



INSTITUTO UNIVERSITÁRIO EGAS MONIZ

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA DENTÁRIA

MICROBIOMA ORAL

Trabalho submetido por
Fabiana de Deus Correia
para a obtenção do grau de Mestre em Medicina Dentária

setembro de 2020



INSTITUTO UNIVERSITÁRIO EGAS MONIZ

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA DENTÁRIA

MICROBIOMA ORAL

Trabalho submetido por
Fabiana de Deus Correia
para a obtenção do grau de Mestre em Medicina Dentária

Trabalho orientado por
Prof. Doutora Helena Barroso

setembro de 2020

AGRADECIMENTOS

À minha orientadora, Prof. Doutora Maria Helena de Sousa Barroso por ter aceitado me orientar e ter sugerido um tema cujo conhecimento fará uma grande diferença em minha vida profissional e pessoal.

Aos meus pais, pois sem a dedicação, incentivo, confiança e acima de tudo amor, eu não estaria onde estou nem seria quem sou.

Ao meu avô Orlando, que aos 20 anos cruzou o Oceano Atlântico completamente só, sem nenhum recurso tecnológico ou financeiro em busca de melhores condições de vida, sonhando em deixar uma herança para os seus e sem saber, nos deixou um legado de coragem e determinação. Hoje aos 91 anos posso dizer que ele é meu maior incentivador e sou para ele, um grande orgulho, pois tenho feito o caminho reverso: voltando à sua Pátria, que agora é também minha, Portugal.

Ao meu irmão pela disponibilidade em me ajudar e a minha irmã por todo o incentivo e por me proporcionar momentos de descontração com meus sobrinhos Mateus e Davi. Eles são os melhores remédios para minimizar o estresse dessa fase estudantil.

Às minhas tias e tios por toda a compreensão e torcida por meu sucesso. Sou uma privilegiada por tê-los tão perto, ainda que muitas vezes separados por muitos quilômetros. Isso faz toda a diferença.

Agradeço por todos os amigos que Deus têm colocado em meu caminho proporcionando encorajamento, alegria e incentivo. Eles mostram que a vida vale mais que qualquer título, mas nunca permitem que eu desista de buscá-los e conquistá-los. Sou grata por todas as orações e palavras de fé que recebi nesse ano de intenso estudo e inúmeras incertezas. Essas são, para mim, as maiores demonstrações de carinho. Aprendi recentemente através de um deles que quando nós cuidamos dos outros, Deus cuida da gente. Tem dado certo...

À Deus, o autor e consumidor da minha vida, pois “o homem planeja os seus caminhos, mas é o Senhor quem lhe dirige os passos” (Provérbio 16:9, Bíblia Sagrada).

DEDICATÓRIA

Dedico esse trabalho a todos os professores que tive, pois foram os alicerces fundamentais para que eu aqui chegasse. Aos amigos que tem sempre orado por mim e me ajudado a vencer os obstáculos que me deparo, especialmente Eugênia. Aos meus pais por todo apoio e amor. Finalmente, dedico ao único que é digno de receber toda glória, honra e louvor, agora e para todo o sempre: El Shadai.

*“O coração do ser humano pode fazer planos, mas a resposta certa vem
dos lábios do Senhor”*

SALMO 16:1

RESUMO

A observação das comunidades fúngicas em estados de saúde e doença, juntamente com os avanços nos métodos de análise dos fungos, possibilitaram que novas descobertas fossem feitas nessa área e muitas pesquisas tem sido propostas com o intuito de esclarecer o porquê das alterações das diversidades fúngicas em diferentes doenças.

Faz-se então a seguinte pergunta: é a disbiose que leva a doença ou a mesma é quem acarreta na quebra da homeostase. Sabe-se que diferentes fatores podem levar à disbiose, como por exemplo, o uso de dentaduras, os hábitos tabágicos, o uso de antibióticos, a baixa da imunidade e o stress. Infecções fúngicas locais podem ser indícios de infecções sistêmicas. Uma simples candidíase pode ser sinal de um problema maior a nível sistêmico e, o conhecimento das principais infecções fúngicas orais possibilitam que o Médico Dentista não apenas trate uma infecção localizada como também atue na prevenção de outras a nível sistêmico.

O diagnóstico precoce pode evidenciar a necessidade de um tratamento multidisciplinar e, conseqüentemente, mudar o rumo de uma doença. O conhecimento do microbioma juntamente com suas interações entre si (fungo-fungo), e entre outros reinos (fungo-bactéria), é imprescindível para a atuação dos profissionais da saúde, pois estas interações afetam a resposta imune do hospedeiro e tornam os tratamentos muito mais complexos do que seriam se fossem direcionados para apenas um tipo de microorganismo.

A nossa boca, por apresentar vários nichos que acomodam ecossistemas únicos para vários micróbios e facilidade na coleta de amostras, favoreceu as descobertas que mudaram o rumo da ciência, principalmente com relação a comunidade fúngica, pois foram os maiores beneficiados com os avanços tecnológicos.

Palavra Chave: Microbioma Oral; Disbiose; Infecções fungicas; Diversidade fungica

ABSTRACT

The observation of fungal communities in states of health and disease, together with advances in methods of fungal analysis, have made it possible for new discoveries made in this area and a lot of research has been proposed in order to clarify why the changes in fungal diversity in different diseases.

Then the following question is asked: is it dysbiosis that leads to the disease, or is it the same that causes the breakdown of homeostasis? It is known that different factors can lead to dysbiosis, such as the use of dental prosthesis, smoking habits, the use of antibiotics, low immunity and stress. Local fungal infections can be indications of systemic infections. A simple candidiasis can be a sign of a major problem at the systemic level, and the knowledge of the main oral fungal infections allows the Dentist not only to treat a localized infection but also to prevent others at the systemic level.

Early diagnosis can highlight the need for multidisciplinary treatment and, consequently, change the course of a disease. The knowledge of the mycobioma together with its interactions with each other (fungus-fungus), and among other kingdoms (fungus-bacteria), is essential for the performance of health professionals, as these interactions affect the host's immune response and make treatments very complex than they would be if they were directed to just one type of microorganism.

Our mouth, for presenting several niches that accommodate unique ecosystems for various microbes and ease in collecting samples, this favored the discoveries that changed the course of science, especially with regard to the fungal community, as they were the biggest beneficiaries of technological advances.

Keywords: Oral micobioma; Dysbiosis; Fungal infections; Fungal diversity

ÍNDICE GERAL

<i>I. INTRODUÇÃO</i>	9
<i>II. DESENVOLVIMENTO</i>	13
1. DIVERSIDADE DA MICROBIOTA ORAL NA SAÚDE E NA DOENÇA ..	13
2. A IMPORTÂNCIA DO MICROBIOMA NA SAÚDE E NA DOENÇA	21
3. FATORES DESENCADEANTES DE DISBIOSE	25
4. MÉTODOS DE ANÁLISE	31
5. INFECÇÕES FÚNGICAS DA CAVIDADE ORAL-	38
5.1. Candidíase oral	38
5.2. Aspergilose	42
5.3. Mucormicose	43
5.4. Criptococose	45
5.5. Geotricose	46
5.6. Penicilíose	47
5.7. Histoplasmose	48
5.8. Sacaromicose	50
6. INTERAÇÕES ENTRE MICRORGANISMOS	50
6.1. Prevenção	53
<i>III. CONCLUSÃO</i>	55
<i>IV. BIBLIOGRAFIA</i>	57

ÍNDICE DE FIGURAS

- Figura 1** - Diagramas de Venn mostrando a distribuição de frequência dos táxons bacterianos do núcleo (AC) e do fungo (DF) do núcleo (detectados em abundância > 1%) nos três grupos de estudo. A distribuição de frequências na microbiota nuclear é mostrada para os níveis de filo (A, D), (B, E) e gênero (C, F). VIH-SM: fumadores infectados pelo VIH, VIH-nSM: não fumadores infectados pelo VIH, nVIH-SM: fumadores não infectados. 17
- Figura 2** - Frequência de gêneros de fungos com abundância relativa média acima de 0,1% entre os grupos de indivíduos saudáveis (H), OLP reticular (R) e OLP erosivo (E). Um total de 16 gêneros foram incluídos nesta análise (Adaptado de Li e colaboradores, 2019). 19
- Figura 3** - Perfil de microbioma. A abundância relativa média dos dois filos identificados (a), bem como os gêneros (b) e espécies (c) detectados em $\geq 15\%$ das amostras. 20
- Figura 4** - De disbiose a danos. As interações fungo-bacterianas podem ser benéficas ou prejudiciais para o hospedeiro. (A) A alta diversidade microbiana mantém espécies individuais de fungos e bactérias sob controle. Com a diversidade reduzida, devido a, por exemplo, antibióticos, certas espécies crescem para abundância aumentada. (B) Em populações de baixa diversidade, micróbios oportunistas passam de comensal para patógeno. (C) Durante a coinfeção, fungos e bactérias promovem a virulência um do outro, por exemplo, pela penetração tecidual unida. (Krüger e colaboradores, 2019). 28
- Figura 5** - Representação dos métodos mais frequentes de identificação de fungos. (Adaptado de Sodré e colaboradores, 2020). 32
- Figura 6** - Fotomicrografia dos tubos germinativos presentes em *Candida albicans*. 34
- Figura 7** - Métodos de identificação de fungos mais utilizados entre 2000 e 2016. A) Estudos efetuados no período de 2000 a 2015. B) Estudos efetuados no período de 2010 a 2016. Cada cor identifica qual o método utilizado para a identificação taxonômica dos fungos. (Adaptado de Raja e colaboradores, 2017). 35
- Figura 8** - Comparação de membros de microbiomas orais (ao nível de gênero) conforme identificados por abordagens moleculares e baseadas em cultura. A sobreposição no diagrama de Venn ilustra os gêneros de fungos identificados por ambas as abordagens (Adaptado por Diaz e colaboradores, 2017). 36
- Figura 9** - Diagrama esquemático da unidade de repetição ribossômica nuclear em fungos. Esta região inclui os genes 18S, 5.8S e 28S rRNA e a região ITS 1 e 2. Os locais

dos primers universais usados por pesquisas moleculares do microbiome oral e por um estudo de microbioma cutâneo de referência são indicados por setas. Como pode ser visto na figura, os estudos geralmente contam com a amplificação da região ITS137

Figura 10 - O papel protetor da microbiota bacteriano comensal na patogênese da candidíase. Após a colonização e adesão à superfície da mucosa, as hifas de *Candida* podem penetrar na camada epitelial, após a perda da integridade e causar infecção mucocutânea, ou se disseminar no caso de função fagocitária prejudicada. Bactérias comensais interferem na colonização por meio da competição por superfície e nutrientes e da secreção de substâncias inibidoras. As bactérias também fortalecem a função de barreira epitelial através do aumento da produção e integridade do muco por IL-22 e LL-37 derivado do epitélio (Adaptado de Oever, & Netea., 2014).....39

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1 - Revisão das principais doenças fúngicas invasivas com envolvimento de órgãos, manifestação da doença, suscetibilidade, diagnóstico e manejo (Adaptado de Tiew, Mac-Aogain, M, Ali., 2020.....	23
---	----

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1 - Autorização da Figura 1

Anexo 2 - Autorização da Figura 3

Anexo 3 - Autorização da Figura 4

Anexo 4 - Autorização da Figura 5

Anexo 5 - Autorização da Figura 7

LISTA DE ABREVIATURAS

CCE = Carcinoma de Células Escamosas

CCECP = Carcinoma de Células Escamosas de Cabeça e Pescoço

ADN = Ácido desoxirribonucleico

ITS = Espaço interno transcrito

SNC = Sistema Nervoso Central

TGI = Trato Gastrointestinal

RCP = Reação em Cadeia da Polimerase

IMC = Índice de Massa Corporal

rRNA = RNA ribossomal

VIH = Vírus da imunodeficiência humana

PAS = *Periodic acid-reactive Schiff*

SDA = Ágar de dextrose Sabouraud

I. INTRODUÇÃO

A cavidade oral é a porta de entrada de micróbios (bactérias, fungos e vírus) no organismo, e os microrganismos nela presentes têm sido associados a gengivite, periodontite e candidíase bucais. Além das doenças locais, essas comunidades microbianas também estão associadas a doenças sistêmicas (Chen et al., 2018).

O equilíbrio da microbiota tem um papel significativo na saúde e quando ocorre algum desequilíbrio nas populações microbianas permanentes, as espécies patogênicas podem dominar as espécies comensais (Panzai, 2018).

Ao nascer, a cavidade oral é um meio estéril que vai sendo colonizado por microorganismos desde o momento do parto e varia a depender do tipo de parto (normal ou cesária), do tipo de alimentação (se natural, amamentação, ou artificial), e da exposição a determinados fármacos no decorrer da vida, que podem quebrar o equilíbrio microbiano (Mueller et al., 2015).

Os mecanismos pelos quais a microbiota desencadeia as alterações patológicas ainda não são totalmente compreendidos, no entanto, novas abordagens prometem lançar luz sobre o papel da microbiota oral (Kinane et al., 2017).

Até recentemente, o estudo da microbiota oral concentrava-se principalmente nas bactérias, devido a sua alta abundância, fácil detecção e fácil isolamento em laboratório. Avanços tecnológicos e analíticos, particularmente em métodos de detecção independentes do isolamento, tornaram possível investigar várias comunidades de microrganismos. Esses estudos revelaram um mundo microbiano oral extremamente mais diversificado do que o previsto com base em investigação dependente da cultura. Agora sabemos que a cavidade oral abriga uma variedade muito mais diversa de espécies de fungos do que se pensava anteriormente (Hug et al., 2016).

Estudos recentes apontam para a importância dos fungos comensais presentes no microbioma humano como atores críticos na saúde e nas doenças humanas (Ghannoum, 2016).

