento sobre o potencial da utilização de bacteriófagos na redução da colonização de frangos por *Campylobacter jejuni*. O ensaio desenvolveu-se em frangos do dia, após confirmada a ausência de contaminação. As aves jovens foram inoculadas com *Campylobacter jejuni* e, posteriormente, com bacteriófagos previamente isolados a partir de fezes de frangos. O resultado demonstrou que os bacteriófagos persistiram durante todo o período do estudo e a carga das bactérias foi permanentemente reduzida no caso dos frangos tratados com um cocktail de fagos, bem como, no grupo de frangos aos quais tinha sido administrada uma suspensão que continha apenas uma espécie de fago (figura 36)⁽³⁸⁾.

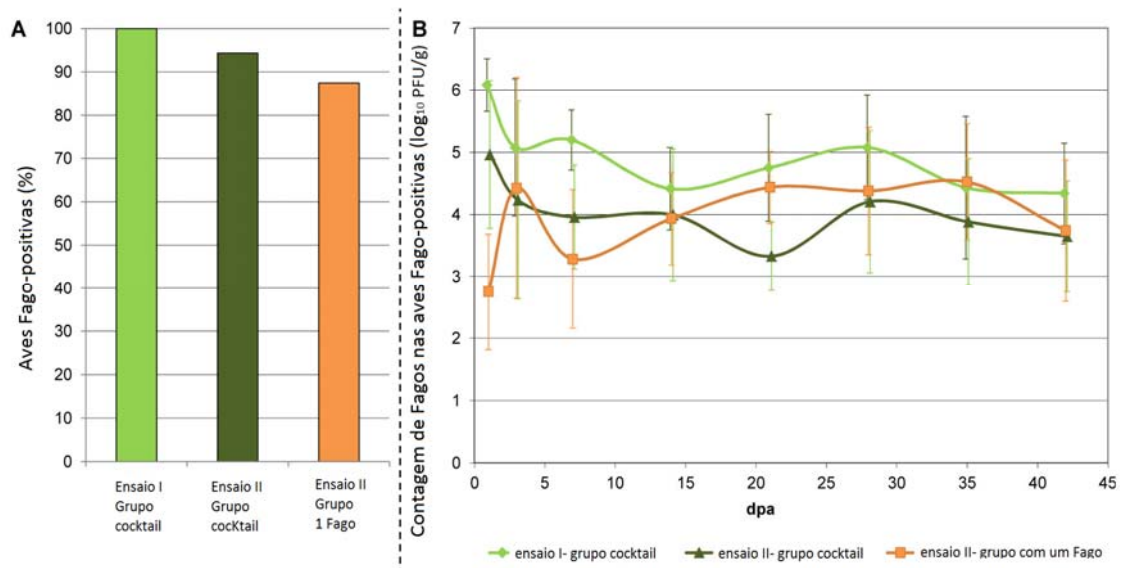


Figura 36: Resultados do tratamento, com fagos, em aves. A- percentagem de aves fago-positivas. B- contagem de fagos nas aves fago-positivas. Adaptado de⁽³⁸⁾.

dpa = dias após a aplicação de fagos.

Este estudo, desenvolvido *in vivo*, permite concluir que os bacteriófagos são capazes de reduzir a carga de *Campylobacter jejuni* em frangos, de forma sustentável, pois a resistência das bactérias aos fagos estabiliza a um nível baixo, podendo ser moderado e retardado pela utilização de um cocktail de fagos. Os autores consideram que a aplicação de fagos no biocontrolo poderá desempenhar um papel promissor na luta contra toxinfecções alimentares decorrentes do consumo da carne de aves⁽³⁸⁾.

A mastite é uma das maiores preocupações da indústria de laticínios em todo o mundo podendo ser causada pela presença de *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas sp* ou *E coli*. Estas bactérias são conhecidas pela capacidade de desenvolver resistência aos antibióticos constituindo uma ameaça não só para a saúde animal, mas também pode levar à acumulação de resíduos de antibióticos, em produtos de origem animal, criando uma ameaça em termos de saúde humana. Shukla, Hirpurkar e Singh (2014) selecionaram doze animais com mastite crónica previamente submetidos, sem êxito, a tratamento com antibióticos convencionais, aos quais administraram injeções intramamárias de um *cocktail* de fagos. Os mamilos mostraram redução gradual do inchaço e os animais recuperaram completamente após dez dias, mostrando que a fagoterapia é mais eficaz que o uso de antibióticos no tratamento de mastite crónica⁽³⁹⁾.

Ramos (2014), isolou bacteriófagos para bactérias patogénicas de aquacultura. Após a caracterização biológica e molecular dos bacteriófagos, verificou que três fagos patogénicos para *L. garvieae* infetavam a quase totalidade das bactérias hospedeiras, sugerindo que podem contribuir para a diminuição da severidade ou persistência de infeções que causam perdas na criação de peixe⁽⁴⁰⁾

8.10.3. INDÚSTRIA DO PROCESSAMENTO DE ALIMENTOS

A contaminação alimentar é um problema sério de saúde pública, podendo causar a morte. As principais bactérias patogénicas de origem alimentar são *E. coli* (O157:H7), *Campylobacter jejunii* e espécies dos géneros *Listeria* e *Salmonella*. Os bacteriófagos podem proporcionar um produto natural, não tóxico, seguro e eficaz para reduzir significativamente a probabilidade da ocorrência de toxinfecções alimentares⁽²⁵⁾. Os bacteriófagos são abundantes nos alimentos e podem ser encontrados juntamente com os hospedeiros bacterianos sendo diariamente consumidos pelos seres humanos, sugerindo a sua inocuidade para os consumidores. Podem ser considerados excelentes agentes de biopreservação de alimentos uma vez que lisam as bactérias a temperaturas tão baixas como 1°C, limitando o crescimento de bactérias psicrófilas preservando os alimentos refrigerados. A utilização de bacteriófagos na segurança alimentar pode ser aplicada, em quatro etapas diferentes ao longo da cadeia alimentar (figura 37)⁽³⁷⁾. O combate aos microrganismos patogénicos em alimentos, pela aplicação de bacteriófagos, pode ser considerado em todas as fases de produção numa abordagem simples "do prado ao prato", ou seja, ao longo da cadeia alimentar. Os bacteriófagos podem ser utilizados na prevenção ou redução de doenças durante a produção animal, na desinfecção de equipamentos e superfícies de contacto, na descontaminação de carcaças e outros produtos crus, como frutas e legumes frescos e, finalmente, para prolongar a vida de prateleira de alimentos perecíveis, funcionando como conservantes naturais⁽¹⁴⁾. Vários são os registos de sucesso da aplicação de bacteriófagos no controlo microbiológico de alimentos em relação a contaminantes como *E. coli* (O157:H7), *Staphylococcus aureus* e bactérias do género *Campylobacter*, *Salmonella* e *Listeria*⁽³⁷⁾

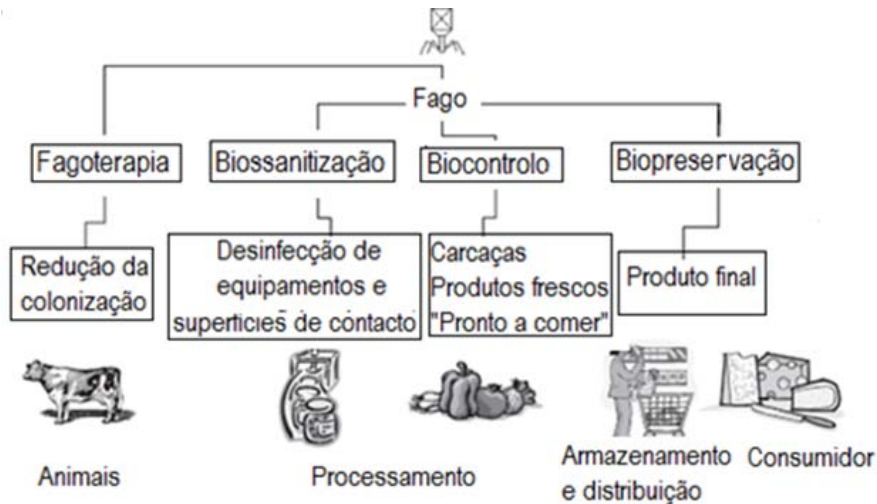


Figura 37: Aplicação de bacteriófagos ao longo da cadeia alimentar. Adaptado de⁽⁴²⁾.

A aprovação de bacteriófagos como aditivos alimentares abriu a discussão sobre a utilização de “vírus comestíveis”⁽⁴¹⁾. No Registo Federal de 18 de agosto de 2006, a FDA anunciou a aprovação, pela primeira vez, do uso de uma preparação de bacteriófagos para ser usada em alimentos “prontos a comer”, carne e produtos avícolas, como um agente antimicrobiano contra *Listeria monocytogenes*⁽⁴²⁾.

8.10.4. AMBIENTE

O lixo hospitalar infeccioso e os perigos associados têm recebido uma grande atenção na última década, principalmente os resíduos sólidos. No entanto, os resíduos líquidos libertados para o sistema de esgoto são fonte de bactérias multirresistentes no ambiente, sugerindo a necessidade de controlar a qualidade desses resíduos. Periasamy e Sundaram (2013) recolheram amostras de água residual em diferentes hospitais de Tamil Nadu na Índia, das quais foram isolados bacteriófagos específicos contra *E.coli*. e *Salmonella typhi*. A inoculação com bacteriófagos, resultou na eliminação de 100% dessas bactérias patogénicas da água após 14 horas de incubação⁽⁴³⁾. Os resultados, destacam o potencial dos bacteriófagos no tratamento de fontes ricas em bactérias, como é o caso dos hospitais.

Khairnar e colaboradores (2014) realizaram um estudo, em Nagpur (Índia), com o objetivo de encontrar uma solução que limite o desenvolvimento de espuma, provocada por espécies do género *Nocardia*, nos sistemas de tratamento de água. A espuma cobre uma grande área no tanque de arejamento prejudicando o processo de tratamento ativado de lamas, cujo objetivo é degradar a matéria orgânica pela

intervenção de bactérias aeróbias adicionadas à água. Isolaram e caracterizaram três bacteriófagos - NOC1, NOC2 e NOC3, capazes de inibir o crescimento das bactérias filamentosas produtoras da espuma⁽⁴⁴⁾, mostrando que os bacteriófagos podem ser utilizados como agentes de biocontrole em estações de tratamento de água.

Outra preocupação ambiental é a contaminação biológica da água resultante de resíduos domésticos ou de agropecuária. A água pode conter bactérias patogênicas e vírus que causam doenças, mas também contém com maior prevalência indicadores fecais inócuos, como algumas bactérias coliformes, utilizadas para avaliar a qualidade microbiológica da água para consumo. Os bacteriófagos também podem ser usados como indicadores fecais pois a sua ocorrência relaciona-se com a persistência de algumas bactérias associadas à poluição fecal e à possível ocorrência de agentes patogênicos entéricos em ambientes aquáticos. A *International Organization for Standardization* (ISO) apresenta a Norma ISO 10705 que especifica o método para a detecção e enumeração de bacteriófagos em água, indicadores de poluição por efluentes contaminados com fezes humanas ou animais⁽⁴⁵⁾.

Com o aumento da utilização de antibióticos de largo espectro e com a maior capacidade de sobrevivência dos doentes críticos, alguns agentes infecciosos, antes considerados praticamente inofensivos, tornaram-se um problema sério nos sistemas de saúde a nível mundial. A Infecção Associada aos Cuidados de Saúde (IACS) é uma infecção adquirida pelos doentes em consequência dos cuidados e procedimentos de saúde prestados⁽⁴⁶⁾. Um dos agentes infecciosos que maior sucesso demonstrou na adaptação ao ambiente hospitalar foi *Acinetobacter baumannii*. Chen et al. (2013) utilizaram o fago ϕ AB2 para demonstrar o seu potencial para a prevenção de infecção nasocomial, causada por *Acinetobacter baumannii*. Os resultados demonstraram que altas concentrações de bacteriófagos poderão ser inoculadas numa loção, à base de glicerol, para ser utilizada como um antisséptico na lavagem de mãos, podendo contribuir para a redução de infecções hospitalares que possam ser veiculadas pelos profissionais de saúde⁽⁴⁷⁾.

8.10.5. ERRADICAÇÃO DE BIOFILMES

Biofilmes são complexos agregados microbianos localizados sobre superfícies (figura 38) embebidos em substâncias poliméricas extracelulares (EPS) que aumentam a

sua tolerância a agentes antimicrobianos. A capacidade de formação de biofilme é um fator importante na sobrevivência microbiana e na sua patogenicidade. Em humanos, uma série de doenças, como a endocardite, infecções do trato urinário, otite e infecções do trato respiratório estão relacionadas com o desenvolvimento de biofilmes. Por outro lado, bactérias formadoras de biofilme podem colonizar biomateriais utilizados em dispositivos médicos como *pacemakers*, válvulas cardíacas, próteses, implantes e cateteres de diálise e respiradores⁽⁴⁸⁾.

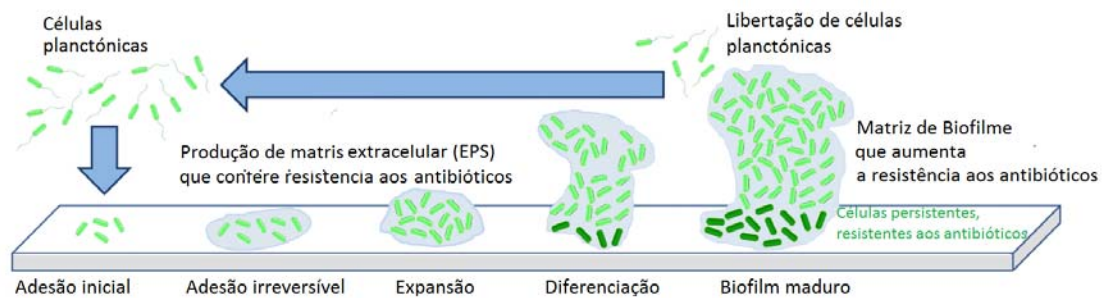


Figura 38: Ciclo de vida das bactérias em biofilme. Adaptado de ⁽⁴⁹⁾.

Um dos principais problemas dos biofilmes é a sua tolerância a terapias antibióticas, havendo uma necessidade urgente de desenvolver formas alternativas de tratamento. Durante muitos anos, foram realizados estudos para desenvolver métodos mais eficazes de prevenção e eliminação de biofilmes envolvendo a utilização de bacteriófagos⁽²⁶⁾. Os fagos produzem enzimas (Lisinas) que perturbam a estabilidade do polímero extracelular (EPS) e, posteriormente, infetam as bactérias formadoras de biofilme, bem como as planctônicas, causando a sua lise (figura 39)⁽⁴⁸⁾.



Figura 39: Estratégia de ataque dos bacteriófagos para a remoção do biofilme. Infecção inicial, amplificação rápida e expressão de depolimerases. Durante a lise, fagos e lisinas, são libertados, levando à infecção subsequente, bem como, à degradação do EPS. Adaptado de ⁽⁵⁰⁾.

Várias experiências usando bacteriófagos sobre biofilmes bacterianos foram realizadas até ao momento, observando-se a erradicação dos biofilmes ou mesmo a

prevenção da sua formação por diferentes estirpes de *E. coli*, *P. aeruginosa*, *L. monocytogenes*, *S. aureus*, *C. jejunii* entre outras⁽⁴⁸⁾. Os biofilmes podem ser também encontrados nas superfícies de equipamentos usados durante o processamento ou armazenamento de alimentos, especialmente em sítios difíceis de desinfetar. Alguns dos trabalhos *in vitro* utilizando fagos contra biofilmes, formados por bactérias patogénicas deteriorantes de alimentos, mostram que, em condições ideais, existe redução significativa de células viáveis e, assim, a sua utilização para biossanidade é promissora⁽³⁷⁾.

8.10.6. LISINAS – ALTERNATIVA AO USO DE BACTERIÓFAGOS

Como alternativa à fagoterapia "clássica", em que os fagos são integralmente utilizados, podem ser utilizadas endolisinas fágicas. Endolisinas (ou lisinas) são enzimas codificadas pelos vírus que danificam a integridade das paredes celulares das bactérias, causando a sua lise e conseqüentemente permitindo a libertação dos viriões. A microscopia revelou que as lisinas exercem os seus efeitos letais formando buracos na parede celular, através da digestão do peptidoglicano, perturbando a sua integridade resultando na extrusão do citoplasma (figura 40). A aplicação externa de lisinas apresenta-se como um potencial agente terapêutico em infeções causadas por bactérias Gram-positivas, pois nestes casos é possível o contacto direto com o peptidoglicano da parede celular. No caso das bactérias Gram-negativas, a membrana exterior impede esta interação⁽⁵¹⁾. Neste caso, tendo em conta a sua resistência às lisinas, são necessárias estratégias prévias capazes de destruir a membrana exterior para expor o peptidoglicano⁽⁵²⁾.

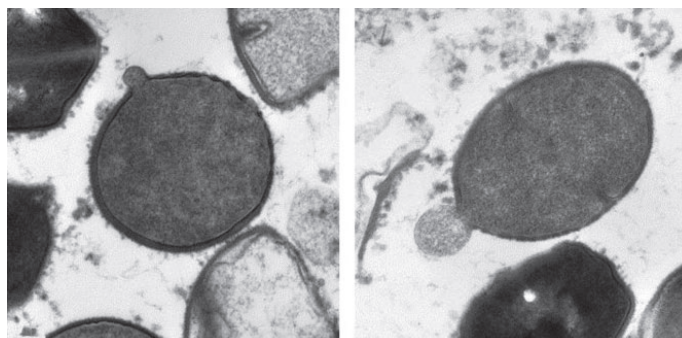


Figura 40: Aplicação exógena da lisina ClyS sobre *Staphylococcus aureus*. Fotografia obtida por microscopia eletrónica onde se observa o rompimento do peptidoglicano e a conseqüente extrusão do conteúdo celular. Adaptado de⁽⁵³⁾.

A maioria das infecções humanas começa nas membranas mucosas que constituem um reservatório de muitas bactérias patogênicas presentes no ambiente. A aplicação de lisinas pode reduzir ou eliminar esses reservatórios na comunidade, em ambientes controlados como hospitais ou lares de idosos. As lisinas apresentam especificidade, matando apenas o organismo causador da doença, com pouco ou nenhum efeito sobre a flora simbiótica. Foi também verificado o efeito sinérgico durante a combinação de certa lisinas com antibióticos, potenciando o controle de bactérias resistentes⁽⁵¹⁾. Resultados recentes suportam a ideia que as lisinas podem ser relevantes em terapias de doenças infecciosas causadas por *S. aureus*⁽⁵⁴⁾, *Streptococcus pneumoniae*⁽⁵⁵⁾ ou *Enterococcus sp.* A utilização de lisinas representa, também, uma alternativa promissora para o controle de infecções alimentares de origem bacteriana. Vários relatórios apresentam o sucesso da sua aplicação no controle de *S. aureus*, *C. perfringens*, *L. monocytogenes*, entre outros⁽⁵⁶⁾.

As lisinas são consideradas “enzibióticos”, palavra híbrida que resulta da fusão de "enzima" e "antibiótico". Técnicas de engenharia molecular podem ser usadas na sua otimização, para aplicações específicas tanto no campo da medicina, como da segurança alimentar ou agricultura⁽⁵⁷⁾.

8.10.7. BIOTERRORISMO

Bioterrorismo consiste na libertação de microrganismos altamente infecciosos e patogênicos (bactérias, vírus e fungos) ou respectivas toxinas que podem ser usados como agentes de guerra biológica. O Centro para o Controle e Prevenção de Doenças (Estados Unidos da América), organiza os agentes de bioterrorismo em três categorias. A categoria de maior prioridade (A) inclui, além da toxina botulínica, os agentes causadores da peste bubônica e pneumônica (*Yersinia pestis*) e os agentes causadores do antraz (*Bacillus anthracis*), entre outros. A categoria B é composta por várias toxinas, vírus e bactérias patogênicas, incluindo os agentes causadores da brucelose (*Brucella sp.*). Finalmente, a categoria C inclui microrganismos emergentes, como o vírus Nipah e hantavírus⁽⁵⁸⁾.