Os fungos são um grande grupo de microrganismos que constituem um reino dentro do domínio Eukarya. Das cerca de 100.000 espécies de fungos reconhecidos, apenas

aproximadamente 150 são patogénicas para o ser humano e destas apenas uma fração pequena é capaz de causar lesões orais e periorais (Lamont et al., 2020).

A diversidade do micobioma de um indivíduo está relacionada com fatores hereditários, ambientais e individuais. A higiene oral, uso de colutórios, de dentaduras, de aparelhos dentários, de medicamentos e o compartilhar de objetos orais, são alguns dos responsáveis pelas diferenças encontradas na composição do micobioma entre os indivíduos (Zhang et al., 2018).

Embora a grande maioria das pesquisas em micologia oral se tenha concentrado nas leveduras do género *Candida*, estudos moleculares recentes revelaram uma variedade diversa de fungos como potenciais residentes orais (O'donnell, Robertson, et al., 2015).

O avanço das tecnologias, em particular a metagenómica, possibilitou novas descobertas do Microbioma humano tanto a nível quantitativo quanto a nível qualitativo, sendo o número de géneros e espécies de fungos muito maior do que se pensava (Dupuy et al., 2014).

Estudos mais recentes sugerem que existem 600 espécies de fungos que podem causar doenças humanas e apesar da baixa proporção destes no microbioma oral (estima-se que não passam de 0,1 dos microrganismos), o impacto do Micobioma na saúde e na doença é grande (Dupuy et al., 2014).

A manutenção da comunidade microbiana oral é útil para a saúde bucal. O distúrbio do microbioma oral está relacionado com a ocorrência de doenças inflamatórias. O distúrbio da comunidade fúngica também tem um efeito adverso na imunidade do hospedeiro e a composição estrutural dos fungos varia de acordo com as doenças (Marsh & Zaura, 2017).

Segundo Shen e colaboradores (2019), para se elucidar os papéis de todos os componentes do microbioma, também deve ser estudado as interações eucarióticas, procarióticas e virais e não somente um único microorganismo.

O conhecimento das inter-relações microbianas é importante para um melhor entendimento e controle do processo saúde/doença (Bhardwaj, 2018).

Mapear e estudar a comunidade microbiana oral em saúde e doença permitirá a compreensão de como os microrganismos interagem e como afetam a resposta imune do hospedeiro de maneira sinérgica, antagônica ou indiferente (O'donnell, Millhouse, et al., 2015).

Como Hager & Ghannoum (2018) recentemente enfatizaram, embora se saiba muito sobre o potencial de bactérias orais infetarem ou afetarem outras áreas do corpo, ainda resta muito a ser investigado sobre a importância de fungos orais, como *Candida* ou *Cryptococcus*, como agentes de doenças mais disseminadas (Mason et al., 2014).

O objetivo do presente estudo é fazer uma revisão sobre o microbioma oral humano evidenciando a diversidade que existe na cavidade oral, o potencial do microbioma na saúde e na doença, os fatores desencadeantes da disbiose, consequências das infecções fúngicas a nível local e sistêmico (disseminação), as interações entre os microrganismos e sobretudo a prevenção e os tratamentos das principais infecções fúngicas orais. Para elaborar esta revisão bibliográfica foi efetuada uma pesquisa na Pubmed com as palavras-chaves Oral Mycobiome, Oral Fungal Microbiota, da qual resultaram 174 artigos. Após a leitura de todos os abstracts foram selecionados 82 artigos. A bibliografia citada nestes artigos serviu de base para obtenção de outros artigos com menos de 6 anos de publicação. Finalmente, para elaboração deste trabalho foram utilizados 100 artigos.

II. DESENVOLVIMENTO

1. DIVERSIDADE DA MICROBIOTA ORAL NA SAÚDE E NA DOENÇA

Num estudo recente de isolamento, cuidadosamente controlado, Monteiro da Silva e colaboradores (2014) investigaram fungos nas cavidades orais de 40 indivíduos saudáveis. O crescimento foi avaliado a 25 ° C e 37 ° C. Os géneros fúngicos mais comuns encontrados foram: *Candida* (67,5%), *Rhodotorula* (75%), *Penicillium* (85%), *Aspergillus* (75%), *Cladosporium* (72,5%), *Trichoderma* (10%), *Scedosporium* (7,5%), *Alternaria* (5%) e *Rhizopus* (2,5%). Em 100% das amostras incubadas a 25° C isolaram bolores e em 92,5% das mesmas isolaram leveduras. A 37 ° C, isolaram bolores em 42,5% e leveduras em 45% das amostras.

A primeira pesquisa a abranger o microbioma oral analisou amostras de lavado bucal de 20 indivíduos saudáveis e utilizou *primers* universais e sequenciação de alto rendimento (*High-throughput ADN sequencing*). *Candida* foi o género encontrado com maior frequência, presente em 75% dos indivíduos; sendo a espécie *C. albicans* identificada em 40% das amostras. Todavia, esse estudo revelou uma variedade diversa de fungos como potenciais moradores da cavidade oral e 20% dos indivíduos apresentaram 15 géneros em comum e a isso denominaram de Microbioma “central” (Ghannoum et al., 2010).

Dupuy e colaboradores (2014) analisaram o "microbioma humano" utilizando uma abordagem aprimorada da pirosequenciação e detetaram pela primeira vez a presença de espécies de *Malassezia*. Anteriormente ao seu estudo, essa espécie era encontrada na superfície da pele de muitos animais. Conforme mostrou seu estudo, e graças aos novos métodos de identificação de fungos, essa espécie foi encontrada na saliva.

Conforme relata Imabayashi e colaboradores (2016) o facto de espécies de *Malassezia* nunca haverem sido detetadas em estudos anteriores usando métodos de inoculação, é devido muito provavelmente, às técnicas utilizadas, pois as mesmas não davam suporte para o crescimento desta espécie de fungo. Os protocolos usados eram muito rigorosos e acabavam por ocasionar a lise das paredes celulares do fungo. Sendo uma espécie muito bem documentada e encontrada no trato respiratório, a sua deteção na cavidade oral é bastante plausível e conforme mostraram seus estudos, realizados com tecnologia de sequenciamento de próxima geração, *Malassezia* é um dos componentes do microbioma

oral e há necessidade de encontrar protocolos validados para aumentar o leque de detecção de espécies fúngicas residentes na cavidade oral.

Monteiro-da-Silva e colaboradores (2014) num estudo de amostras salivares, obtidas por um período de 30 semanas, revelou a presença de *Penicillium spp.*, *Aspergillus spp.*, *Cladosporium spp.*, *Candida spp.* e *Rhodotorula spp.*

Mukherjee e colaboradores (2014) conduziram o primeiro estudo a caracterizar o papel do micobioma e bacterioma em pacientes infetados pelo VIH(Vírus da imunodeficiência humana). Analisaram amostras de lavado bucal de um total de 24 indivíduos, 12 infetados pelo VIH e 12 não infetados através da abordagem de sequenciação de próxima geração. Os dados mostraram que o micobioma oral de indivíduos infetados pelo VIH foi diferente em comparação aos indivíduos não infetados. Mais especificamente, os géneros mais comuns em indivíduos infetados pelo VIH foram *Candida*, *Epicoccum* e *Alternaria* (presente respectivamente em 92%, 33% e 25%), enquanto os géneros mais abundantes presentes nos participantes não infetados foram *Candida*, *Pichia* e *Fusarium* (58%, 33% e 33%, respectivamente).

De acordo com Shelburne e colaboradores (2015), estudos do microbioma de um paciente com leucemia evidenciou a presença do fungo *Malassezia* em amostras da cavidade oral durante o tratamento de quimioterapia. A amostra das fezes do mesmo paciente não mostrou, contudo, *Malassezia*. Outras espécies de fungos abundantes na cavidade oral deste paciente incluíram *C. albicans*, *C. glabrata*, *Fusarium spp.* e *Alternaria spp.* O bolor *Mucor ventilosus* também foi detetado em amostras orais antes da ocorrência de mucormicose invasiva, com a cavidade oral potencialmente servindo como fonte de infeção.

Outro estudo comparativo do micobioma entre indivíduos saudáveis e com candidíase oral executado por Imabayashi e colaboradores (2016), mostrou que o micobioma de indivíduos com candidíase era dominado por *C. albicans*, e, entretanto, também foram detetadas *C. tropicalis* e *C. dublinensis* em alguns dos indivíduos e com uma frequência moderadamente alta (Imabayashi et al., 2016).

Ao contrário do que se pensava, Imabayashi e colaboradores (2016) ainda observam que o tratamento antifúngico não originou mudanças drásticas no micobioma, com apenas *C.*

dublinskiensis diminuindo enquanto *C. albicans* aumentou a proporção. Ou seja, o Micobioma encontrado nos indivíduos saudáveis não era muito diferente do micobioma encontrado nos indivíduos com candidíase oral, pois ambos eram dominados por *C. albicans*. A constatação desse fato sugere que outros fatores, como fatores relacionados ao hospedeiro e não simplesmente alterações nas proporções fúngicas, estejam relacionados a presença de sintomas clínicos.

Mukherjee e colaboradores (2017), analisaram amostras de tecidos de 39 pacientes portadores de cancro de língua oral e determinaram as diferenças que existiam no bacterioma e /ou micobioma entre cancro de língua oral e tecido normal correspondente, correlacionando os resultados com características clínico-patológicas. As amostras obtidas identificaram 7 filos fúngicos e 25 bacterianos. Essas análises revelaram que a diversidade e a riqueza do bacterioma e a riqueza do micobioma nas amostras de tumor foram significativamente reduzidas em comparação com as amostras não tumorais correspondentes. Não foi observada diferença significativa para o micobioma entre amostras tumorais e não tumorais a níveis de filo ou do gênero. Dentro do grupo tumoral, não houve diferenças significativas ao comparar os índices de diversidade por sexo (masculino e feminino), raça, idade (≤ 40 anos ou mais) ou condição de fumador (nunca fumar *versus* fumadores atuais ou anteriores.). Curiosamente, a riqueza de filos bacterianos e fúngicos aumentou significativamente em amostras de tumores em estágio T alto em comparação com amostras em estágio T baixo. Nos tecidos não tumorais (normal pareado), não houve diferença nos índices de diversidade entre diferentes estágios T, idade ou raça. No entanto, a riqueza diminuiu significativamente entre os filos de fungos em fumadores, em comparação com os não fumadores em amostras normais sem tumor.

A análise da abundância relativa no nível do filo revelou que 6 filos bacterianos e um filo fúngico eram significativamente diferentes entre os grupos não tumorais e tumorais.

O filo fúngico *Glomeromycota* diminuiu significativamente no grupo tumoral comparado aos tecidos não tumorais correspondentes. Não houve diferença na abundância de outros filos de fungos entre os tumores e seus tecidos não tumorais correspondentes. Dentro do grupo tumoral, não houve diferenças significativas ao comparar os níveis de abundância entre diferentes gêneros (masculino e feminino), raça, idade (≤ 40 vs. mais velhos) ou condição de fumadores. Entretanto, concluíram que são necessários estudos que visem

entender como essas duas comunidades influenciam ou são influenciadas no cenário de doenças, como o cancro de língua oral.

No nível de género, 7 géneros fúngicos foram significativamente diferentes em abundância nos grupos tumoral e não tumoral. Os níveis de *Actinomyces* e *Rothia* (e três géneros de menor abundância, *Corynebacterium*, *Enterococcus*, *Micrococcus*) também aumentaram significativamente no grupo tumoral. O fungo *Wallemia* foi o mais abundante nos grupos tumoral e não tumoral. Enquanto seis géneros de fungos adicionais diferiram significativamente em abundância entre os dois grupos ($P \leq 0,043$), sua abundância média foi inferior a 1%.

As correlações observadas no presente estudo com pacientes com cancro de língua oral podem indicar que a disbiose microbiana reflete alterações no estado imunológico devido à doença subjacente. Por exemplo, o aumento dos níveis de *Lichtheimia* pode estar ligado à imunidade atenuada, enquanto o aumento dos níveis de microrganismos patogénicos orais como *Fusobacterium* e *Porphyromonas* pode ser devido a alterações na superfície da mucosa. A ligação entre essas alterações no nível da microbiota e a resposta do hospedeiro pode ser induzida por terapia e / ou pode ser preditiva da doença. As relações de causa *versus* efeito entre esses organismos devem ser investigadas (Mukherjee et al., 2017).

De acordo com Zakaria e colaboradores (2017) as cavidades orais dos indivíduos com menor IMC (índice de massa corporal) eram mais frequentemente colonizadas com *Candida dubliniensis* e *Candida glabrata*. O autor também observou que nos indivíduos com menores taxas de fluxo salivar existiam mais frequentemente *C. albicans*.

Imabayashi e colaboradores (2016), usando a sequenciação de próxima geração da região ITS1 (Espaço Interno Transcrito), analisaram o micobioma de pacientes com infeções por candidíase para explorar as espécies de fungos que coabitam. Eles observaram uma abundância relativamente menor de espécies de fungos em pacientes com candidíase oral pseudomembranosa em comparação com indivíduos saudáveis. Existiam 45 espécies de fungos comuns entre os pacientes testados. Entretanto, apenas 22 espécies de fungos adicionais foram isoladas exclusivamente de pacientes com candidíase pseudomembranosa, em comparação com 41 espécies de fungos adicionais identificadas exclusivamente em indivíduos saudáveis. Números significativamente mais altos das

espécies de *C. dubliniensis*, *C. parapsilosis*, *Wallumia sebi*, *Rhodosporidium babjevae*, *C. krusei*, *Antrodiaella micra*, *Cladosporium sphaerospermum* e *Sporidiobolales* foram observadas naqueles pacientes com candidíase pseudomembranosa, enquanto bocas saudáveis foram significativamente colonizadas pelas espécies *Exophiala equina*, *Cladosporium halotolerans* e *Agaricomycetes*.