O grave problema de saúde pública relacionado com o bioterrorismo é agravado, mais uma vez pelo surgimento de estirpes multirresistentes a antibióticos. A gravidade dessas infecções bacterianas requer biovigilância e biodefesa eficientes, incluindo a

disponibilidade de um rico arsenal de métodos de detecção rápida de identificação das bactérias e terapia dessas infecções⁽⁵⁹⁾. Schuch, Nelson e Fischetti (2002), num artigo de revisão, apresentam os bacteriófagos líticos mais importantes para o controlo para *Y. pestis*, *B. anthracis* e espécies de *Brucella*. Os mesmos autores afirmam que a utilização de lisinas fágicas constitui outra alternativa, referindo um estudo onde foi identificada a primeira lisina com efeito lítico sobre *B. anthracis* e *B. cereus*. A lisina PlyG isolada do bacteriófago γ (com especificidade para *B. anthracis*) foi utilizada com sucesso em ensaios experimentais de terapia intravenosa experimental em ratos. A lisina PlyG, mata especificamente *B. anthracis*, *in vitro* e *in vivo*, tendo efeito sobre formas vegetativas e esporos (figura 41)⁽⁶⁰⁾.

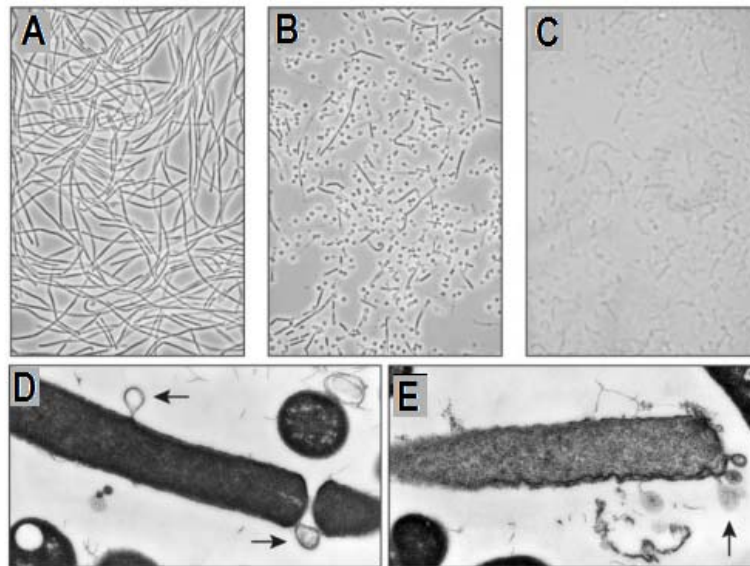


Figura 41: Efeito de PlyG em *B. cereus* (microscopia de contraste de fase). A- antes do tratamento com PlyG; B- após 1 min e C- 15 min depois do tratamento. Em D e E, estão apresentadas micrografias eletrônicas de transmissão após o tratamento com PlyG, podendo observar-se saliências e restos da membrana resultantes de zonas de degradação do peptidoglicano da parede celular. Adaptado de⁽⁶⁰⁾.

8.11. ISOLAMENTO E QUANTIFICAÇÃO DE BACTERIÓFAGOS

O isolamento e a cultura de bacteriófagos são normalmente utilizados para determinar a sua estrutura básica, as suas propriedades físicas e químicas e para compreender o seu mecanismo de replicação.

Os bacteriófagos podem ser isolados de diversas fontes naturais, como solo, água, esgoto, fezes e outros ambientes, com procedimentos simples. As amostras são passadas num filtro onde são retidas as bactérias mas não os bacteriófagos. A presença

de bacteriófagos no filtrado é depois testada após a introdução de uma pequena quantidade numa cultura fresca com um hospedeiro teste adequado. Um outro tubo de controlo é utilizado contendo apenas o hospedeiro. Ambos os tubos são posteriormente incubados em ótimas condições de crescimento. A presença de fagos é confirmada pela clarificação da turbidez inicial da cultura. O cultivo de bacteriófagos é feito nas mesmas condições que os seus hospedeiros. Alguns exigem a adição de cationes como Ca^{2+} e Mg^{2+} ou outros cofatores. Os fagos são obtidos após uma incubação adequada, após três horas em cultura líquida ou dezoito horas em meio sólido. Na cultura líquida, os bacteriófagos causam a clarificação da cultura e no meio sólido a presença é detetada pelo desenvolvimento de zonas circulares transparentes (placas de lise). O melhor processo de conservação de bacteriófagos parece ser a -70°C em azoto líquido⁽⁶¹⁾.

Para determinar o número de bacteriófagos presentes numa amostra, devem ser preparadas diluições seriadas que, posteriormente, tal como a amostra, são adicionadas a tubos contendo agar derretido. De seguida a cada tubo será adicionada uma pequena quantidade de uma cultura fresca da bactéria suscetível. O conteúdo dos tubos deve ser homogeneizado e rapidamente distribuído em placas de Petri, contendo agar solidificado (figura 42). Após um período de incubação, começa a observar-se uma camada de bactérias em crescimento, onde podem ser observadas Placas de lise (zonas claras). Essas zonas resultam da lise das bactérias provocada pela infeção viral (figura 42B). Na maioria dos casos cada placa de lise resulta da infeção de um único fago. Multiplicando o número de placas de lise contadas pelo fator de diluição, é possível calcular o número de fagos por unidade de volume de suspensão, calculando-se assim o seu “título”. A contagem é expressa em Unidades Formadoras de Placas por mililitro (UFP/ml)⁽⁶¹⁾.

A cultura em placa também permite o isolamento de estirpes. Partindo do princípio que uma placa de lise surge a partir de um único virião, todos os vírus nessa placa de lise devem ser geneticamente idênticos. Podem ser colhidos e inoculados numa cultura bacteriana fresca para estabelecer uma linha de vírus pura⁽¹⁾.

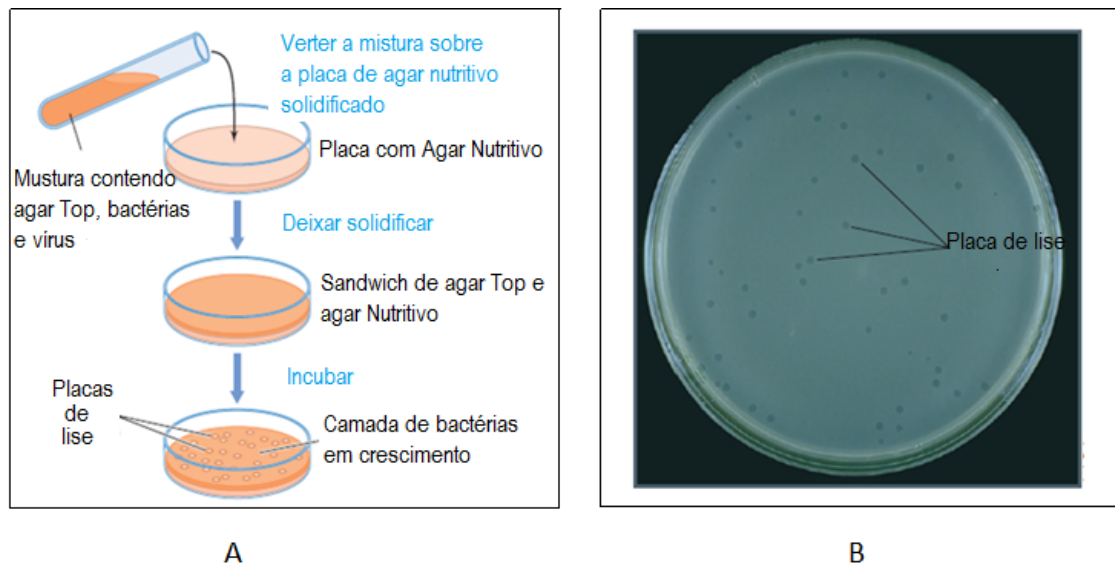


Figura 42: A- Procedimento para a cultura de bacteriófagos. B- Placas f de lise. Adaptado de⁽¹⁾.

A “Eficiência de Plaqueamento” é um conceito importante em virologia, em termos quantitativos. Em qualquer sistema viral, o parâmetro UFP é sempre menor do que a contagem de suspensão viral feita ao microscópio eletrónico. Assim, a eficiência com que partículas virais infetam células hospedeiras raramente é de 100% e pode muitas vezes ser consideravelmente menor. Os viriões que não conseguem provocar infeções estão frequentemente inativos, resultado de anomalias durante a montagem devido à produção de viriões incompletos. No entanto, por vezes, uma baixa eficiência de plaqueamento significa apenas que, sob as condições utilizadas, algumas partículas virais não infetam as células com sucesso. Conhecer a eficiência de plaqueamento é útil, pois permite estimar a concentração durante a preparação de suspensões virais, isto é, a sua titulação, para produzir um determinado número de placas de lise⁽¹⁾.

8.12. CONCLUSÃO

Os bacteriófagos constituem uma forma natural de controlar os níveis de bactérias no ambiente garantindo o equilíbrio ecológico. Os conhecimentos sobre os aspetos que envolvem o ciclo de replicação dos bacteriófagos podem ser utilizados numa perspetiva ambientalmente amigável, não tóxica e segura para lidar com bactérias patogénicas em cenários relacionados com o controlo de doenças, da qualidade alimentar, da produção agropecuária, do ambiente e mesmo no controlo do bioterrorismo.

A utilização de bacteriófagos como agentes de biocontrolo oferece várias vantagens: apresentam alta especificidade para o seu hospedeiro, determinada por recetores específicos da parede celular bacteriana, deixando intacta a restante microbiota, uma propriedade que os favorece relativamente a outros agentes antimicrobianos; multiplicam-se no local da infeção, enquanto o hospedeiro ainda está presente, exigindo dosagens pequenas; apresentam capacidade de se adaptarem continuamente aos mecanismos de defesa das bactérias; não apresentam efeitos tóxicos; podem geralmente suportar tensões físico-químicas durante o manuseamento, apresentando vida útil prolongada e são relativamente fáceis de isolar e conservar.

O *Centre de Référence pour Virus Bactériens Félix d'Hérelle de l'Université Laval* e o *G. Eliava Institute of Bacteriophages, Microbiology and Virology* são centros de referência que disponibilizam informação sobre bacteriófagos e a sua aplicação no tratamento de infeções bacterianas. Na europa de leste, os produtos à base de bacteriófagos são disponibilizados há décadas, enquanto no mercado ocidental, o seu potencial, interrompido pelo *boom* dos antibióticos, está a reaparecer. Atualmente estão disponíveis produtos à base de bacteriófagos aprovados pela FDA, utilizados no controlo de *Listeria monocytogenes*.