Mukherjee e colaboradores (2018), analisando o Microbioma de pacientes Fumadores infectados pelo VIH, Fumadores não infectados pelo VIH e Não fumadores infectados pelo VIH evidenciaram quatro filos fúngicos comuns aos três grupos, e um grupo fúngico (*Chytridiomycota*) exclusivo dos grupos fumadores infectados e não infectados pelo VIH (Figura 1D) À nível de gênero, 11 gêneros de fungos eram comuns a todos os núcleos nos três grupos, 7 eram únicos ao grupo de fumadores não infectados, enquanto 4 (*Cladosporium*, *Nakaseomyces*, *Escleroderma* e *Rhodotorula*) foram detectados apenas no grupo de fumadores infectados pelo VIH (Figura 1E) À nível das espécies, o microbioma continha 17 espécies comuns aos três grupos, duas espécies (*Candida glabrata* e *Scleroderma sp*) eram exclusivas do grupo fumante infectado pelo VIH, enquanto três espécies (*Stemphylium solani*, *Debaryomyces hansenii* e *Olpidium brassicae*) foram detectados apenas no grupo fumante não infectado (Figura 1).

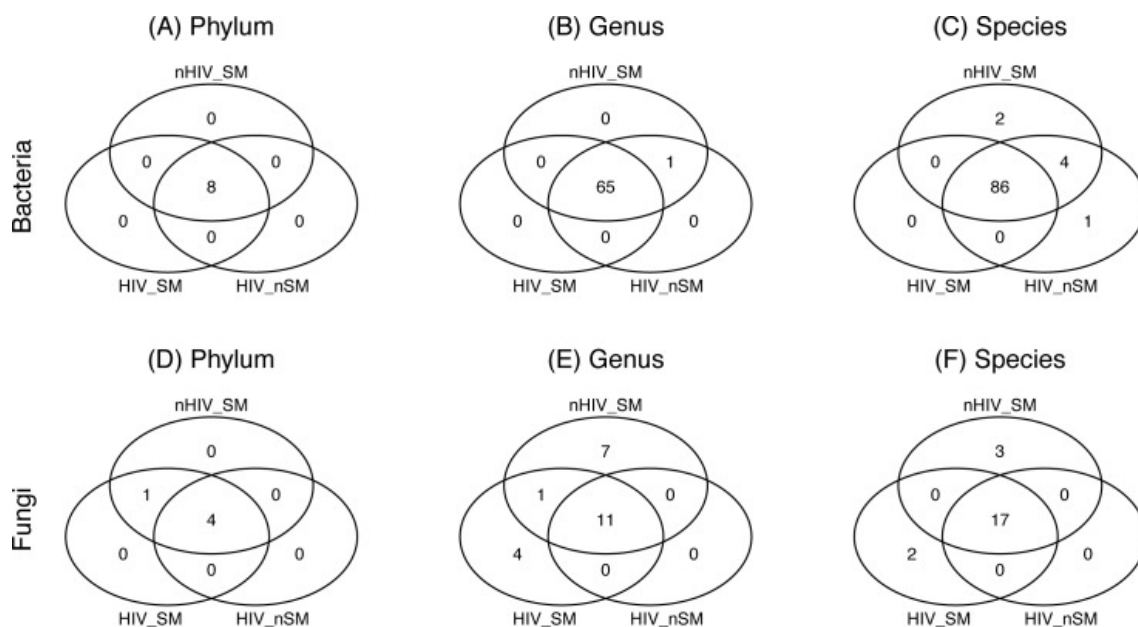


Figura 1 - Diagramas de Venn mostrando a distribuição de frequência dos táxons bacterianos do núcleo (AC) e do fungo (DF) do núcleo (detectados em abundância > 1%) nos três grupos de estudo. A distribuição de frequências na microbiota nuclear é mostrada para os níveis de filo (A, D), (B, E) e gênero (C, F). VIH-SM: fumadores infectados pelo VIH, VIH-nSM: não fumadores infectados pelo VIH, nVIH-SM: fumadores não infectados.

(Adaptado de Mukherjee e colaboradores, 2018).

Vários autores avaliaram a composição e diversidade da comunidade fúngica em pacientes com Líquen Plano Reticular, Líquen Plano Erosivo e Pacientes saudáveis (grupo controle). As amostras salivares de pacientes com OLP reticular e erosivo demonstraram menor biodiversidade fúngica e aumento de abundâncias e frequências dos gêneros *Cândida* e *Aspergillus*. A proporção entre diversidade de fungos e bactérias diminuiu acentuadamente no grupo OLP em comparação ao grupo controle saudável o que torna o padrão de distribuição do microbioma no OLP diferente do padrão de outras doenças mucocutâneas como dermatite atópica, psoríase, doença de Crohn e colite ulcerativa que apresentam um padrão de distribuição de microrganismos fúngicos e bacterianos inverso, onde se encontra diminuição da diversidade do bacterioma e um aumento da diversidade do micobioma. Dezesesseis gêneros estavam presentes com frequências superiores a 20% em cada grupo e foram designados o micobioma “central”, entre os gêneros encontrados estavam: *Cândida*, *Alternaria*, *Aspergillus*, *Cladosporium* / *Davidella*, *Saccharomyces*, *Phoma* e *Malassezia*. (Pascal et al., 2017; Wang et al., 2016).

Os estudos de Li e colaboradores (2019) identificaram 9 gêneros novos, que ainda não haviam sido relatados na literatura num estudo de pacientes com Líquen Plano Reticular e Erosivo, incluindo *Ascomycota* não identificado, *Trichosporon*, e *Fungi* não identificado, e *Podospora*, entre outros. A abundância relativa de *Cândida* foi maior nos grupos OLP reticular e erosivo (49,6% e 41,3%, respectivamente) do que no grupo sujeito saudável (27,1%). Seus estudos mostraram também que os gêneros *Candida* e *Ascomycota_não identificada_1_1* foram os dois gêneros com as maiores frequências detectáveis (96%) nos três grupos estudados com uma abundância relativa média acima de 0,1%. As frequências de *Phoma*, *Trichosporon*, *Penicillium*, *Aspergillus*, *Fungi_não identificada_1_1* e *Coniochaeta* estavam acima de 50% em todas as amostras. Embora não houvesse sido identificado táxons específicos de OLP, o gênero *Aspergillus* foi identificado com maior frequência nos grupos com Líquen Plano, quer fosse Reticular ou Erosivo em relação ao grupo saudável. Dados mostrados na figura 2.

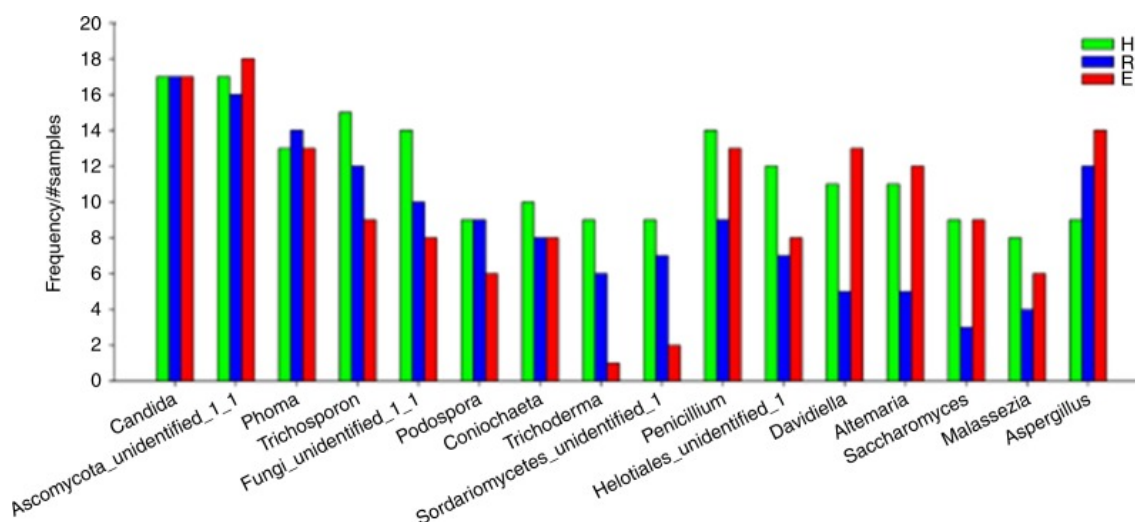


Figura 2 - Frequência de gêneros de fungos com abundância relativa média acima de 0,1% entre os grupos de indivíduos saudáveis (H), OLP reticular (R) e OLP erosivo (E). Um total de 16 gêneros foram incluídos nesta análise (Adaptado de Li e colaboradores, 2019).

Tendo em vista as evidências que a Carcinogênese Oral normalmente está associada a presença de fungos, em especial *Candida albicans*, Perera e colaboradores (2017), fizeram pesquisas para comparar o perfil do microbioma nos tecidos de Carcinoma de Células Escamosas com o dos Pólipos Fibroepiteliais intra-orais benignos (FEP) e assim contribuíram na identificação do papel dos fungos na Carcinogênese. Seus achados detectaram um total de 364 espécies pertencentes a 162 gêneros e dois filos, porém somente 74 gêneros e 125 espécies foram identificadas em mais de uma amostra, sete gêneros e 10 espécies em mais de 25% das amostras e quatro gêneros e cinco espécies em mais de 50 % das amostras.

As maiores abundâncias fúngicas encontradas em aproximadamente 15 % das amostras estão demonstradas na Figura 3.

Os filos *Ascomycota* e *Basidiomycota* representavam em média 78,4% e 21,6% do microbioma, respectivamente. Com relação ao gênero, *Candida* encontrou-se presente em 100% das amostras e constituiu 48% do microbioma médio. Os gêneros *Malassezia*, *Cladosporium* e *Aspergillus* estavam presentes em 75% das amostras, com abundância média relativa de 11%, 6,1% e 3,7%, respectivamente. Com relação às espécies, *C. albicans* foi encontrado em todas as amostras com uma abundância média relativa de 44,4%. *Malassezia restricta*, *Aspergillus penicillioides* e a *Malassezia globosa* foram identificadas em 83%, 70,2% e 68,1% das amostras, respectivamente, e representou 3,2%,

2,2% e 4,2% do microbioma médio, respectivamente. *Cladosporium exasperatum* e uma nova espécie, *Cladosporium sphaerospermum*, também foram identificadas em metade das amostras, com uma abundância média relativa de 2% (Perera et al., 2017).

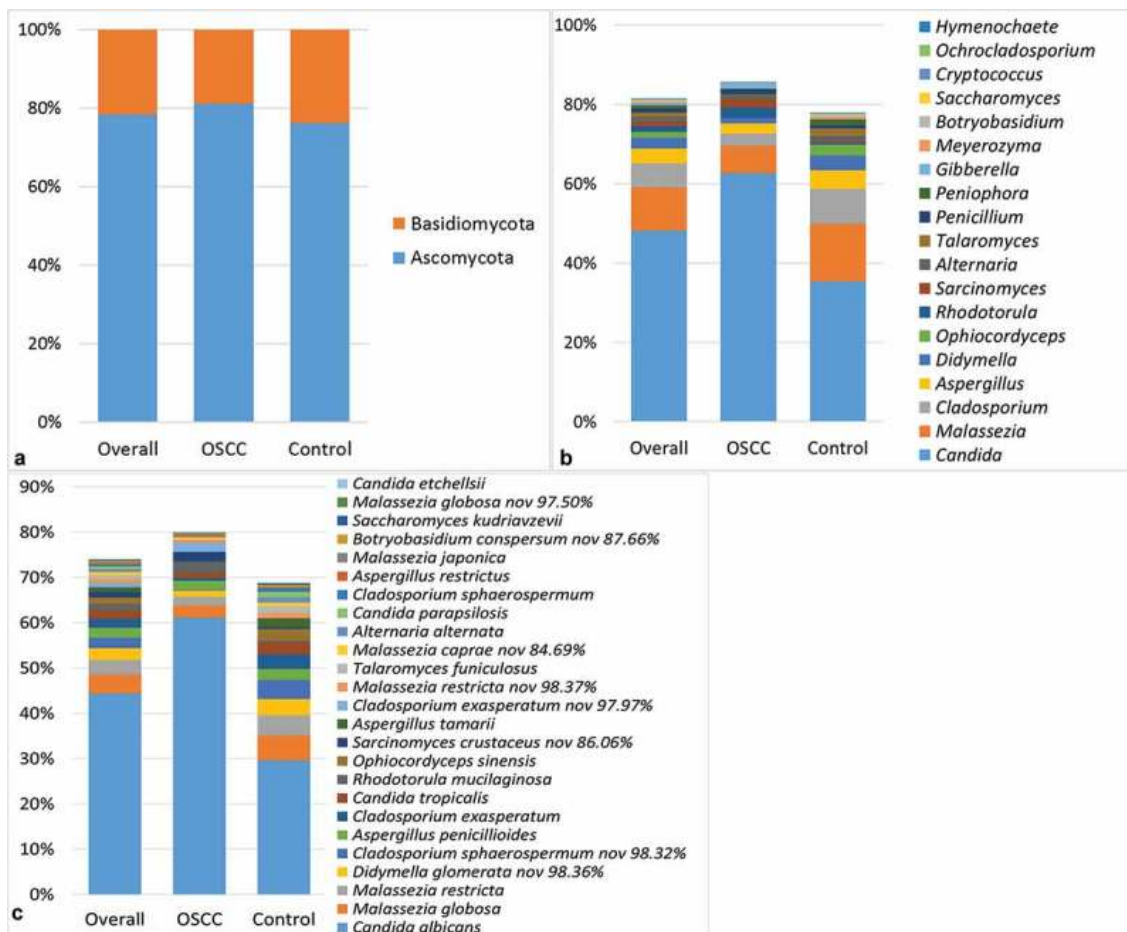


Figura 3 - Perfil de microbioma. A abundância relativa média dos dois filos identificados (a), bem como os gêneros (b) e espécies (c) detectados em $\geq 15\%$ das amostras.

Entretanto, houve variações na abundância relativa dos táxons entre as amostras e algumas apresentaram espécies fúngicas únicas, entre elas: *Rhodotorula mucilaginosa*, *Sporidiobolus johnsonii*, *Penicillium toxicarium*, *Toxicocladosporium irritans*, *Gibberella intricans*, *Alternaria infectoria*, *Ophiocordyceps sinensis* e *Aspergillus tamarii*, além de vários táxons novos. O estudo concluiu então que o desequilíbrio do microbioma está sempre associado ao CCE (Carcinoma de Células Escamosas Oral), mas serão necessários mais estudos sobre o tema pois há possibilidade do desenvolvimento de terapêuticas que podem prevenir ou mesmo controlar a carcinogênese (Perera et al., 2017).

Peters e colaboradores (2017) comparando o microbioma oral de 30 indivíduos, 15 com e 15 sem doença periodontal, através do sequenciamento do gene espaçador interno transcrito (ITS), taxonomicamente informativo do fungo, no ADN (Ácido desoxirribonucleico) extraído de amostras de lavagem oral, concluíram que indivíduos doentes apresentavam uma abundância ligeiramente aumentada do género *Candida*. Entretanto devido ao número limitado de amostras colhidas, estudos maiores devem ser executados para poder estabelecer ainda mais o microbioma oral em saúde e relacioná-lo à doença periodontal

Stehlikova e colaboradores (2019) analisaram as especificidades da composição da microbiota em pacientes com Estomatite Aftosa Recorrente. Participaram deste estudo 44 pacientes com Estomatite Aftosa Recorrente (23 mulheres, 21 homens) e 13 controles saudáveis (6 mulheres, 7 homens). As amostras foram colhidas com zaragatoa em 3 regiões diferentes: da área de ulceração, ao redor da ulceração e de um local não afetado contralateral. Eles observaram que a microbiota em pacientes com Estomatite Aftosa Recorrente difere da microbiota encontrada em indivíduos saudáveis. As úlceras ativas foram dominadas por *Malassezia spp.*, sendo *Candida albicans* a segunda espécie de maior abundância encontrada. Na cavidade oral saudável *Candida albicans* foi detetada em baixa quantidade. Duas espécies foram encontradas apenas em pacientes com Estomatite Aftosa Recorrente, *Itersonilia sp.* e *Candida tropicalis*

Persoon e colaboradores (2017), analisando o sequenciamento genético de segmentos da raiz apical e coronal de 26 dentes, extraídos e doados por pacientes que apresentavam periodontite apical e que se abstiveram de tratamento endodôntico, demonstraram que uma proporção considerável de canais infetados contém fungos, embora sua diversidade seja limitada. Os principais fungos identificados foram *Candida* e *Malassezia*.

2. A IMPORTÂNCIA DO MICROBIOMA NA SAÚDE E NA DOENÇA

Muitas doenças estão associadas à disbiose, entre as doenças orais mais comuns podemos destacar a Genvivite, caracterizada pela inflamação gengival e quando não tratada pode evoluir para uma periodontite crónica, caracterizada pela destruição do tecido

periodontal. Tanto a gengivite quanto a periodontite resultam em alterações na microbiota oral (Zhang et al., 2018).

De-La-Torre e colaboradores (2018), fizeram experiências relacionando a presença de *Candida* em pacientes com Periodontite grave comparado com pacientes saudáveis. As amostras de cultura do lavado oral e de bolsas periodontais revelaram taxas mais altas de *C. albicans* em pacientes com periodontite grave em comparação com controles saudáveis sugerindo que o fungo pode estar envolvido no desenvolvimento dessa doença.

Vesty e colaboradores (2018), analisaram a saliva de 30 participantes, 14 com CCECP (Carcinoma de Células Escamosas de Cabeça e Pescoço), 9 com comprometimento dentário e 7 saudáveis com o intuito de discernir biomarcadores microbianos e inflamatórios do CCECP na saliva. O grupo dos pacientes com comprometimento dentário foi incluído com o intuito de não deixar dúvidas se os resultados poderiam simplesmente refletir diferenças relacionadas à saúde bucal, em vez de diferenças relacionadas ao cancro em si. Foi constatado que a abundância relativa de *C. albicans* está correlacionada positivamente com as concentrações de IL-1 β e IL-8 na saliva sugerindo que *C. albicans* pode ser um fator etiológico na carcinogênese oral devido à sua capacidade de induzir respostas inflamatórias do hospedeiro.

Estudos epidemiológicos moleculares mostram que a origem das infecções por *Candida albicans* é frequentemente atribuída a estirpes endógenas (McManus & Coleman, 2014).

Moritani e colaboradores (2015) observou que uma das consequências das mudanças na microbiota é o efeito potencial dos metabólitos secretados por esses microrganismos no cancro. Esse conceito também foi investigado por outros pesquisadores, que anteriormente identificaram várias “bactérias oncogênicas”. A respeito disto, o acetaldeído (derivado do metabolismo do álcool) tem sido proposto como carcinogenio oral associado a cancros orais devido ao consumo de álcool. Na presença de exposição ao álcool e aumento da abundância de micróbios que produzem acetaldeído, como *Rothia*, *Streptococcus* e *Prevotella*, poderíamos presumir que o aumento do acetaldeído oral poderia promover a carcinogênese oral. Partindo deste princípio, onde percebemos uma diferença significativa na abundância de fungos entre grupos tumorais e não-tumorais, fungos que medeiam a produção de acetaldeído salivar em pacientes com cancro bucal associado ao etanol podem representar “fungos oncogênicos”.

A despeito do cancro ser considerado uma doença multifatorial, vários autores afirmam que as lesões bucais infetadas por *Candida* têm maior propensão a transformação maligna, como confirmam seus estudos com base em Carcinoma de Células Escamosas (CCE), líquen plano e pólipos fibro epiteliais (Gholizadeh et al., 2016; Sankari et al., 2015).

Dentre os patógenos orais oportunistas, componentes do microbioma oral, existe um consenso geral, tanto pela comunidade científica quanto pela clínica, de que as espécies de *Candida* apresentam significado clínico de maior predominância (Samaranayake, 2018).

A microbiota oral não se limita as superfícies epiteliais da boca, mas pode ser transportada pela corrente sanguínea para locais distantes do corpo, como pele, coração e articulações durante atividades diárias de rotina, como escovação dos dentes ou através de tecido inflamado no curso de doenças bucais (Klimesova et al., 2018).

A disbiose do microbioma não está relacionada apenas com a incidência e manutenção de doenças bucais mas evidências crescentes sustentam que está relacionada com a patogênese de muitas doenças sistêmicas, inflamatórias e neoplásicas (He et al., 2015).

Apesar dos avanços científicos, em contraste com os estudos relacionados ao bacterioma humano, poucos deles objetivaram avaliar a correlação entre o micobioma e o fenótipo do hospedeiro. Dessa forma, nosso conhecimento da interação micobioma-hospedeiro fúngico permanece ainda limitado. A partir de estudos desenvolvidos e de sua análise molecular subsequente, observa-se que os sistemas imunológicos complexos evoluíram para regular a homeostase fúngica e, quando perturbados, levam à infecção ou outras patologias conforme demonstrado na Tabela 1 (Tiew et al., 2020).

Tabela 1 - Revisão das principais doenças fúngicas invasivas com envolvimento de órgãos, manifestação da doença, suscetibilidade, diagnóstico e manejo (Adaptado de Tiew, Mac-Aogain, M, Ali., 2020)

Infeção fúngica	Mortalidade	Fungos envolvidos	Órgãos/Tecidos envolvidos	Manifestações clínicas da doença
Aspergilose	30–95%	<i>Aspergillus fumigatus</i> <i>Aspergillus niger</i> <i>Aspergillus flavus</i>	Pulmão	Pneumonia, aspergiloma, traqueobronquite
			SNC (Sistema Nervoso Central)	Meningite, meningoencefalite, infarto cerebral, hemorragia, aneurisma micótico

		<i>Aspergillus terreus</i>	TGI (Trato Gastrointestinal)	Edema intestinal, obstrução, hemorragia, perfuração
			Cutâneo	Pústulas, lesão ulcerativa, celulite, abscesso
Candidiase	19-30%	<i>Candida albicans</i> <i>Candida tropicalis</i> <i>Candida glabrata</i> <i>Candida krusei</i> <i>Candida parapsilosis</i>	Sangue	Candidemia
			Pulmão	Pneumonia
			SNC	Meningite, abscesso
			Olhos	Coriorretinite, endoftalmite
			TGI	Peritonite, esofagite, abscesso hepático
			Mucosa	Candidiase oral, vulvovaginal
Criptococose	20-70%	<i>Candida neoformans</i> <i>Candida gattii</i>	Pulmão	Criptococcoma, pneumonia
			SNC	Meningite, criptococcoma cerebral
			Cutâneo	Lesões nodulares, lesão ulcerada
Mucormicose	46-96%	<i>Rhizopus.</i> <i>Mucor</i> <i>Rhizomucor.</i> <i>Lichtheimia.</i>	Rhino-cerebral	Sinusite, meningite, edema orbital, celulite, lesão necrótica / ulcerativa nasal
			Pulmão	Pneumonia, cavidade, nódulos, massa
			Cutâneo	Nódulos, úlcera, placas escamosas, celulite, escara necrótica
			TGI	Enterocolite necrosante, perfuração intestinal, ulceração
Pneumocistose	20-80%	<i>Pneumocystis jirovecii</i>	Pulmão	Pneumonia
			Extra-pulmonar	Olho, ouvido, tireoide, TGI, medula óssea, músculo, envolvimento de linfonodos
Blastomicose	0,06-68%	<i>Blastomyces dermatitidis</i> <i>Blastomyces gilchristi</i>	SNC	Meningite, cérebro e abscesso epidural
			Cutâneo	Lesões papulopustulosas, ulcerativas, verrucosas, crostosas
			Intestino	Prostatite, epididimite, abscesso tubo-ovariano, endometrite, salpingite
			Pulmão	Pneumonia
			Osso	Osteomielite

Histoplasmose	5–60%	<i>Histoplasma capsulatum</i>	Pulmão	Pneumonia, nódulo, cavidade, mediastinite fibrosante, broncolitíase
			Cutâneo	Eritema nodoso, eritema multiforme
			SNC	Meningite, lesão parenquimatosa
			TGI	Ulceração, estenose
Coccidioidomicose	1–70%	<i>Coccidioides immitis</i> <i>Coccidioides posadasii</i>	Pulmão	Pneumonia, nódulos, cavidade
			Cutâneo	Eritema nodoso, eritema multiforme, nódulo, placa, pápulas
			Osso e Articulação	Osteomielite, artrite, abscesso
			SNC	Meningite
Paracoccidioidomicose	65-27%	<i>Paracoccidioides brasiliensis</i> <i>Paracoccidioides lutzii</i>	Pulmão	Pneumonia, nódulo, cavidade, enfisema, fibrose, derrame pleural, sombra semelhante a miliar
			Cutâneo	Lesão ulcerada, abscesso
			Mucosa	Úlcera oral, gengivostomatite
			Linfonodo	Linfadenopatia
			SNC	Meningite, granuloma do SNC, abscesso
Talaromicose	2–75%	<i>Penicillium marneffei</i>	Cutâneo	Abcessos subcutâneos, úlceras semelhantes a pápulas, lesão semelhante a molusco contagioso
			Linfonodo	Linfadenopatia
			Pulmão	Infiltrados reticulares difusos, infiltrados alveolares localizados
			TGI	Hepatoesplenomegalia Intestinal

3. FATORES DESENCADEANTES DE DISBIOSE

A disbiose é um termo inicialmente associado às alterações de composição e função da microbiota intestinal que podem levar a condições patogênicas. O termo se expandiu para referir-se a um desequilíbrio na composição e função da microbiota no hospedeiro em sítios anatómicos, não apenas o trato gastrointestinal, que podem favorecer o surgimento de infecções. O micobioma em disbiose pode influenciar ativamente seu nicho de

localização, alterando funções na imunidade inata e adaptativa. Esse fenômeno está associado a diversos processos patológicos. No entanto, não se sabe ainda se a disbiose pode ser causa ou consequência de diversas doenças, onde é possível encontrar tal associação (Underhill & Iliev., 2014).

A diversidade e dinamismo do microbioma humano, em resposta às características individuais como os aspectos fisiológicos, idade e dieta, são bem conhecidas. Semelhante à sua contraparte bacteriana, o micobioma também exhibe mudanças em resposta às variabilidades fisiológicas do corpo humano. Por exemplo, amostras de saliva obtidas de idosos residentes na mesma comunidade (77-99 anos de idade) revelou uma associação positiva significativa da micobiota oral com o aumento da idade, número de dentes perdidos, uso de prótese dentária e, baixas taxas de fluxo salivar (Ikebe et al., 2006; Bandara, Panduwawala, & Samaranayake, 2019). Embora as áreas de retenção artificial oferecidas pela prótese dentária possam ser a principal razão para essa observação, está claro que outros fatores, como o fluxo salivar reduzido e os aspectos característicos da mucosa associada ao avanço da idade, podem ter desempenhado um papel importante na mudança do micobioma oral em comparação a pacientes jovens (Rosier et al., 2018).

Além de mudanças ocasionadas, em virtude de fatores patológicos locais e sistêmicos, fatores fisiológicos como a idade também podem influenciar no perfil do microbioma oral. O estudo de Zakaria e colaboradores (2017) investigou o micobioma oral em amostras de saliva estimulada de 410 indivíduos idosos entre 75 e 99 anos, através de técnica de análise molecular. O ADN fúngico foi quantificado por RCP (Reação em Cadeia da Polimerase) em tempo real utilizando o Sistema StepOne Real Time RCP (Applied Biosystems, USA). Os autores compararam os resultados do estudo com o artigo desenvolvido por White e colaboradores (1990) que realizaram análise semelhante em pacientes adultos não idosos. Os autores registraram como espécies de maior frequência *Candida albicans* (98,4%), *C. glabrata* (54,0%) e *C. dubliniensis* (38,1%). O tamanho da população de fungos da cavidade oral foi significativamente associado com parâmetros como a idade, número de dentes, utilização de prótese e taxa de fluxo salivar (Zakaria et al., 2017).