O interesse relacionado com a aplicação de bacteriófagos no biocontrolo está amplamente difundido na comunidade científica, revelado pelas diversas origens dos estudos apresentados. No entanto, ao nível do ensino secundário, a relação fago/bactéria é referida apenas no programa de Biologia/Geologia do 11º ano ao longo da Unidade 5 (Processos responsáveis pela unidade e variabilidade celular), onde é discutida a possibilidade dos processos de diferenciação celular poderem ser afetados por infeções virais. Tendo em conta o potencial desta relação na resolução de problemas do quotidiano, penso que o tema deverá ser abordado numa perspetiva mais abrangente, na disciplina de Biologia/Geologia no 10º e 11º ano e na Disciplina de Biologia do 12º ano. Relativamente ao 10º ano, o tema poderá ser articulado com o Módulo inicial (Diversidade na Biosfera), sugerindo-se uma abordagem genérica à existência dos vírus nos ambientes naturais e concretamente ao papel dos bacteriófagos no controlo das populações bacterianas e o seu impacto no equilíbrio dos ecossistemas. No 11º ano, ao longo da Unidade 6 (Reprodução), articulando com mecanismos de reprodução bacteriana (Bipartição), sugerindo-se a referencia à sua relação com bacteriófagos,

apresentando os ciclos replicativos, lítico e lisogénico, enfatizando as consequências desta relação na diversidade bacteriana, complementando a referência abordada atualmente na unidade 5. Ao nível do 12º ano, o tema poderá ser incluído em diferentes unidades enfatizando o potencial dos bacteriófagos no biocontrolo, nomeadamente ao longo da unidade 3 (Imunidade e Controlo de Doenças) e Unidade 4 (Produção de Alimentos e Sustentabilidade). O tema pode mesmo ser introduzido já ao nível do programa de Ciências Naturais no 8º ano de escolaridade, em articulação com a unidade “Dinâmica dos ecossistemas”, enfatizando a importância da predação dos bacteriófagos sobre a dinâmica populacional bacteriana.

Saliento a importância das atividades laboratoriais no sentido de permitir aos alunos uma visão mais real dos processos de investigação e do seu contributo para a resolução de problemas, tendo em conta que o tema aqui explorado é passível de implementação laboratorial em escolas que disponham de um conjunto mínimo de recursos para trabalhar na área da microbiologia.

9. BIBLIOGRAFIA

- 1 Madigan, M. T., Martinko, J. M., Stahl, D. A. & Clark, D. P. (2012). *Brock Biology of Microorganisms*, 13^a ed. San Francisco: Editora Pearson Education.
- 2 Orlova, E. V. (2012). *Bacteriophages and Their Structural Organization*, *Bacteriophages* 1, 3-30. Consultado em 26/01/2015, disponível em <http://www.intechopen.com/books/bacteriophages/bacteriophages-and-their-structural-organisation>.
- 3 Brüssow, H. (2009). The not so universal tree of life or the place of viruses in the living world. *Philosophical Transactions of the royal society B* 364, 2263-2274. Doi:10.1098/rstb.2009.0036.
- 4 Clokie, M., Millard, A., Letarov, A., Heaphy, S. (2011). Phages in nature. *Bacteriophage*. *Landes Bioscience* 1(1), 31-45.
- 5 International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV). Acedido em 25/10/2014. Disponível em <http://ictvonline.org/virusTaxonomy.asp>.
- 6 Ackermann, H.W. (2011). Bacteriophage taxonomy. *Microbiology Australia Journal*, 90-92
- 7 Tobočka, M. & Szybalski, W. (2012). *Advances in Virus Research Bacteriophages* 5, 15-19.
- 8 Leiman, P.G. et al. (2010). Morphogenesis of the T4 tail and tail fibers. *Virology Journal* 7: 355.
- 9 Miller, E.S. et al. (2003). Bacteriophage T4 Genome. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 67:1, 86-156. DOI: 10.1128/MMBR.
- 10 Leiman, P.G. et al. (2000). Structure of Bacteriophage T4 Gene Product 11, the Interface Between the Baseplate and Short Tail Fibers. *J. Mol. Biol.* 301: 975-985. Doi:10.1006/jmbi.2000.3989.
- 11 Fokine, A. & Rossman, M.G. (2014). Molecular architecture of tailed double-stranded DNA phages. *Bacteriophage* 4. E28281.
- 12 Fortier, L. & Sekulovic, O. (2013). Importance of prophages to evolution and virulence of bacterial pathogens. *Landes Bioscience* 4:5, 354–365.
- 13 Rakhuba, D.V., Kolomiets, E.I., Szwajcer Dey, E. & Novik, G.I. (2010). Bacteriophage Receptors, Mechanisms of Phage Adsorption and Penetration into Host Cell. *Polish Journal of Microbiology* 59:3, 145-155.
- 14 Chatterjee, S.N. & Chaudhuri, C. (2012). Outer Membrane Vesicles of Bacteria. *Gram-Negative Bacteria: the cell Membranes. SpringerBriefs in Microbiology*

2. Doi: 10.1007/978-3-642-30526-9_2.
- 15 Chaturongakul, S. & Ounjai, P. (2014). Phage-host interplay: examples from tailed phages and Gram-negative bacterial pathogens. *Frontiers in Microbiology* 5, art.442.
 - 16 Leiman, P.G.; Kanamaru, S., Mesyanzhinov, V.V., Arisaka, F. & Rossmann, M.G. (2003). Structure and morphogenesis of bacteriophage T4. *Cellular and Molecular Life Sciences* 60, 2356-2370. Doi: 10.1007/s00018-003-3072-1.
 - 17 Chapot-Chartier, M.P. (2014). Interactions of the cell-wall glycopolymers of lactic acid bacteria with their bacteriophages. *Frontiers in Microbiology*. Doi: 10.3389.
 - 18 Choi, Y. Shin, H. Lee, J. & Ryu, S. (2013). Identification and Characterization of a Novel Flagellum-Dependent Salmonella-Infecting Bacteriophage, iEPS5. *Microbiology* 79:16, 4829-4837.
 - 19 Samson, J.E., Magadán, A.H., Sabri, M. & Moineau, S. (2013). Revenge of the phages: defeating bacterial defences. *Microbiology* 11, 675-687.
 - 20 Dy, R.L., Richter, C., Salmond, G.P.C. & Fineran, P.C. (2014). Remarkable Mechanisms in Microbes to Resist Phage Infections. *Annual Review of Virology* 1, 307-331.
 - 21 Potera, C. (2013). Phage Renaissance, new hope against antibiotic resistance. *Environmental Health Perspectives*. Focus 121, nº 2, A49-A53.
 - 22 Haq, I. et al (2012). *Bacteriophages and their implications on future biotechnology: a review*. *Virology Journal*, 9:9. Consultado em 21/01/2015, disponível em <http://www.virologyj.com/content/9/1/9>
 - 23 Murphy, F. A. (2014). *The Foundations of Virology, Discoverers and Discoveries, Inventors and Inventions, Developers and Technologies*. USA: Infinity Publishing.
 - 24 Escobar-Páramo, P., Barbera, C. & Hochberg, M. (2012). Evolutionary dynamics of separate and combined exposure of *Pseudomonas fluorescens* SBW25 to antibiotics and bacteriophage. *Institut des Sciences de l'Evolution, UMR5554* 5, 583-592.
 - 25 Chhibber, S. & Kumari, S. (2012). *Application of Therapeutic Phages in Medicine*. Bacteriophages, Dr. Ipek Kurtboke (Ed.), ISBN: 978-953-51-0272-4, InTech. Consultado em 17/01/2015, disponível em <http://www.intechopen.com/books/bacteriophages/therapeutic-bacteriophages>
 - 26 McCallin, S. et al. (2013). Safety analysis of a Russian phage cocktail: From MetaGenomic analysis to oral application in healthy human subjects. *Virology* 443, 187-196.
 - 27 Marinelli, L.J. et al. (2012). Propionibacterium acnes Bacteriophages Display Limited Genetic Diversity and Broad Killing Activity against Bacterial Skin

Isolates. *mBio* 3:5, e00279-12.

- 28 Fitz-Gibbon, S. et al. (2013). Propionibacterium acnes Strain Populations in the Human Skin Microbiome Associated with Acne. *Journal of Investigative Dermatology* 133, 2152-2160, doi:10.1038/jid.2013.21.
- 29 Pride, D. T. et al. (2012). Evidence of a robust resident bacteriophage population revealed through analysis of the human salivary virome. *The ISME Journal* 6, 915-926.
- 30 Loesche, W. (1986). Role of Streptococcus mutans in Human Dental Decay. *American Society for Microbiology* 50:4, 353-380.
- 31 Shibata, Y., Yamashita, Y. & Van der Ploeg, J.R. (2009). The serotype-specific glucose side chain of rhamnose-glucose polysaccharides is essential for adsorption of bacteriophage M102 to Streptococcus mutans. *FEMS Microbiol Lett* 294, 68-73.
- 32 Delisle, A. L. et al. (2012). Biology and Genome Sequence of Streptococcus mutans Phage M102AD. *Applied and Environmental Microbiology* 78:7, 2264-2271.
- 33 Tan, G.H. & Tony, P.S.H. (2014). Disease control of Ralstonia solanacearum in tomato and Xanthomonas campestris in pitaya using bacteriophage. *Direct Research Journal of Agriculture and Food Science* 2 (10), 147-155.
- 34 Fujiwara, A., Fujisawa, M., Hamasaki, R., Kawasaki, T., Fujie, M. & Yamada, T. (2011). Biocontrol of Ralstonia solanacearum by Treatment with Lytic Bacteriophages. *Applied and environmental microbiology* 77, n° 12, 4155-4162.
- 35 Adriaenssens, E. M., Van Vaerenbergh, J., Vandenhoevel, D.; Dunon, V., Ceysens, P. J. et al. (2012). T4-Related Bacteriophage LIMESTONE Isolates for the Control of Soft Rot on Potato Caused by 'Dickeya solani'. *PLoS ONE* 7:3, e33227.
- 36 Ali Ahmad, A., Askora, A., Kawasaki, T., Fujie, M. & Yamada, T. (2014). The filamentous phage XacF1 causes loss of virulence in Xanthomonas axonopodis pv. citri, the causative agent of citrus canker disease. *Frontiers in Microbiology* 5, article 321.
- 37 Sillankorva, S. M., Oliveira, H. & Azeredo, J. (2012). Bacteriophages and Their Role in Food Safety. *International Journal of Microbiology*. Doi:10.1155/2012/863945.
- 38 Fischer, S., Kittler S., Klein G., Glünder, G. (2013). Impact of a Single Phage and a Phage Cocktail Application in Broilers on Reduction of Campylobacter jejuni and Development of Resistance. *PLoS ONE* 8:10 e78543.
- 39 Shukla, S., Hirpurkar, S. & Singh, S. (2014). Therapeutic Efficacy of Phage Lysate in Chronic Mastitis of Farm Animals. *Pharma Science Monitor* 5:3, 71-74.