Candida albicans é o fungo da cavidade oral mais comumente isolado e estudado. As espécies de *Candida*, especialmente *C. albicans*, têm sido inequivocamente associadas à etiologia da candidíase. A taxa média de presença de *C. albicans* em indivíduos saudáveis

foi estimada em 17,7% (variação 1,9-62,3%), com base na inoculação de amostras (Zakaria et al., 2017). As taxas de presença são geralmente mais altas em pacientes hospitalizados, indivíduos em terapia antineoplásica, ou com outras condições imunossupressoras, bem como em idosos. Fatores locais associados ao aumento da colonização oral de *C. albicans*, incluem baixo fluxo salivar, baixo pH e uso de prótese dentária. A associação de tabagismo e ingestão de antibióticos com a colonização oral de *C. albicans* permanece controversa, com alguns estudos mostrando uma associação significativa, enquanto outros não apoiam uma relação concreta (Diaz et al., 2017; Zakaria et al., 2017).

A imunidade às espécies fúngicas é sustentada por vias de sinalização inatas que reconhecem tanto os esporos quanto os componentes da parede celular do fungo e incluem respostas adaptativas das células T, que orquestram a tolerância e a vigilância imunológica apropriada. As respostas imunológicas às espécies fúngicas são protetoras do corpo humano. No entanto, podem desencadear o desenvolvimento de manifestações alérgicas. A associação entre fungos e locais específicos do corpo indicam a provável existência de seleção e adaptação (Peay et al., 2016).

A cavidade oral é um complexo e sensível ecossistema que acolhe numerosas espécies de bactérias e fungos formadoras do microbioma oral. As interações entre o ambiente constituído pelo microbioma e o hospedeiro desempenha um papel importante na manutenção da homeostase do ambiente oral (Wade, 2013). Apesar de, em homeostase, o microbioma pode ser um componente importante para a manutenção da saúde do hospedeiro, eles podem se tornar patogênicos por meio de mudanças no ambiente, ou através do enfraquecimento do sistema imunológico. A mudança no ambiente oral ao longo da vida por alterações fisiológicas, comportamentais e hormonais também pode causar uma mudança significativa do microbioma/micobioma oral (Zakaria et al., 2017).

Uma biota oral disbiótica devido ao uso de antibióticos pode acarretar na proliferação de *Candida*, porém, normalmente, é necessário uma associação a imunossupressão local ou sistêmica para que patógenos como *Candida* resultem em uma resposta inflamatória (Xu & Dongari-Bagtzoglou, 2015).

O uso de antibióticos de amplo espectro e também imunossupressão devido, por exemplo, à infecção pelo VIH aumentam o risco para Candidíase pois tais fatores podem gerar uma

disbiose já que promovem, respectivamente, depleção bacteriana e baixa nas defesas imunológicas (Chanda et al., 2017).

O desenvolvimento do microbioma oral é importante para controlar o crescimento de fungos, em especial da *Candida albicans* pois a frequência com que ocorre “Sapinhos” em recém-nascidos corrobora com a ideia que a microbiota oral estável e um sistema imunológico maduro são fundamentais para impedir infecções fúngicas (Dzidic et al., 2018).

Krüger e colaboradores (2019) ressaltou que as interações fungo-bactérias podem ser benéficas ou prejudiciais para o hospedeiro podendo o ambiente interferir nessas interações através do suprimento de nutrientes, disponibilidade de oxigênio e o contato com o sistema imunológico do hospedeiro, que interferirá diretamente na composição e no comportamento da comunidade microbiana local podendo alterar de uma situação de homeostase para disbiose, já que na homeostase encontramos uma alta diversidade e na disbiose uma baixa diversidade de microrganismos. Ver na figura 4.

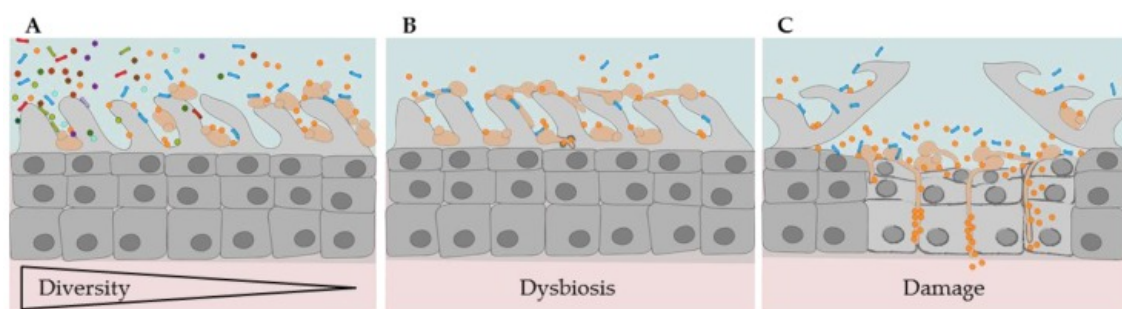


Figura 4 - De disbiose a danos. As interações fungo-bacterianas podem ser benéficas ou prejudiciais para o hospedeiro. (A) A alta diversidade microbiana mantém espécies individuais de fungos e bactérias sob controle. Com a diversidade reduzida, devido a, por exemplo, antibióticos, certas espécies crescem para abundância aumentada. (B) Em populações de baixa diversidade, micróbios oportunistas passam de comensal para patógeno. (C) Durante a coinfeção, fungos e bactérias promovem a virulência um do outro, por exemplo, pela penetração tecidual unida. (Krüger e colaboradores, 2019).

Mukherjee e colaboradores (2018) analisaram a relação da disbiose microbiana com o tabagismo e com marcadores da doença pelo VIH. Os grupos do estudo consistiam em fumadores infectados pelo VIH, Fumadores não infectados pelo VIH e Não fumadores infectados pelo VIH. A conclusão foi que embora os três grupos analisados tenham apresentado variações semelhantes, a diversidade fúngica do micobioma aumentou significativamente no grupo dos fumadores infectados pelo VIH em comparação aos não fumadores, sugerindo que o tabagismo induz alterações no micobioma oral.

O equilíbrio entre os diferentes membros da microbiota oral é que mantém a saúde bucal. Uma alteração deste equilíbrio causado pelo uso de antibióticos ou mudanças na dieta, por exemplo, geram uma disbiose que promove uma redução na diversidade da biota e, assim eleva o risco de doenças como cáries ou periodontites (Zhang et al., 2018).

Conforme Samaranayake (2018), a presença de dentaduras é umas das principais razões para mudanças do micobioma oral, contudo outros fatores como alterações do fluxo salivar e da mucosa decorrentes da idade podem contribuir para a mudança.

A frequência de candidíase oral em pacientes submetidos a quimioterapia depende da dose, duração e tipo de regime, podendo acometer 20 a 40 % dos pacientes e representa a comorbidade relacionada ao tratamento de cancro que mais frequentemente acomete a cavidade oral. O risco de infecção fúngica durante a terapia contra o cancro é aumentado. Antes do tratamento a prevalência de infecção fúngica avaliada clinicamente foi de 7,5%, durante o tratamento foi de 39,1% e após o tratamento foi de 32,6% (Lalla et al., 2010).

Diaz e colaboradores (2019) investigaram os fatores associados ao desenvolvimento de candidíase oral durante a quimioterapia. Apenas vinte por cento dos 45 indivíduos estudados em regime de quimioterapia foram positivos para candidíase oral, apesar de ambos os indivíduos (os que desenvolveram candidíase oral e os que permaneceram sem candidíase) apresentarem dois géneros fúngicos principais em comum; *Cândida* e *Malassezia*. As proporções entre eles foram diferentes e os indivíduos que desenvolveram a doença apresentaram comunidades de micobiotas dominadas por *Candida* (83,2–99,9% de todos os fungos) e quase ausência ou baixas proporções de *Malassezia*. Alguns fatores basais foram associados ao risco para esta infecção durante a quimioterapia, entre eles: tabagismo, quantidade de placa visível, baixa diversidade de bacteriomas e micobiotas e componentes específicos de bacteriomas e micobiotas. Estes autores verificaram também que não houve relação entre receber quimioterápicos específicos ou regimes de combinação e desenvolver candidíase oral, ou seja, a toma de antibióticos sistêmicos de dose única ou múltipla não foi associado ao desenvolvimento de candidíase. Além disso, não houve associação de qualquer tipo de medicação concomitante, incluindo esteróides, antibióticos ou inibidores da bomba de prótons, com candidíase oral. Apesar do autor não correlacionar a quimioterapia diretamente com a candidíase, o mesmo afirma que outros fatores estão relacionados diretamente com a

desregulação das defesas do organismo e por conseguinte o aparecimento de *Candida*, entre eles estão a diminuição do fluxo salivar e o tabagismo.

Assim, as pesquisas de Diaz e colaboradores (2019) fornecem evidências que pacientes submetidos a tratamentos de quimioterapia normalmente apresentam um perfil de risco para desenvolver candidíase oral sugerindo que abordagens antimicrobianas preventivas bem direcionadas e específicas para cada paciente devem ser administradas antes do início da infecção oral para evitar inclusive uma disseminação sistêmica.

Stehlikova e colaboradores (2019), em seus estudos sobre a microbiota na Estomatite Aftosa Recorrente, afirmaram que a presença de úlcera foi determinante na mudança da composição da micobiota e a região de maior variação da composição entre pacientes com Estomatite Aftosa Recorrente e controles saudáveis foi a mucosa labial inferior, mostrando que a inflamação é fator determinante na disbiose.

A diabetes mellitus é uma das doenças endócrinas mais comuns, afetando o sistema imunológico. Mais de 6% da população mundial é afetada por essa doença. Devido aos níveis elevados de glicose sérica e diminuição da função do sistema imunológico celular, esses pacientes são suscetíveis a infecções oportunistas e a candidíase oral é frequentemente observada em pacientes diagnosticados com diabetes. A hiperglicemia salivar é um dos principais fatores de risco para candidíase oral em pacientes com diabetes, mais de 77% dos quais sofrem de candidíase oral (Soysa, Samaranayake, & Ellepola., 2006). Zomorodian e colaboradores (2016) propuseram avaliar a prevalência de colonização oral de *Candida* em pacientes com diabetes e sua relação com o nível de glicose sérica e a taxa de suscetibilidade de leveduras isoladas a antifúngicos. A amostra foi composta de 113 pacientes com diabetes tipo 2, 24 pacientes com diabetes tipo 1 e 105 controles saudáveis. As amostras foram obtidas da mucosa oral de pacientes com diabetes mellitus e de indivíduos saudáveis, por colheita com zaragatoa. . As colônias em crescimento foram contadas e as leveduras isoladas foram identificadas pelo método RCP. Várias espécies isoladas de *Candida* também foram submetidas a testes de sensibilidade a antifúngicos. Amostras de sangue foram colhidas para avaliação da hemoglobina glicosilada. Embora a taxa de colonização de *Candida* e a densidade tenham sido estatisticamente maiores em diabéticos do que em indivíduos saudáveis, nenhuma associação direta foi encontrada entre a alta carga de *Candida* e hemoglobina glicosilada. A espécie mais comumente isolada em diabéticos e controles foi *Candida albicans*. Dos

antifúngicos testados, o maior índice de resistência foi encontrado ao itraconazol, seguido em frequência pelo cetoconazol e fluconazol. O estudo identificou uma associação significativa entre o controle glicêmico deficiente e as maiores taxas de prevalência e densidade de *Candida* nesses pacientes. Além disso, foi encontrada uma alta prevalência de *C. dubliniensis*, que pode ser mal diagnosticada com a sua espécie morfológicamente relacionada, *C. Albicans*.

4. MÉTODOS DE ANÁLISE

Diferentes métodos para identificação fúngica no microbioma oral podem ser realizados, a exemplo dos testes bioquímicos, identificação morfológica e por colorimetria, espectrometria de massas, RCP e sequenciação do material genético, e o uso da eletroforese em gel. Para todos são mencionadas vantagens e desvantagens, sobretudo as referentes ao custo e precisão dos ensaios e seus resultados (Figura 5).

<p style="text-align: center;">Testes bioquímicos</p> <p>Assimilação de carboidratos em testes bioquímicos com kits comerciais: API20C AUX, API ID32C, AUXACOLOR 2 SYSTEM .</p> <p>Vantagens: Identificação de fermento em 24/48 hs; 100% de precisão em relação à identificação de gênero; Solução fácil de usar e abrangente; Usado como método de referência em laboratórios microbiológicos.</p> <p>Desvantagens: Requer atualização de software ao usar o sistema VITEK .</p>	<p style="text-align: center;">Identificação morfológica e colorimétrica</p> <p>Meios de cultura: CHROMagar® (específico para Candida), Sabouraud. Testes para identificar Candida Albicans e Candida Dubliniensis: Produção de tubos germinativos; Coloração de Gram; Teste de formação de clamidosporos.</p> <p>Vantagens: Permite alta especificidade e aplicabilidade; Demonstra a presença de culturas mistas; Permite o reisolamento e purificação da colônia; Diferencia Candida Albicans de Candida Dubliniensis.</p> <p>Desvantagens: Identificação presuntiva; Necessita de outros métodos de identificação.</p>
<p style="text-align: center;">Espectrometria de massa</p> <p>Desorção-ionização de laser associado à matriz – Tempo de voo (MALDI-TOF) .</p> <p>Vantagens: Permite o diagnóstico microbiológico complexo; Identificação rápida e precisa.</p> <p>Desvantagens: Os bancos de dados são propriedade; Precisa de atualização; Necessita de modificações técnicas para o diagnóstico de fungos e micobactérias.</p>	<p style="text-align: center;">RCP</p> <p>RCP para fungos (gene 18 S): amplificação da região IT S1 e IT S2; Específico para Candida: rRNA 5.8 S e 28 S.</p> <p>Vantagens: Sensibilidade e aplicabilidade de alta especificidade com centenas de métodos descritos; Resultados rápidos e precisos.</p> <p>Desvantagens: Vieses de extração e amplificação de ADN.</p>
<p style="text-align: center;">DGGE</p> <p>Eletroforese em gel de gradiente desnaturante.</p> <p>Vantagens: Muito sensível a variações na sequência de ADN; Permite a análise simultânea de várias amostras; Ferramenta bem estabelecida para investigar a diversidade microbiana em muitos laboratórios.</p> <p>Desvantagens: Processos de extração e amplificação de ADN; A análise DGGE é bastante demorada.</p>	<p style="text-align: center;">SEQUÊNCIA</p> <p>Sequência de próxima geração (NGS).</p> <p>Vantagens: Leituras de ADN mais precisas; Maior cobertura do genoma; Tempo de execução e economia de custos; Dados elevados por execução; Facilidade de sequenciamento de genomas completos.</p> <p>Desvantagens: Alto custo; Requer conhecimentos avançados de bioinformática; Taxa de erro considerada alta .</p>

Figura 5 - Representação dos métodos mais frequentes de identificação de fungos. (Adaptado de Sodré e colaboradores, 2020).

Os métodos de identificação dependentes de cultura ainda são os mais utilizados no diagnóstico de infecções fúngicas. Isso ocorre devido ser o meio de diagnóstico mais acessível atualmente. Os métodos de detecção baseados em cultura requerem condições de crescimento adequadas e, são suscetíveis ao supercrescimento bacteriano, dificultando a proliferação de fungos selecionados. Dessa forma, é possível se se fizer uso de antibacterianos, com finalidade de evitar a contaminação das colônias de fungos a serem estudados. A maior parte dos fungos patogênicos não têm exigências específicas no que se refere às necessidades nutritivas e, crescem facilmente nos meios de cultura. Estes podem ser enriquecidos ou seletivos. Os meios enriquecidos mais utilizados são: (1) meio *Sabouraud dextrose agar*; (2) meio *batata dextrose agar* e; (3) *extrato de malte agar*, por serem compatíveis com as culturas dos fungos mais comuns, pois satisfazem seus requerimentos nutricionais. No entanto alguns fungos são mais exigentes e necessitam de outros meios mais ricos como do BHI ou o meio *Sabouraud* com BHI. Estes meios favorecem o crescimento de fungos dimórficos (Monteiro-Da-Silva et al., 2014).

Nos casos em que se requer a adição de antibacterianos (quando existem amostras contaminadas com bactérias) ou de antifúngicos (populações fúngicas mistas), faz-se a adição de cicloheximida (actidiona), assim inibindo a biota contaminante. Entretanto, este antifúngico pode causar inibição do crescimento de fungos patogênicos, ou potencialmente patogênicos. Por isso, deve-se utilizar um meio de controle (sem o antifúngico, em simultâneo). Estes meios são considerados como seletivos (Monteiro-Da-Silva et al., 2014).

Candida albicans é a espécie mais frequentemente isolada e mais estudada da cavidade oral. Os isolados desta espécie são dimórficos, apresentando-se como hifas (filamentosas), ou como leveduras. Estas, apresentam células redondas ou ovais, que brotam apical ou lateralmente, se dividem ou fragmentam, . O meio mais frequentemente utilizado para isolar estas leveduras é o *Sabouraud dextrose agar*, que suprime o crescimento de várias espécies de bactérias, devido ao seu baixo pH (Diaz et al., 2017).

Também existem meios cromogênicos seletivos para o isolamento dos fungos. Inibem o crescimento das bactérias e permitem a identificação de espécies de *Candida* que dão origem às colônias com diferentes cores. São exemplos os seguintes meios, o chromID™ *Candida* (bioMérieux, França); Fluroplate (Merck, Alemanha), Candichrom® (ELITech Group, França) e CHROMagar® *Candida* (Becton Dickinson GmbH, Alemanha), que

identifica a *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. krusei* e *C. dubliniensis*, baseando-se na cor e forma da colônia (Williams & Lewis, 2000).

O teste mais utilizado para a identificação de *C. albicans* é o teste de formação de tubos germinativos (Figura 6). Apenas esta espécie de *Candida* consegue produzir tubos germinativos em soro humano fresco em um intervalo de três horas (Souza et al., 2015; Williams & Lewis, 2000). De acordo com Souza e colaboradores (2015), este teste é realizado através de uma suspensão em tubo com soro humano com três ou quatro colônias, posteriormente incubado a 37°C durante cerca de três horas e, por fim, observa-se sob microscópio óptico a presença ou não dos tubos germinativos.



Figura 6 - Fotomicrografia dos tubos germinativos presentes em *Candida albicans*

(Adaptado de Williams & Lewis, 2000)

Nos últimos anos tem se observado um aumento da utilização da identificação de fungos com métodos moleculares. Uma recente pesquisa foi realizada onde foram divulgados os diferentes métodos utilizados ao longo dos últimos anos para a identificação taxonômica dos fungos (Figura 7). Este estudo sugere que no período correspondente a 2010-2016 houve um aumento na tendência de utilização de métodos moleculares. No período de 2000 a 2015 somente 27% dos estudos só faziam identificação dos fungos com base em métodos moleculares; no período de 2010 a 2016, este número aumentou para 51% (Raja

et al., 2017). Os dados corroboram a robustez do método molecular, apesar do custo elevado.

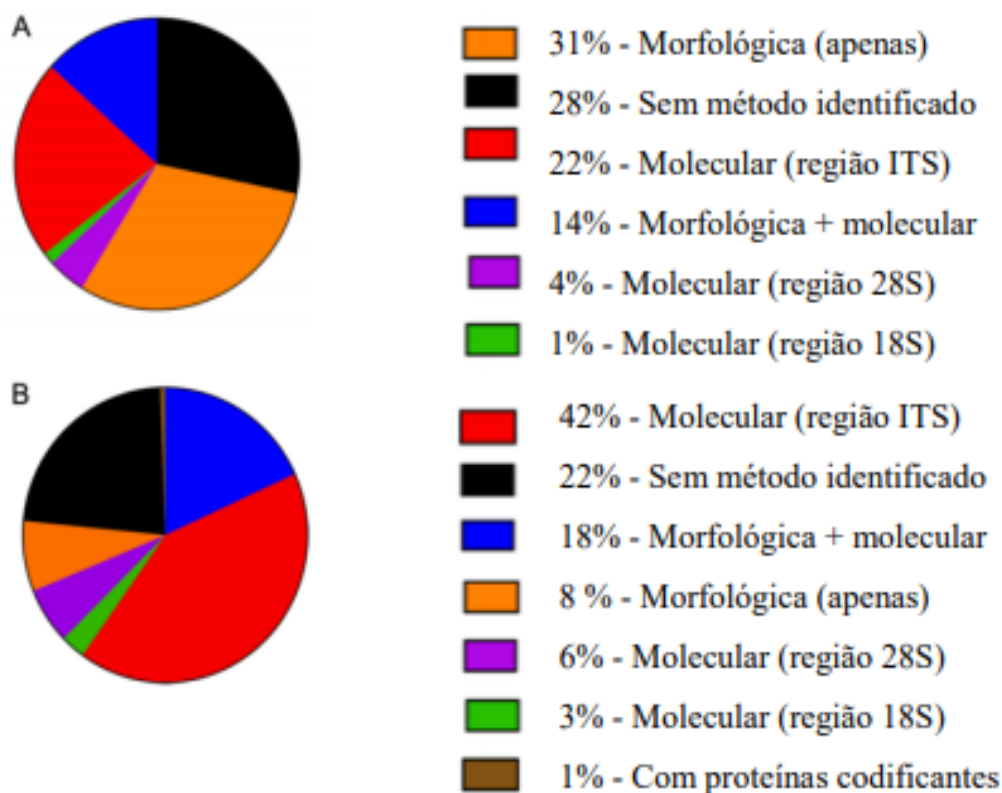


Figura 7 - Métodos de identificação de fungos mais utilizados entre 2000 e 2016. A) Estudos efetuados no período de 2000 a 2015. B) Estudos efetuados no período de 2010 a 2016. Cada cor identifica qual o método utilizado para a identificação taxonômica dos fungos. (Adaptado de Raja e colaboradores, 2017).

A caracterização do microbioma oral, evoluiu, mas de forma relativamente lenta, em comparação com o bacterioma oral. Uma vez que as tecnologias de detecção baseadas em material genético foram introduzidas no início de 1990, as deficiências das técnicas laboratoriais clínicas tradicionais baseadas em cultura e identificação de patógenos fúngicos humanos usando meios seletivos e ensaios bioquímicos eram evidentes (Figura 8). A identificação de fungos baseada em análise genética levou à documentação de sequências únicas em ribossomos fúngicos (Nilsson et al., 2008).

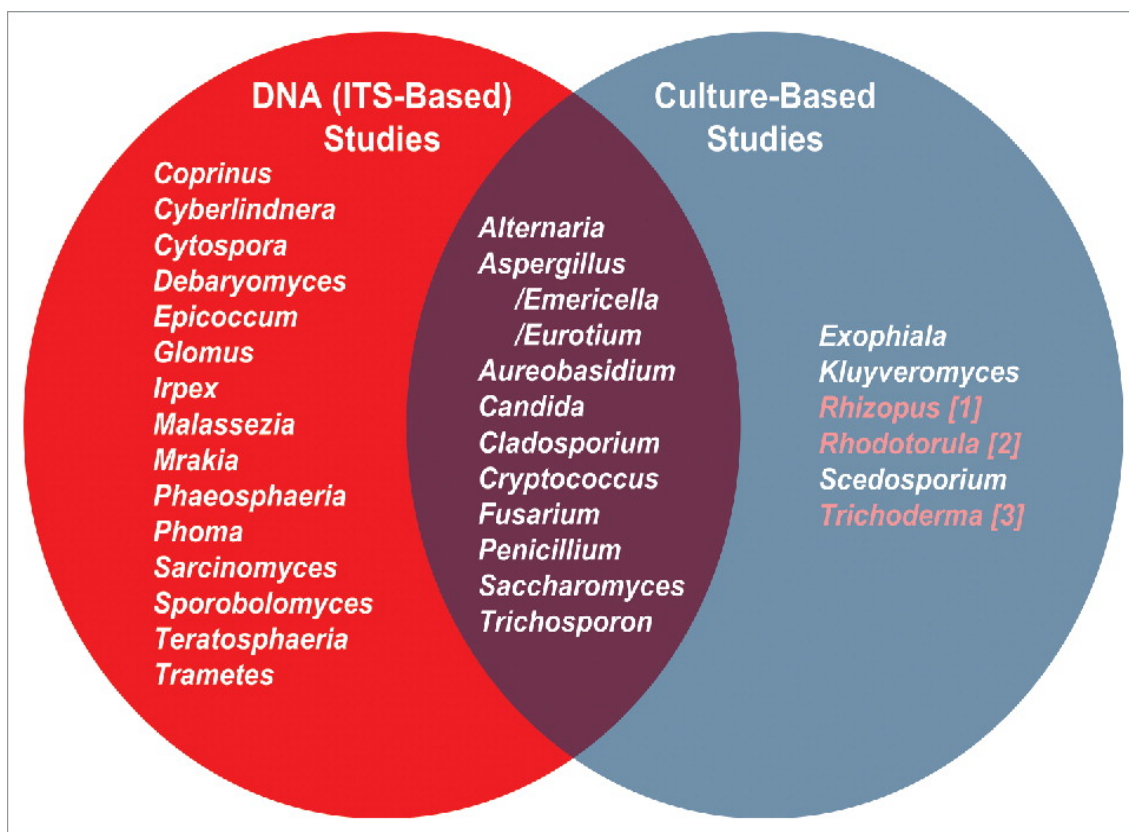


Figura 8 - Comparação de membros de microbiomas orais (ao nível de gênero) conforme identificados por abordagens moleculares e baseadas em cultura. A sobreposição no diagrama de Venn ilustra os gêneros de fungos identificados por ambas as abordagens (Adaptado por Diaz e colaboradores, 2017).

Abordagens baseadas na análise morfológica para compreender a diversidade do microbioma são limitadas devido a nossa incapacidade de isolar a maioria dos espécimes fúngicos provenientes de ambientes naturais (Peay et al., 2016).

No entanto, o estudo da diversidade fúngica avançou substancialmente com o uso de abordagens baseadas na análise molecular, especificamente métodos associados à amplificação de sequências de marcadores taxonômicos por RCP. Na região ITS do rRNA (RNA ribossomal) foi designado o código de barras taxonômico oficial fúngico e, fornece um delineamento taxonômico ao nível de espécie (Schoch et al., 2012) (Figura 9).