- 40 Ramos, M. (2014). *Typing bacterial fish pathogens isolated in Portugal and evaluation of the efficacy of bacteriophages against these pathogens*. Tese de Doutoramento. Faculdade de Ciências da Universidade do Porto: Porto.
- 41 García, P., Martínez, B., Obeso, J.M. & Rodríguez, A. (2008). Bacteriophages and their application in food safety. *The Society for Applied Microbiology, Letters in Applied Microbiology* 47, 479-485
- 42 Smith, D. R. (2006). Food Additives Permitted for Direct Addition to Food for Human Consumption; Bacteriophage Preparation. Department of Health and Human Services. *Federal Register* 71:160.
- 43 Periasamy, D. & Sundaram, A. (2013). A novel approach for pathogen reduction in wastewater treatment. *Journal of Environmental Health Science and Engineering* 11:12.
- 44 Khairnar, K., Pal, P., Chandekar, R. & Paunekar, W. N. (2014). Isolation and Characterization of Bacteriophages Infecting Nocardioforms in Wastewater Treatment Plant. *Hindawi Publishing Corporation*, article ID 151952.
- 45 International Organization for Standardization (ISO). Switzerland. Acedido em 28/11/2014. Disponível em http://www.iso.org/iso/catalogue_detail.htm?csnumber=18794.
- 46 Direção Geral da Saúde & Ministério da Saúde (2007). *Programa Nacional de Prevenção e Controlo da Infeção Associada aos Cuidados de Saúde*. Lisboa: DGS.
- 47 Chen et al. (2013). Potencial of bacteriophage Φ AB2 as an environmental biocontrol agent for the control of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *BMC Microbiology* 13:154.
- 48 Parasion, S., kwiatek, M., Gryko, R., Mizak, L. & Malm, A. (2014). Bacteriophages as an Alternative Strategy for Fighting Biofilm Development. *Polish Journal of Microbiology* 63, nº 2, 137–145.
- 49 Harper, D. R., et al (2014). Bacteriophages and Biofilms. *Antibiotics* 3, 270-284. Doi: 10.3390/antibiotics3030270.
- 50 Lu, T. K. & Collins, J. J. (2007). Dispersing biofilms with engineered enzymatic bacteriophage. *The National Academy of Sciences of the USA* 104, nº 27.
- 51 Fischetti, V. A. (2010). Bacteriophage endolysins: A novel anti-infective to control Gram-positive pathogens. *International Journal of Medical Microbiology* 300, 357-362.
- 52 Oliveira, H., Azeredo, J., Lavigne, R. & Kluskens, L. D. (2012). Bacteriophage endolysins as a response to emerging foodborne pathogens. *Trends in Food Science & Technology* 28, 103-115.

- 53 Pastagia, M., Schuch, R., Fischetti, V. A. & Huang, D. B.(2013). Lysins: the arrival of pathogen-directed anti-infectives. *Journal of Medical Microbiology* 62, 1506–1516. Doi: 10.1099/jmm.0.061028-0.
- 54 Rashel, M. et al. (2007). Efficient Elimination of Multidrug-Resistant *Staphylococcus aureus* by Cloned Lysin Derived from Bacteriophage Φ MR11. *The Journal of Infectious Diseases* 196, 1237– 47.
- 55 Grandgirard, D., Loeffler, J. M., Fischetti, V. A. & Leib, S. L. (2008). Phage Lytic Enzyme Cpl-1 for Antibacterial Therapy in Experimental Pneumococcal Meningitis. *The Journal of Infectious Diseases* 197, 1519 –22.
- 56 Proença, D. (2009). *Estudo da atividade de lisinas codificadas por bacteriófagos que infetam Enterococcus sp.*Dissertação apresentada para a obtenção do Grau de Mestre em Genética Molecular e Biomedicina, pela Universidade Nova de Lisboa, Faculdade de Ciências e Tecnologia: Lisboa.
- 57 Ahluwalia, A. K. & Sekhon, B. S. (2012). Enzybiotics: A promising approach to fight infectious diseases and an upcoming need for future. *J Pharm Educ Res*, vol 3, 2.
- 58 Center for Disease Control and Prevention. Atlanta, USA. Acedido em dezembro de 2014. Disponível em <http://emergency.cdc.gov/agent/agentlist-category.asp>
- 59 Filippov, A., Sergueev, K. & Nikolich, M. (2013). Bacteriophages against Biothreat Bacteria: Diagnostic, Environmental and Therapeutic Applications, *Bioterrorism Biodefense*. Consultado em 28/12/2014, disponível em <http://dx.doi.org/10.4172/2157-2526.S3-010>
- 60 Schuch, R., Nelson, D. & Fischetti, V. (2002). A bacteriolytic agent that detects and Kills *Bacillus anthracis*. *Nature* 418.
- 61 Sumbali, G., Mehrotra R.S. (2009). *Principals of Microbiologiy*. 1ª edição. New Delhi: McGraw Hill, 281-282

10. ANEXOS

Anexo 1- Certificado de habilitações.

Anexo 2- Certificado de participação na “Excursão Geológica à Serra do Marão”.

Anexo 3- Certificado de presença na conferência “A formação de jazigos de petróleo e a sua pesquisa. O caso português”.

Anexo 4- Certificado de frequência na ação de formação “Fundamento da Microbiologia”.

Anexo 5- Certificado de frequência na ação de formação “A biologia dos microrganismos e o seu impacto na vida e nos ecossistemas- uma perspetiva aplicada II”.

Anexo 6- Certificado de frequência na ação de formação “Geoforum: métodos de estudo de rochas ígneas e sua aplicação ao ensino”.

Anexo 7- Certificado de frequência na ação de formação “Genética e biologia moléculas”.

Anexo 8- Certificado de frequência na ação de formação “Pelos trilhos da natureza – uma nova abordagem em educação ambiental”.

Anexo 9- Certificado de frequência na ação de formação “Práticas de biologia celular na sala de aula – os cromossomas, a célula e o seu estudo”.

Anexo 10- Certificado de frequência na ação de formação “Imunidade e controlo de doenças”.

Anexo 11- Certificado de frequência na ação de formação “Os micróbios tão perto de nós”.

Anexo 12- Certificado de frequência na ação de formação “Fundamentos básicos de biologia molecular”.

Anexo 13- Certificado de participação na “XXXV jornadas portuguesas de génética”.

Anexo 14- Certificado de frequência na ação de formação “Microbiologia Alimentar”.

Anexo 15- Certificado de Formador da ação de formação “Boas práticas de segurança alimentar/HACCP e higienização”.

Anexo 16- Certificado de frequência na ação de formação “Atuação do diretor de turma na educação para a sexualidade – um projeto de escola”.

Anexo 17- Certificado de frequência na ação de formação “PRESSE- Programa Regional de Educação Sexual em Saúde Escolar”.

Anexo 18- Registo de Formador.

Anexo 19- Certificado de Formador da ação de formação “Atuação docente na educação para a sexualidade na aplicação do programa PRESSE nos 2º e 3º ciclos”.

Anexo 20- Certificado de Formador da ação de formação “Atuação docente na educação para a sexualidade na aplicação do programa PRESSE nos 2º e 3º ciclos”.

Anexo 21- Certificado de Formador da ação de formação Atuação docente na educação para a sexualidade na aplicação do programa PRESSE nos 2º e 3º ciclos”.

Anexo 22- Certificado de frequência na ação de formação “A informática no ensino”.

Anexo 23- Certificado de participação na formação “O computador e os sensores no ensino das ciências – sistema de aquisição e tratamento de dados por computador”.

Anexo 24- Certificado de frequência na ação de formação “Competências digitais (Nível 1)”.

Anexo 25- Certificado de participação no projeto “Oceanos, biodiversidade e saúde humana”.

Anexo 26- Certificado de participação na 9ª edição do concurso de ideias do prémio da Fundação Ilídio Pinho “Ciencia na Escola”.

Anexo 1- Certificado de habilitações



Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro
Apartado 202 5001 Vila Real Codex

Certificado

LUCINDA BERTA DE CAMPOS MACHADO RODRIGUES, Directora dos Serviços Académicos da Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro: De harmonia com o despacho exarado em requerimento que fica arquivado nesta Secretaria, certifico que MARIA JOSE FERREIRA DE SÁ.

Em.º da cert. 1500100
Imp. de selo 50100
Urgência 3
Total 1550100

natural de Vila Nova de Famalicão - Braga.
filho de José de Sá.
e de Joaquina dos Santos Ferreira.
no dia três , do mês de Julho
do ano de mil novecentos e noventa e sete
concluiu a LICENCIATURA EM BIOLOGIA E GEOLOGIA (ensino de)

Conferido:
Antónia

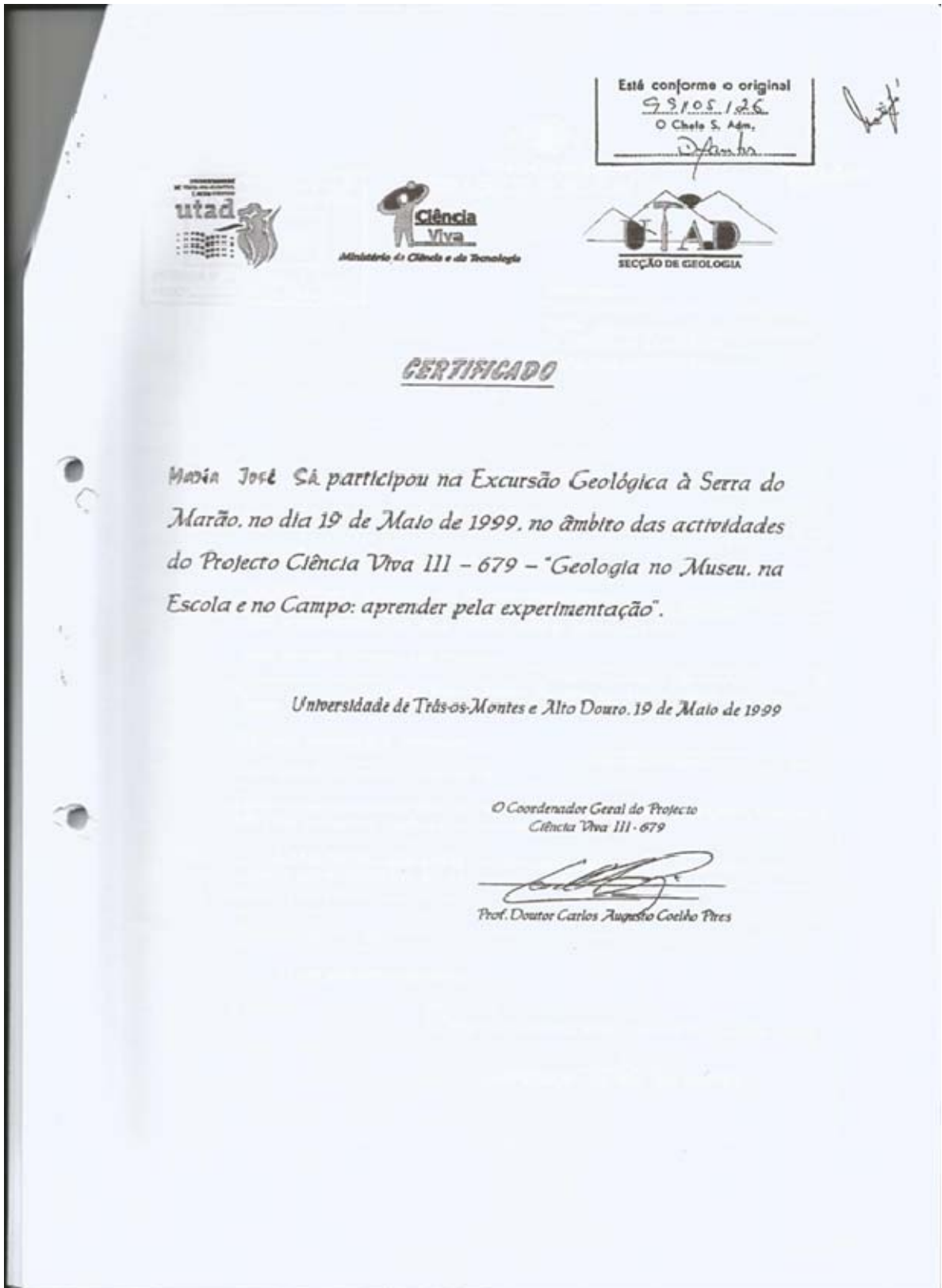
com a informação final de 15 (quinze) valores.

Esta certidão vai autenticada com o selo branco /carimbo a óleo em uso nesta Universidade.

Serviços Académicos da UTAD, 3 de Julho de 199 7

A Directora de Serviços,
Maria Adelaide Moura

Anexo 2- Certificado de participação na “Excursão Geológica à Serra do Marão”.



Anexo 3- Certificado de presença na conferência “A formação de jazigos de petróleo e a sua pesquisa. O caso português”.



GeoFórum 1999/2000
Departamento de Ciências da Terra
Universidade do Minho

Certificado

Daniela José Faria de Sá esteve presente na conferência intitulada "A formação de jazigos de petróleo e a sua pesquisa. O caso português" proferida pelo Dr. João Pacheco do Instituto Geológico e Mineiro. Esta iniciativa foi organizada pelo Departamento de Ciências da Terra da Universidade do Minho no dia 15 de Novembro de 1999 pelas 15 horas e integra-se no ciclo *GeoFórum 1999/2000*.

Braga, 15 de Novembro de 1999

P^{la} Organização
UNIVERSIDADE DO MINHO
CIÊNCIAS DA TERRA
BRAGA - PORTUGAL

Anexo 4- Certificado de frequência na ação de formação “Fundamento da Microbiologia”.

MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO



CENTRO DE FORMAÇÃO
JÚLIO BRANDÃO

CERTIFICADO

Certifica-se que *Maria José Ferreira de Sá*, nascida em 21/01/74, Professora do 3º Ciclo, do Quadro de Nomeação Definitiva, a trabalhar na E. B. 2, 3 Dr. Nuno Simões – Calendário, frequentou com aproveitamento a Ação de Formação “Fundamentos da Microbiologia”, com 25 horas, na modalidade de Curso, com o registo de acreditação NºCCPFC/ACC-142.01/99, orientada pelas Formadoras *Maria Clara Costa Ferreira* e *Maria Manuel da Silva Azeredo*, de 12/09/00 a 02/10/00, e que nos termos do Regime Jurídico da Formação Contínua lhe confere a atribuição de uma unidade de crédito.



Vila Nova de Famalicão, 28 de Novembro de 2000



A Directora do Centro de Formação
Jeni Rui Fânzeres de Castro Bacelar
(Jeni Rui Fânzeres de Castro Bacelar)



Financiado pelo Fundo Social Europeu - 2000-2006

Anexo 5- Certificado da ação de formação “A biologia dos microrganismos e o seu impacto na vida e nos ecossistemas- uma perspetiva aplicada II”.

MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO



CENTRO DE FORMAÇÃO
JÚLIO BRANDÃO

CERTIFICADO

Certifica-se que Maria José Ferreira de Sá, nascida em 21/01/1974, Professora do Quadro de Nomeação Definitiva, frequentou com aproveitamento a Acção de Formação “A BIOLOGIA DOS MICRORGANISMOS E O SEU IMPACTO NA VIDA E NOS ECOSISTEMAS – UMA PERSPECTIVA APLICADA II”, com 25 horas, na modalidade de Curso, com o registo de acreditação N^oCCRF/ACC-10863/98, orientada pelas Formadoras Célia Maria Mania Rodrigues, Paula Cristina Maia Teixeira e Paula Maria Lima e Castro, de 04/07/00 a 12/07/00, e que nos termos do Regime Jurídico da Formação Continua lhe confere a atribuição de uma unidade de crédito.



Vila Nova de Famalicão, 26 de Setembro de 2000

A Directora do Centro de Formação



Jeni Rui Fânzeres de Castro Bacelar
(Jeni Rui Fânzeres de Castro Bacelar)



Anexo 6- Certificado de frequência na ação de formação “Geoforum: métodos de estudo de rochas ígneas e sua aplicação ao ensino”.



CERTIFICADO

Para os devidos efeitos se certifica que Maria José Ferreira de Sá, portadora do Bilhete de Identidade nº 10886093, frequentou com aproveitamento a Ação de Formação:

GEOFÓRUM: MÉTODOS DE ESTUDO DE ROCHAS ÍGNEAS E SUA APLICAÇÃO AO ENSINO.

Registo de acreditação: CCPFC/ACC - 20470/00 de 16 de Outubro

Modalidade: Curso de Formação

Número de Horas: 40

Número de Créditos: 1,6

Início a 29 de Janeiro de 2001 e Fim a 21 de Maio de 2001

Formadores: Diamantino Manuel Insua Pereira
José Bernardo Rodrigues Brilha
Pedro Manuel de Matos Pimenta Simões

Mais se certifica que, para os efeitos previstos no Artº 5º do Regime Jurídico de Formação Contínua de Professores, a presente Ação releva para efeitos de progressão na carreira de Professores do 4º Grupo do 2º Ciclo do Ensino Básico e do 11ºB dos Ensinos Básico e Secundário.



Braga, 20 de Julho de 2001

A Vice-Reitora

Handwritten signature of Cecília Leão in black ink.

Cecília Leão

Anexo 7- Certificado de frequência na ação de formação “Genética e biologia molecular”.


 **Centro de Formação Contínua de Professores da
Ordem dos Biólogos** 


Certificado

Ordem dos biólogos

Certifica-se que **Maria José Ferreira de Sá** frequentou, com aproveitamento, a Acção de Formação “**Genética e Biologia Molecular**”, com o registo de acreditação **CCPFC/ACC – 32557/03**, que teve a duração de **25 horas** e que decorreu de **29 de Junho a 04 de Julho de 2006**, no Departamento de Biologia da Universidade do Minho, em Braga. Esta Acção, financiada pelo Fundo Social Europeu e pelo Estado Português, foi orientada pelas formadoras **Margarida Paula P. Amorim Casal, Dorit Elisabeth Schuller e Sandra Cristina Almeida Palva** e atribui **1.0 (um) crédito** para efeitos de progressão na Carreira Docente, nos termos do Art.º 14º do Regime Jurídico da Formação Contínua de Professores. Mais se certifica que, para os efeitos previstos no artigo 5º, do Regime Jurídico da Formação Contínua de Professores, a presente acção releva para efeitos de progressão na carreira de Professores do 1ºB do EB (3º Ciclo) e Secundário.