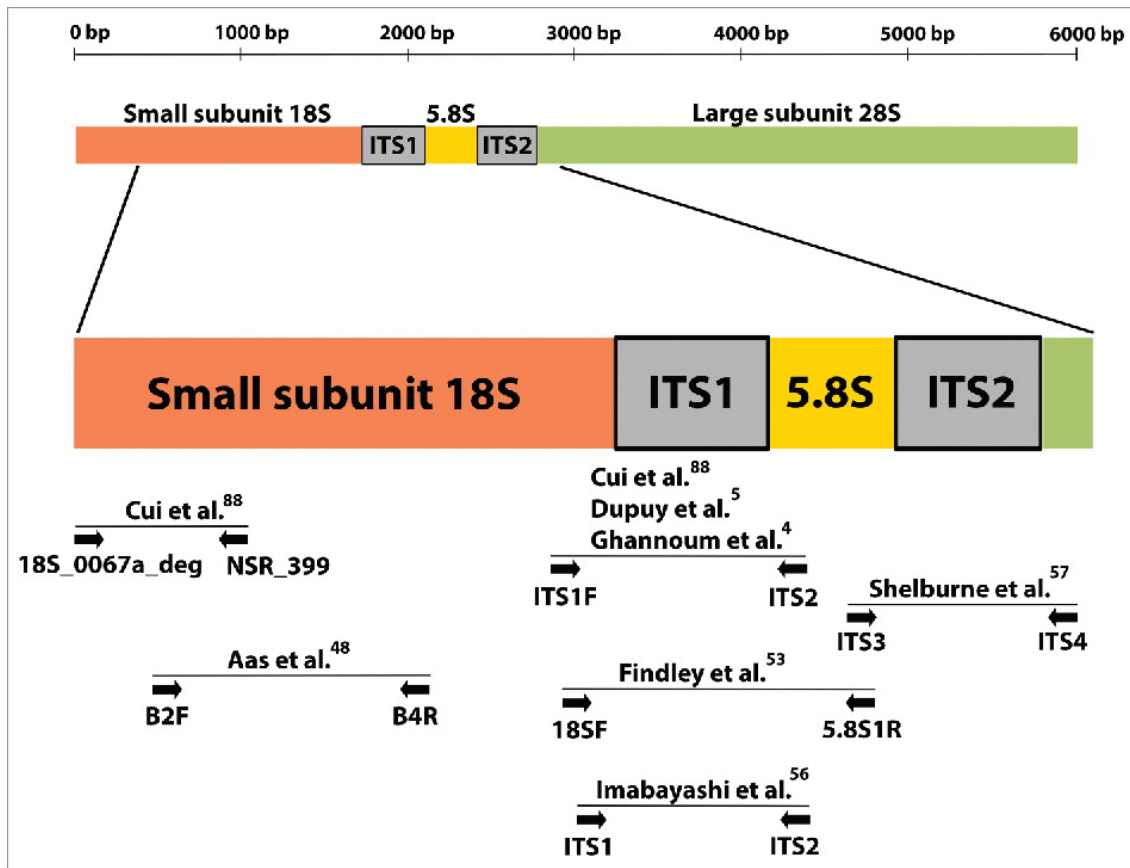


Figura 9 - Diagrama esquemático da unidade de repetição ribossômica nuclear em fungos. Esta região inclui os genes 18S, 5.8S e 28S rRNA e a região ITS 1 e 2. Os locais dos primers universais usados por pesquisas moleculares do microbiome oral e por um estudo de microbioma cutâneo de referência são indicados por setas. Como pode ser visto na figura, os estudos geralmente contam com a amplificação da região ITS1

(Adaptado por Diaz e colaboradores, 2017).

Apesar das limitações, o uso de abordagens moleculares aprofundou significativamente o conhecimento sobre a diversidade do microbioma. Além da estimativa mais precisa da diversidade de fungos que é fornecida por abordagens moleculares, nossa visão das comunidades fúngicas foi ainda mais amplificada por aumentos progressivos no poder de sequenciamento que permitiram um número crescente de amostras e habitats a serem caracterizados (Schoch et al., 2012).

5. INFEÇÕES FÚNGICAS DA CAVIDADE ORAL

5.1. Candidíase oral

A candidíase é a doença fúngica mais frequentemente diagnosticada em cavidade oral. Imabayashi e colaboradores (2016), usando o sequenciamento de nova geração da região ITS1, examinaram o micobioma em pacientes com infecções por *Candida* para explorar as espécies de fungos que coabitavam o local. Os autores observaram uma abundância relativamente menor de espécies de fungos em pacientes com candidíase oral pseudomembranosa, em comparação com controles saudáveis.

Havia 45 espécies de fungos comuns entre os indivíduos de teste e controle. No entanto, apenas 22 espécies fúngicas adicionais foram isoladas exclusivamente de pacientes com candidíase pseudomembranosa, em comparação com 41 espécies fúngicas adicionais identificadas exclusivamente em indivíduos saudáveis. Números significativamente maiores de *C. dubliniensis*, *C. parapsilosis*, *Wallumia sebi*, *Rhodosporidium babjevae*, *C. krusei*, *Antrodiaella micra*, *Cladosporium sphaerospermum* e espécies de *Sporidiobolales* foram observadas naqueles com candidíase pseudomembranosa, enquanto pacientes saudáveis foram significativamente colonizados por *Exophiala equina*, *Cladosporium halotolerans* e representantes dos Agaricomycetes. Shelburne e colaboradores (2015) opinaram que não houve diferenças marcantes nos micobiomas dos grupos saudáveis e com candidíase e, a patogênese da doença é provavelmente um resultado da interação de mudanças de estirpes microbianas, potencial patogênico e a imunidade do hospedeiro.

Fatores do hospedeiro, associados ao microbioma bacteriano, influenciam o desencadear da colonização por *Candida*, levando à invasão e culminando em uma infecção fúngica (Figura 10). Existem várias etapas na patogênese da candidíase: (1) colonização da superfície da mucosa, (2) invasão do tecido e infecção da mucosa e, no caso de doença sistêmica, (3) disseminação para a corrente sanguínea. Fatores moduladores importantes que influenciam os estágios da infecção incluem integridade epitelial diminuída, deficiências nas defesas imunológicas do hospedeiro e, os fatores associados à virulência da *Candida* (Imabayashi et al., 2016).

Apesar das numerosas pesquisas sobre a patogênese da candidíase oral, não está claro porque alguns indivíduos desenvolvem a doença, enquanto outros com fatores de risco

semelhantes permanecem clinicamente saudáveis. A candidíase oral pode se apresentar clinicamente com um aspecto pseudomembranoso, ou como lesões eritematosas e/ou hiperplásicas. A maioria dos casos de candidíase oral estão associados a *C. albicans*, embora alguns tenham sido associados a *C. dubliniensis*, *C. glabrata*, *C. krusei* e *C. tropicalis*, isoladamente ou mais comumente como infecções mistas. Estudos epidemiológicos moleculares mostram que a origem das infecções por *C. albicans* é frequentemente atribuída às estirpes endógenas (McManus & Coleman, 2014). Embora algumas estirpes residentes de *C. albicans* sejam mais patogênicas, não está claro quais

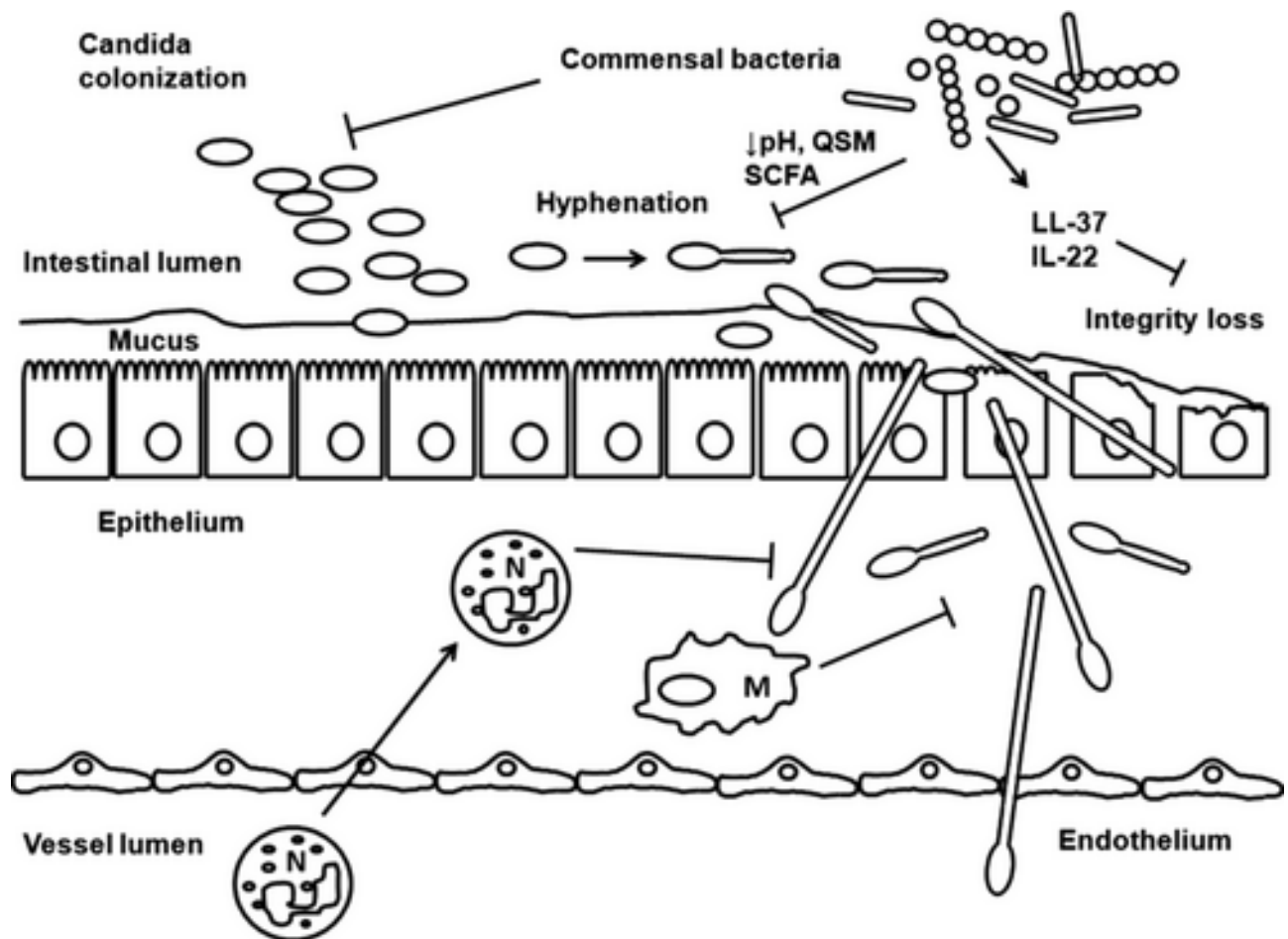


Figura 10 - O papel protetor da microbiota bacteriana comensal na patogênese da candidíase. Após a colonização e adesão à superfície da mucosa, as hifas de *Candida* podem penetrar na camada epitelial, após a perda da integridade e causar infecção mucocutânea, ou se disseminar no caso de função fagocitária prejudicada. Bactérias comensais interferem na colonização por meio da competição por superfície e nutrientes e da secreção de substâncias inibidoras. As bactérias também fortalecem a função de barreira epitelial através do aumento da produção e integridade do muco por IL-22 e LL-37 derivado do epitélio (Adaptado de Oever, & Netea., 2014).

De entre os principais fatores de risco para a candidíase oral estão: (1) comprometimento da homeostase da microbiota oral induzido farmacologicamente; (2) em decorrência de

transtornos da resposta imune do hospedeiro, como no transplante de órgãos, infecção por VIH ou tratamento de cancro (Dongari-Bagtzoglou et al., 2009; Lalla et al., 2010; Patel et al., 2012). Além disso, o uso de prótese dentária predispõe à candidíase por romper a barreira epitelial e promover a formação de biofilme (Johnson et al., 2012).

O tratamento da candidíase oral deve ser baseado no tipo de manifestação, estado imunológico do hospedeiro e grau de envolvimento ou falta de resposta à terapia anterior. Em todos os casos, uma boa higiene oral e da prótese dentária, bem como a remoção dos fatores predisponentes subjacentes, quando possível, são muito importantes. Isso inclui o uso diário do fio dentário e a escovação dos dentes e da língua, atendimento odontológico regular, tratamento da xerostomia, controle do diabetes e limitação do uso de corticosteroide tópico ou sistémico e antibióticos quando possível (Millsop & Fazel, 2016). As próteses podem ser embebidas por 30 minutos, duas vezes por semana, de preferência diariamente, com vinagre branco ou suspensão de gluconato de clorexidina a 2% (Millsop & Fazel, 2016; Muzyka & Epifanio, 2013).

Para candidíase em recém-nascidos, a base do tratamento continua sendo suspensão oral de nistatina, 4 vezes ao dia até 2 dias após a resolução. O fluconazol oral é uma alternativa para aqueles com 6 meses ou mais: 6 mg/kg no dia 1, seguido de 3 mg/ kg diariamente por pelo menos 14 dias. Chupetas infantis e bicos de mamadeira devem ser fervidos; em bebês amamentados, as aréolas da mãe podem ser tratadas com antifúngicos tópicos como a nistatina durante o tratamento do bebê (Silk, 2014)

Para a profilaxia da candidíase orofaríngea, o fluconazol ou itraconazol oral são eficazes em pacientes oncológicos que recebem quimioterapia ou radioterapia, e a profilaxia diária ou semanal com fluconazol ou itraconazol torna-se eficaz em pacientes com infecção por VIH (Baumgardner, 2019; Pankhurst, 2013). O fluconazol pode ser usado profilaticamente em bebês e crianças imunocomprometidas. Ao tratar candidíase oral em mulheres grávidas, os prescritores devem levar em consideração as categorias de risco para a gravidez dos medicamentos disponíveis.

Recentemente foi apontado que o micobioma oral pode ter uma importante relação com a carcinogênese oral. Há estudos que indicam que as lesões orais infectadas por *Candida* têm uma maior propensão para transformação maligna (Gholizadeh et al., 2016; Sankari et al., 2015). Dados recentes obtidos por sequenciamento de nova geração tendem a

confirmar essa hipótese. Pereira e colaboradores (2018) observaram um microbioma alterado, com uma elevada população dos géneros *Candida*, *Hannaella* e *Gibberella* no carcinoma de células escamosas oral. Os mecanismos que acarretam a carcinogênese nessas condições podem incluir a produção de compostos carcinogênicos por *Candida*, como nitrosaminas e/ou acetaldeído (Gainza-Cirauqui et al., 2013).

Lesões orais não causadas por *Candida* são raras e, portanto, poucos estudos tiveram como foco a colonização por outros géneros em cavidade oral. Casos de lesões orais associadas a *Cryptococcus*, Fungos filamentosos (*Aspergillus* e *Zygomycetes*) e fungos dimórficos (*Histoplasma*, *Blastomyces* e *Coccidioides*) foram relatados, mas geralmente envolvem imunossupressão grave e infecção disseminada para locais extra-orais (Alcure et al., 2006; Iatta et al., 2009). *Histoplasma* e *Coccidioides* são provavelmente resultantes de infecções adquiridas. Outros fungos responsáveis por infecções orais e sistêmicas são provavelmente oportunistas, com a boca servindo potencialmente como reservatório de infecção (Gomes et al., 2010).