Porto, 04 de Julho de 2006




A Directora do Centro de Formação da Ordem dos Biólogos

Ordem dos biólogos


Mónica Cristina Vasconcelos de Maia Mendes

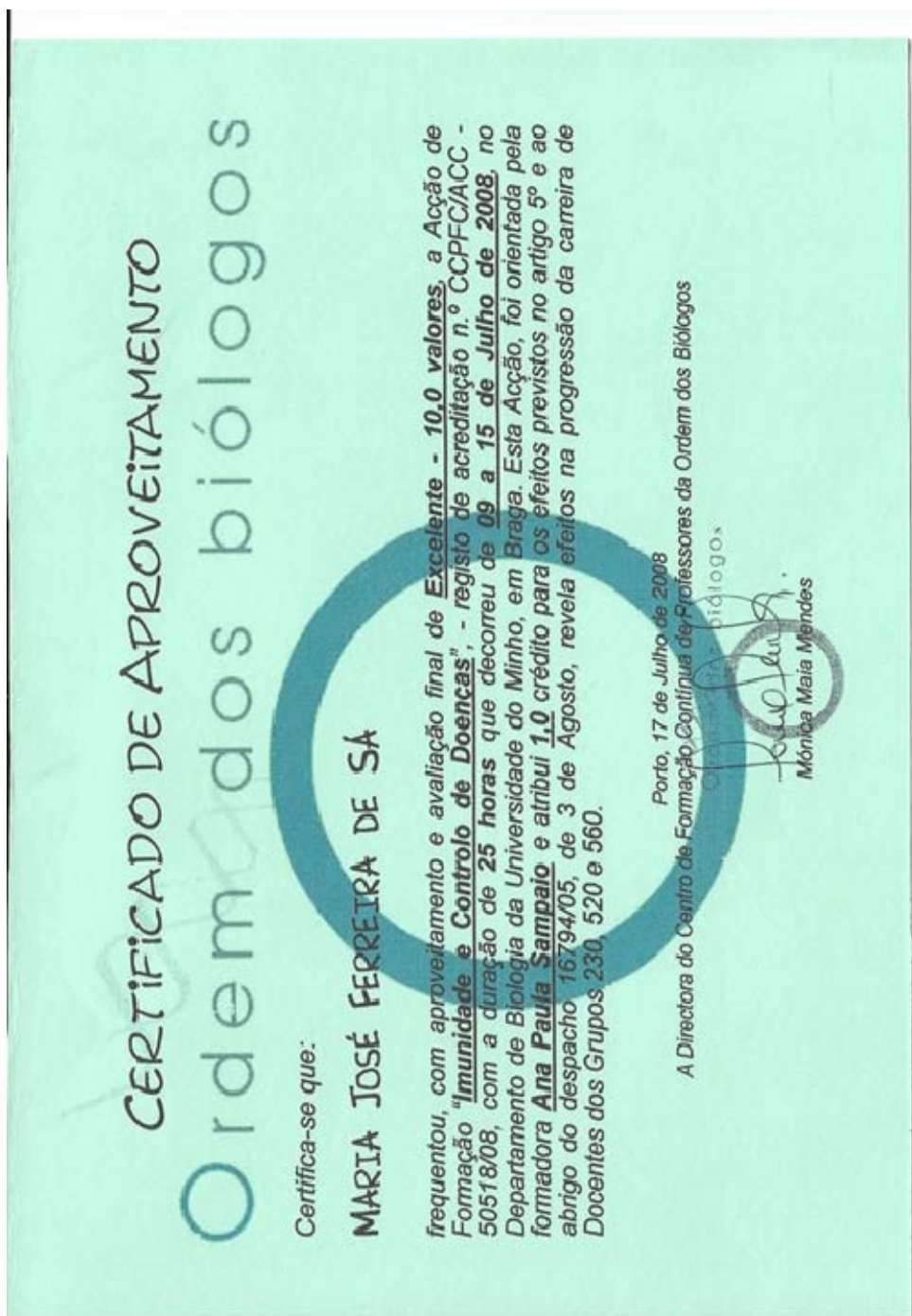
Anexo 8- Certificado de frequência na ação de formação “Pelos trilhos da natureza – uma nova abordagem em educação ambiental”.



Anexo 9- Certificado da ação de formação “Práticas de biologia celular na sala de aula – os cromossomas, a célula e o seu estudo”.

	<p>Centro de Formação Contínua de Professores da Ordem dos Biólogos</p>	
<h1>Certificado Ordem dos biólogos</h1>		
<p>Certifica-se que <u>Maria José Ferreira de Sá</u> frequentou, com aproveitamento, a Acção de Formação “<u>Práticas de Biologia Celular na Sala de Aula – os cromossomas, a célula e o seu estudo</u>”, com o registo de acreditação <u>CCPFC/ACC – 36000/04</u>, que teve a duração de <u>25 horas</u> e que decorreu de <u>23 de Novembro a 22 de Dezembro de 2006</u>, na Escola Superior Agrária de Ponte de Lima, em Ponte de Lima. Esta Acção, financiada pelo Fundo Social Europeu e pelo Estado Português, foi orientada pelos formadores <u>Álvoro Inácio Queiroz e Alexandre Nuno Brito</u> e atribuído <u>1,0 (um) crédito</u> para efeitos de Progressão na Carreira Docente dos Professores do <u>4º grupo do 2º Ciclo do Ensino Básico e do grupo 11ºB dos Ensinos Básico (3º Ciclo) e Secundário nos termos do Art.º 5º do Regime Jurídico da Formação Contínua de Professores.</u></p>		
<p>Porto, 18 de Janeiro de 2007</p>		
<p>A Directora do Centro de Formação da Ordem dos Biólogos</p>		
		
<p>Mónica Cristina Vasconcelos de Maia Mendes</p>		

Anexo 10- Certificado de frequência na ação de formação “Imunidade e controlo de doenças”.



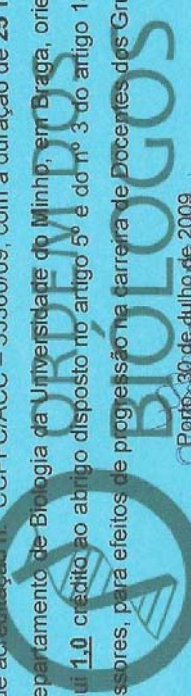
Anexo 11- Certificado de frequência na ação de formação “Os micróbios tão perto de nós”.

CERTIFICADO DE APROVEITAMENTO


Certifica-se que:

MARIA JOSÉ FERREIRA DE SÁ

frequentou, com aproveitamento e avaliação final de Excelente - 9,6 valores, a Acção de Formação “Os Micróbios tão perto de Nós”, - registo de acreditação n.º CCPFC/ACC – 55360/09, com a duração de **25 horas** que decorreu de **20 a 23 de Julho de 2009**, no Departamento de Biologia da Universidade do Minho, em Braga, orientada pela formadora **Cristina Aguiar**. Esta Acção, atribui **1,0** crédito, ao abrigo disposto no artigo 5º e do n.º 3 do artigo 14º, do Regime Jurídico da Formação Contínua de Professores, para efeitos de progressão na carreira de **Docentes dos Grupos 230, 520 e 560**.


Porto, 30 de Julho de 2009

A Directora do Centro de Formação Contínua de Professores da Ordem dos Biólogos


Mónica Maia Mendes

Anexo 12- Certificado de frequência na ação de formação “Fundamentos básicos de biologia molecular”.

CERTIFICADO DE APROVEITAMENTO

Certifica-se que:

MARIA JOSÉ FERREIRA DE SÁ

frequentou, com aproveitamento e avaliação final de Excelente - 9,8 valores, a Ação de Formação “Fundamentos Básicos de Biologia Molecular”, registada de acreditação n.º CC/PFC/ACC – 61654/10, com a duração de **25 horas** que decorreu de **08 a 30 de Janeiro de 2010**, no Laboratório de Microbiologia da Faculdade de Medicina da Universidade do Porto, orientada pelas formadoras **Isabel Miranda, M.ª Manuel Azevedo e Rita Rocha**. Esta Ação, atribui **1,0** crédito ao abrigo disposto no artigo 5º e do n.º 3 do artigo 14º, do Regime Jurídico da Formação Contínua de Professores, para efeitos de progressão na carreira de Docentes dos Grupos 230, 520 e 560.

BIÓLOGOS

Porto, 10 de Maio de 2010

A Directora do Centro de Formação Contínua de Professores da Ordem dos Biólogos


Mónica Maia Mendes

Anexo 13- Certificado de participação na “XXXV jornadas portuguesas de genética”.



Anexo 14- Certificado de frequência na ação de formação “Microbiologia Alimentar”.

Certificado

Certifica-se que **MARIA JOSÉ FERREIRA DE SÁ**, Professora, portadora do Bilhete de Identidade nº **10886093** participou na acção de formação, na modalidade de Curso de Formação – **FORMAÇÃO EM MICROBIOLOGIA ALIMENTAR** *acreditada pelo Conselho Científico - Pedagógico de Formação Contínua sob o registo CCPFC/ACC - 66411/11, com a duração total de **25 horas**, que decorreu na Escola Secundária Camilo Castelo Branco - V.N. Famalicão, entre os dias oito e vinte e cinco de Julho de dois mil e onze. A acção foi orientada por **André Emanuel Moreira do Rosário, Isabel Marcos Miranda e Rita Rocha**.

Mais se certifica, nos termos dos regulamentos em vigor, que a formanda foi creditada com **uma unidade de crédito**, e obteve a classificação de **9,3 (nove, três)** correspondendo a **Excelente**, para progressão na carreira de professor.

Para os efeitos previstos no artigo 5º do Regime Jurídico da Formação Contínua de Professores, a presente acção releva para efeitos de progressão em carreira de Professores dos grupos 230,510 e 520.

Vila Nova Famalicão, 20 de Setembro de 2011
A Directora do Centro

Cândida Madureira

"Mais importante do que saber, é nunca perder a capacidade de aprender." Moscar Gardini


Sede: Escola Secundária Camilo Castelo Branco
Rua Padre Benjamin Salgado, 4780-412 V. N. Famalicão

Anexo 15- Certificado de Formador da ação de formação “Boas práticas de segurança alimentar/HACCP e higienização”.

Certificado

Certifica-se que **MARIA JOSÉ FERREIRA DE SÁ**, portadora do Bilhete de Identidade nº **10886093**, orientou como formadora a ação de formação na modalidade de Curso de Formação - **BOAS PRÁTICAS DE SEGURANÇA ALIMENTAR/HACCP E HIGIENIZAÇÃO**-acreditada pela Direção Geral dos Recursos Humanos da Educação sob o registo DGRHE/01-161/12, com a duração de **18 horas**. A ação decorreu na Escola Secundária Camilo Castelo Branco, entre os dias dezanove e vinte e um de dezembro de dois mil doze.

Vila Nova Famalicão, 22 de abril de 2013

A Diretora do Centro
(em regime de subscrito de Escola
de Formação)


Maria de Fátima Perqueira



"Mais importante do que saber, é nunca perder a capacidade de aprender." Moacir Gadotti


Associação de Escolas
do Centro de Formação de Vila Nova de Famalicão

Sede: Escola Secundária Camilo Castelo Branco
Rua Dr. António Bernardino de Almeida, 4740-117 V. N. Famalicão

Anexo 16- Certificado de frequência na ação de formação “Atuação do diretor de turma na educação para a sexualidade – um projeto de escola”.#

Certificado

Certifica-se que **MARIA JOSÉ FERREIRA DE SÁ**, Professora, portadora do Bilhete de Identidade nº **10886093** participou na acção de formação, na modalidade de Oficina de Formação – **ACTUAÇÃO DO DIRECTOR DE TURMA NA EDUCAÇÃO PARA A SEXUALIDADE – UM PROJECTO DE ESCOLA** “acreditada pelo Conselho Científico - Pedagógico de Formação Contínua sob o registo CCPFC/ACC – 65125/10, com a duração total de **50 horas** (25h presenciais e 25h não presenciais), que decorreu na Escola Secundária Camilo Castelo Branco – V.N. Famalicão, entre os dias vinte e três de Novembro de dois mil e dez e três de Maio de dois mil e onze. A acção foi orientada por **Maria João Soares Moreira de Abreu**, **Maria do Sameiro Silva Jorge** e **Maria de Fátima Duarte Gomes**.

Mais se certifica, nos termos dos regulamentos em vigor, que a formanda foi creditada com **duas unidades de crédito**, e obteve a classificação de **9,9 (nove, nove)** correspondendo a **Excelente**, para progressão na carreira de professor.

Para os efeitos previstos no artigo 5º do Regime Jurídico da Formação Contínua de Professores, a presente acção releva para efeitos de progressão em carreira de Educadores de Infância e Professores dos Ensinos Básico e Ensino Secundário.

Vila Nova Famalicão, 14 de Julho de 2011

A Directora do Centro
Cândida Moreira
Cândida Moreira
Directora do Centro de Formação de Professores “Mocir Gadotti”

Importante do que saber, é nunca perder a capacidade de aprender

ESCOLA SECUNDÁRIA CAMILO CASTELO BRANCO

Associação de Escolas de Formação de Professores
afae
Vila Nova de Famalicão

Sede: Escola Secundária Camilo Castelo Branco
Rua Padre Benjamim Salgado 4760-412 V. N. Famalicão

Anexo 17- Certificado de frequência na ação de formação “PRESSE- Programa Regional de Educação Sexual em Saúde Escolar”.



CERTIFICADO

Pelo presente, se certifica que

Maria José Ferreira de Sá

frequentou a Acção de Formação

“PRESSE – PROGRAMA REGIONAL DE EDUCAÇÃO SEXUAL EM SAÚDE ESCOLAR”

com o n.º de registo de acreditação

CCPFC/ACC – 63478/10

de 22 de Junho de 2010

na modalidade de

Curso de Formação na área de Formação Contínua

tendo obtido a menção de

APROVADA, com a classificação de **9,8 – Excelente**

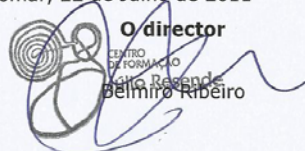
(Numa escala de 1 a 10 valores)

correspondendo a

1,4 crédito(s)

A Acção foi orientada por **Maria da Paz Moreira Martins de Amorim Luís e Susana Daniela Carvalho de Sousa**, tendo decorrido na **Escola Secundária de Rio Tinto** entre **18.07.2011 e 22.07.2011** no total de **35 horas** e enquadra-se no protocolo estabelecido entre o Centro de Formação Júlio Resende e a Administração Regional de Saúde do Norte – Departamento de Saúde Pública.

Gondomar, 22 de Julho de 2011

O director

Belmiro Ribeiro



Anexo 18- Registo de Formador

Conselho Científico-Pedagógico
da Formação Contínua

CERTIFICADO DE REGISTO DE FORMADOR

Para os efeitos previstos no artigo 37º, alínea d), do Regime Jurídico da Formação Contínua de Professores, anexo ao Decreto-Lei nº207/96, de 2 de Novembro, o Conselho Científico-Pedagógico da Formação Contínua procedeu ao **registo como formador de**

MARIA JOSÉ FERREIRA DE SÁ

nas áreas e domínios:

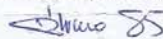
- C05 Didácticas Específicas (Biologia),
- D11 Educação para a Saúde
- D12 Práticas de Educação para a Saúde (Educação Sexual)

com aplicação a Educadores de Infância e Professores dos Ensinos Básico e Secundário

Ao presente certificado é atribuído o registo CCPFC/RFO-30706/12.

Braga, 12 de Dezembro de 2011

O Secretário do CCPFC



(Álvaro Santos)

Anexo 19- Certificado de Formador da ação de formação “Atuação docente na educação para a sexualidade na aplicação do programa PRESSE nos 2º e 3º ciclos”.

Certificado

Certifica-se que **MARIA JOSÉ FERREIRA DE SÁ**, portadora do Bilhete de Identidade nº **10886093**, orientou como formadora a ação de formação, na modalidade de Oficina de Formação - **ACTUAÇÃO DOCENTE NA EDUCAÇÃO PARA A SEXUALIDADE NA APLICAÇÃO DO PROGRAMA PRESSE NOS 2º E 3º CICLOS**, acreditada pelo Conselho Científico - Pedagógico de Formação Contínua sob o registo CCPFC/ACC – 64320/10 com a duração total de **50 horas** (25h presenciais e 25h não presenciais), que decorreu na Escola Secundária Camilo Castelo Branco, entre os dias vinte e oito de novembro de dois mil e onze e onze de abril de dois mil e doze.

Mais se certifica que, nos termos do despacho emitido em 05-01-2012 pelo Sua Ex^a o Secretário de Estado do Ensino da Administração Escolar lhe é atribuído a menção qualitativa de **Muito Bom**.

Vila Nova Famalicão, 21 de maio de 2012

Associação de Escolas
Director do Centro
Cândida Madureira
Cândida Madureira
Vila Nova de Famalicão

Associação de Escolas
"Mais importante do que saber, é nunca perder a capacidade de aprender." Moacir Godóiti

Associação de Escolas
"Mais importante do que saber, é nunca perder a capacidade de aprender." Moacir Godóiti
Vila Nova de Famalicão

Sede: Escola Secundária Camilo Castelo Branco
Rua Padre Benjamim Salgado 4760-412 V. N. Famalicão

Anexo 20- Certificado de Formador da ação de formação “Atuação docente na educação para a sexualidade na aplicação do programa PRESSE nos 2º e 3º ciclos”.

Certificado

Certifica-se que **MARIA JOSÉ SÁ**, portadora do Bilhete de Identidade nº **10886093**, orientou como formadora a ação de formação, na modalidade de Oficina de Formação - **EDUCAÇÃO PARA A SEXUALIDADE NA APLICAÇÃO DO PROGRAMA PRESSE** acreditada pelo Conselho Científico - Pedagógico de Formação Contínua sob o registo CCPFC/ACC - 69263/12 com a duração total de **30 horas** (15h presenciais e 15h não presenciais), que decorreu na Escola Secundária Camilo Castelo Branco, entre os dias dez de outubro de dois mil e doze e trinta de janeiro de dois mil e treze. Mais se certifica que, nos termos do despacho emitido em 05-01-2012 pelo Sua Ex^ª o Secretário de Estado do Ensino da Administração Escolar lhe é atribuído a menção qualitativa de **Muito Bom**.

Vila Nova Famalicão, 11 de junho de 2013

A Diretora do Centro
(Em regime de substituição)
Maria e Fátima Cetaucera
Associação de Escolas
Vila Nova de Famalicão

"Mais importante do que saber, é nunca perder a capacidade de aprender." Moacir Gadotti


Associação de Escolas
Vila Nova de Famalicão
Sede: Escola Secundária Camilo Castelo Branco
Rua Padre Benjamim Salgado 4760-412 V. N. Famalicão

Anexo 21- Certificado de Formador da ação de formação Atuação docente na educação para a sexualidade na aplicação do programa PRESSE nos 2º e 3º ciclos”.



**SINDICATO
DOS PROFESSORES
DA ZONA NORTE**

CENTRO DE FORMAÇÃO PROFISSIONAL
certificado

CFP
CENTRO DE FORMAÇÃO PROFISSIONAL

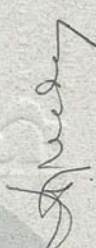
Certifica-se que MARIA JOSE FERREIRA SA concluiu com aproveitamento a acção de formação contínua A INFORMÁTICA NO ENSINO - CCPFC/ACC-13257/98 com a duração de 50 horas realizada em Vila Nova de Famalicao e orientada pelo Formador JOSÉ AUGUSTO JARRA VAZ que decorreu de 06/11 A 18/12/99 .

Esta acção obedeceu ao Regime Jurídico da Formação Contínua de Professores aprovado pelo Decreto-Lei nº 249/92 de 9 Novembro, com as alterações que lhe foram introduzidas pela Lei nº 60/93, de 20 de Agosto, pelo Decreto-Lei nº 274/94, de 28 de Outubro e pelo Decreto-Lei nº 207/96, de 2 de Novembro.

A esta acção corresponde, nos termos da legislação atrás referida, 2 créditos.

Porto, 20 de Dezembro de 1999



O DIRECTOR DO CENTRO DE FORMAÇÃO.



Anexo 23- Certificado de participação na formação “O computador e os sensores no ensino das ciências – sistema de aquisição e tratamento de dados por computador”.



Anexo 24- Certificado de frequência na ação de formação “Competências digitais (Nível 1)”.




Entidade Formadora: CFAE VILA NOVA DE FAMALICÃO (CC BRANCO)
Registo de Acreditação: CCPFC/ENT - AE- 1028/08
Validade da Acreditação: 15-12-2011





CERTIFICADO

Certifica-se que **MARIA JOSÉ FERREIRA DE SÁ**, docente do grupo de recrutamento **520**, de **ESCOLA SECUNDARIA CAMILO CASTELO BRANCO** frequentou com aproveitamento, com a classificação de **EXCELENTE** (9,9 Valores), a ação de formação contínua, **COMPETÊNCIAS DIGITAIS(NÍVEL 1): CURSO B** com o registo de acreditação nº **CCPFC/ACC-58574/09**, na modalidade de curso de formação, com a duração de 15 horas, relevando para efeitos de progressão em carreira, de acordo com o artº 5º do Regime Jurídico da Formação Contínua de Professores e não relevando para os efeitos previstos no nº 3 do artº 14º, com 0,6 créditos, realizada entre **16 de JUNHO de 2010** e **22 de JUNHO de 2010**, com o(s) formador(es): **JOÃO PAULO PEREIRA ARAÚJO CARNEIRO**

A ação inclui-se na formação prevista no artº 4º da Portaria 731/2009, de 7 de Julho, formação em competências digitais e corresponde a um curso de **NÍVEL 1**.

Data: 28 de Julho de _____


(Director)



Anexo 25- Certificado de participação no projeto “Oceanos, biodiversidade e saúde humana”.



CERTIFICADO

Declara-se que a Professora **Maria José Sá, da Escola Secundária Camilo Castelo Branco**, de Vila Nova de Famalicão, coordenou as equipas *004-Missão OBS* e *Os Técnicos* que participaram no desafio "E quando os antibióticos não funcionam", no âmbito do projecto **Oceanos, Biodiversidade e Saúde Humana**, que decorreu de Fevereiro a Maio de 2010.



AGÊNCIA NACIONAL PARA A
COLÉBIA E
TECNOLÓGICA
N.º COM. 51/2007

Ana Noronha
Directora Executiva

Anexo 26- Certificado de participação na 9ª edição do concurso de ideias do prémio da Fundação Ilídio Pinho “Ciencia na Escola”.