Candida dubliensis é uma espécie associada a lesões orais em indivíduos infetados pelo VIH. É morfológica e genotipicamente intimamente relacionada com *C. albicans* (Pinjon et al., 2005). *C. dubliensis* mostra susceptibilidade diminuída ao fluconazol. No entanto, *C. glabrata* está emergindo como um patógeno importante em infecções tanto da região de mucosa quanto da corrente sanguínea e é comumente isolado da cavidade oral de indivíduos infetados com VIH (Goulart et al., 2018). Candidiase orofaríngea associada a *C. glabrata* em pacientes VIH positivos e pacientes com cancro é considerado mais agressiva e menos susceptível ao tratamento devido ao rápido desenvolvimento de resistência ao fluconazol (Goulart et al., 2018).

C. guilliermondii causa infecção em pacientes submetidos a procedimentos cirúrgicos, endocardite, em usuários de drogas intravenosas e fungemia em pacientes imunocomprometidos e, demonstra resistência à anfotericina B. Já a infecção por *C. krusei* ocorre em pacientes criticamente enfermos, principalmente em pacientes hematológicos com neutropenia grave. É um patógeno incomum que causa candidemia. Acredita-se que o aumento da infecção por *C. krusei* em pacientes infetados por VIH seja devido ao uso disseminado da profilaxia com fluconazol (Dias et al., 2018).

C. lusitaniae causa infecção principalmente em hospedeiros imunocomprometidos com administração prolongada de antibióticos, hospitalização, tratamento citotóxico, ou com corticosteroides, granulocitopenia e bebês com baixo peso ao nascer. Entretanto, *C. tropicalis* é a mais virulenta das espécies não-albicans de *Candida*. Isso pode ser devido à sua capacidade de aderir a células epiteliais *in vitro* e de secretar níveis moderados de proteinases. Geralmente, é isolada da cavidade oral e da pele e, pode causar infecções no esôfago em pacientes com doenças sistêmicas (Urs et al., 2015).

5.2. Aspergilose

A aspergilose foi relatada como a segunda infecção fúngica oportunista mais prevalente. As espécies de *Aspergillus* são universalmente encontradas em áreas húmidas, grãos, cereais e matéria orgânica em decomposição (Tamgadje et al., 2012). *A. fumigatus* é o patógeno mais frequentemente associado ao desenvolvimento da aspergilose. As infecções em humanas também podem ser causadas por espécies menos comuns de *Aspergillus*, como *A. flavus*, *A. glaucis*, *A. terreus*, *A. parasiticus*, *A. repens*, *A. nidulans*, *A. niger* e *A. tubingensis* (Bajwa & Kulshrestha, 2013; Bathoorn et al., 2013).

A aspergilose geralmente ocorre após a inalação de esporos, que pode resultar em infecção do trato respiratório superior e inferior - aspergilose broncopulmonar (Jenks & Hoenigl, 2018). Dos pulmões, a infecção pode se espalhar para o cérebro, tecido ósseo ou endocárdio. Seios paranasais, laringe, olhos, orelhas e a cavidade oral podem estar envolvidos na aspergilose primária. *A. fumigatus* é o agente usual da aspergilose sinusal, enquanto *A. flavus* é mais comum em lesões invasivas em indivíduos imunossuprimidos. A aspergilose orofacial é relativamente comum em pacientes em tratamento para doenças malignas do sangue e de órgãos formadores de sangue (Urs et al., 2015).

Aspergillus, como os demais fungos, não contém clorofila. Portanto, a luz não é necessária para o crescimento. Este fungo exibe um crescimento linear centrífugo, a menos que seja inibido por barreiras naturais ou artificiais (Bathoorn et al., 2013). Na maioria dos casos, as lesões de aspergilose oral são enegrecidas com áreas purulentas, com uma base necrótica ulcerada, classicamente localizada no palato ou na região posterior de língua. As hifas de *Aspergillus* invadem os tecidos do hospedeiro por meio da liberação de várias toxinas. Isso inclui várias proteases, fosfolipases, hemolisinas, gliotoxina, aflatoxina, dentre outras. Os elementos filamentosos do fungo (as hifas)

podem invadir a mucosa oral e penetrar nas paredes de vasos sanguíneos de pequeno a médio porte, produzindo trombose, infarte e necrose, finalmente levando à disseminação sistêmica (Bajwa & Kulshrestha, 2013).

Histopatologicamente, as lesões invasivas da aspergilose evidenciam reações granulomatosas crônicas. Nas seções coradas com hematoxilina e eosina, as formas de hifas podem ser vistas vagamente no centro de uma área de necrose, mas podem passar despercebidas, a menos que corantes especiais como prata metanamina sejam usadas. Conidiósporos e corpos de frutificação também são observados (Bajwa & Kulshrestha, 2013; Bathoorn et al., 2013).

A aspergilose invasiva é frequentemente tratada com medicamentos antifúngicos como voriconazol, isavuconazol ou, às vezes, posaconazol ou itraconazol, havendo uma taxa de sucesso significativa com tais métodos de tratamento. Contudo, certas formas do *Aspergillus* não respondem a esses medicamentos e, pode ser necessário o tratamento com anfotericina B, ou com uma combinação de medicamentos (Jenks & Hoenigl, 2018).

5.3. Mucormicose

A mucormicose (zigomicose ou ficomicose) é uma infecção micótica oportunista causada por fungos da ordem Mucorales. É considerada a terceira infecção fúngica oportunista mais comum após a candidíase e aspergilose (Perusquia, Vazquez, & Bonifaz, 2012). Os gêneros comuns que causam a doença são *Rhizopus*, *Rhizomucor* e *Absidia*. *Rhizopus* é o patógeno principal responsável por 90% dos casos de mucormicose rinocerebral (Kalaskar et al., 2016).

Este fungo é disseminado no solo, estrume e vegetais, e pode estar presente na cavidade oral e nasal, garganta e fezes de pacientes, sem sinais clínicos de infecção. Uma área de ulceração ou um alvéolo de extração na cavidade oral pode ser uma porta de entrada para mucormicose na região maxilofacial, principalmente quando o paciente está imunocomprometido (Kalaskar et al., 2016).

Aproximadamente 40-50% dos pacientes que sofrem de mucormicose têm diabetes mellitus. A acidose presente no diabetes mellitus reduz a capacidade fagocítica dos

granulócitos, afetando assim a capacidade imunológica de resistir à mucormicose. Durante o estado de cetoacidose diabética, o ambiente ácido e o aumento nos níveis de íons férricos livres suportam o crescimento de espécies de *Mucorales*. Em pacientes diabéticos, há uma alta ocorrência de mucormicose causada por *Rhizopus oryzae*, porque eles produzem a enzima cetoreductase, que os habilita a fazer uso dos corpos cetônicos do paciente (Hadzri et al., 2009).

Os *Mucorales* têm a capacidade de danificar e penetrar no revestimento endotelial dos vasos sanguíneos, que é a característica mais marcante da mucormicose, ou seja, angioinvasão disseminada que resulta em trombose e necrose do tecido (Tippu, Rahman, & Pilania, 2013).

São descritas seis variantes clínicas da mucormicose: (1) rinocerebral (rinomaxilar); (2) pulmonar; (3) cutânea; (4) gastrointestinal; (5) sistema nervoso central e; (6) tipo disseminado. A forma rinocerebral é a variante clínica mais comum que foi dividida em dois subtipos: a rinoceronte altamente fatal e uma forma rinomaxilar menos fatal que envolve as artérias esfenopalatinas e palatinas maiores, resultando em trombose da concha nasal e necrose do palato (Hadzri et al., 2009).

A apresentação clínica da mucormicose rinocerebral inclui mal-estar, cefaleia, dor facial, inchaço de uma escara negra irregular, exsudação de pus do olho e do nariz e febre baixa (Kalaskar et al., 2016). A doença geralmente começa na mucosa nasal ou palato e se espalha através dos vasos circundantes aos seios paranasais, frequentemente envolvendo os seios maxilar e etmoidal. Além disso, a mucormicose pode envolver a região retro-orbital por extensão direta (Rai et al., 2018). O envolvimento orbital pode prejudicar as funções dos nervos cranianos III, IV e VI, resultando em proptose, ptose, dilatação pupilar, celulite orbitária e perda de visão. A penetração direta e o crescimento dos fungos através das paredes dos vasos sanguíneos podem resultar em trombose e necrose tecidual extensa (Kalaskar et al., 2016). A disseminação hematogénica para o seio cavernoso pode causar trombose fatal do seio cavernoso. A mucormicose rinocerebral também pode sofrer propagação por invasão perineural.

A suspeita de mucormicose requer uma tomografia computadorizada da maxila, órbitas e cérebro. Em particular, a evidência de abscessos cerebrais intracranianos e extensões orbitais é crítica. Extensões sinusais e orbitárias são reconhecidas por espessamentos de

membrana ou periosteio, bem como ruptura óssea. No caso do paciente ser diabético, uma avaliação completa da glicose sérica e eletrólitos é necessária. Ensaio sorológicos para antígenos ao *Mucor* foram desenvolvidos (Rai et al., 2018).

Histopatologicamente observa-se a presença de hifas não septadas amplas, de formato irregular com ramificação em ângulo reto invadindo o tecido em cortes corados por hematoxilina e eosina; mas são melhor visualizadas pela técnica do PAS (*Periodic acid-reactive Schiff*) ou prata de metanamina. Idealmente, a amostra de biópsia deve ser obtida da junção de tecido necrótico e não necrótico. Os organismos são vistos principalmente dentro das paredes dos vasos sanguíneos necróticos. O isolamento pode ser feito em ágar - glicose - Sabouraud e, a esporulação de hifas fúngicas em 24-48 horas ajuda a identificar o fungo (Kalaskar et al., 2016).

5.4. Criptococose

Cryptococcus neoformans e *C. gattii* são comumente considerados como os agentes causadores da criptococose. O primeiro geralmente afeta hospedeiros imunocomprometidos (Iatta et al., 2009). As infecções por *C. neoformans* geralmente ocorrem após a inalação de esporos de fungos do solo e/ou de excrementos de pássaros como pombos, papagaios e canários. Em indivíduos imunocompetentes, a infecção permanece subclínica nos pulmões. No hospedeiro imunocomprometido, o fungo produz infecção disseminada rápida envolvendo o sistema nervoso central, pele, membranas mucosas e muitos outros tecidos (Samaranayake et al., 2009).

A face, couro cabeludo e pescoço são os locais comuns de lesões cutâneas, apresentando-se como pápulas, pústulas forma acne, abscessos, úlceras, granulomas superficiais ou tratos sinusais. A apresentação clínica mais comum é a meningoencefalite. O aumento da ocorrência de criptococose em indivíduos infetados pelo VIH foi reduzido com a implementação da terapia anti-retroviral. A criptococose na cavidade oral pode surgir da disseminação hematogénica da infecção localizada nos pulmões de pacientes com VIH. No entanto, a criptococose oral pode ser a apresentação inicial de uma infecção disseminada. Nódulos violáceos, edemas ou úlceras foram relatados na gengiva, palatos duros e moles, faringe, mucosa oral, pilar amigdaliano e, na cavidade dentária após a extração (Samaranayake et al., 2009).

A histopatologia varia de acordo com o estado imunológico do hospedeiro. Nos imunocompetentes, granulomas típicos são formados no local da infecção criptocócica, com células gigantes multinucleadas contendo *C. neoformans* intracitoplasmáticos em formas de germinação. Em pacientes imunossuprimidos, esses microrganismos em proliferação apresentam-se como células de levedura extra e intracelulares, com algumas formas de germinação com macrófagos reativos, infiltrado linfocítico e neutrofílico menor. O diagnóstico definitivo de criptococose é estabelecido com o exame de PAS, prata de metanamina e preparações coradas com mucicarmina (Samaranayake et al., 2009).

5.5. Geotricose

A geotricose é causada pelo fungo *Geotrichum candidium*, que é um componente da microbiota normal da pele e da mucosa dos tratos respiratório e digestivo. Também pode ser isolado de vegetais, frutas, solo e plantas. Lesões orais são causadas por *G. candidium* e *G. capitatum* (Bonifaz et al., 2010).

A geotricose pode manifestar-se clinicamente na forma de pseudomembranas, ulcerações mucosas, gengivas edematosas e eritematosas. Placas pseudomembranosas branco-cremosas, facilmente elimináveis com fundo eritematoso, podem ser vistas principalmente na língua, resultando em glossite, e nas bochechas. Os sintomas mais comuns são dor em queimação e dificuldade para engolir (Bonifaz et al., 2008). Foi relatada queilite angular e úlceras palatinas com aparência semelhante às úlceras causadas por zigomicose e aspergilose. Úlceras palatinas podem resultar em uma condição palatino-cerebral muito agressiva com prognóstico ruim (Bonifaz et al., 2008; Bonifaz et al., 2010).

O exame direto e o PAS revelarão várias hifas septadas com artroconídios retangulares. No entanto, estes podem ter aparência arredondada (células clavatas) e podem ser facilmente confundidos com os que ocorrem no gênero *Candida*. Portanto, o isolamento em meios de cultura é recomendada para o diagnóstico preciso (Bonifaz et al., 2008; Bonifaz et al., 2010).

Em meios de cultura *G. candidum* e *G. capitatum* são vistos como colónias húmidas brancas, membranosas, vilosas. Em meios de cultura cromogénicos, seu crescimento viloso húmido com leve pigmentação rosa os distingue das principais espécies de *Candida* (Bonifaz et al., 2008; Bonifaz et al., 2010). Vários testes bioquímicos também podem ajudar no diagnóstico, entretanto a biologia molecular é a técnica mais precisa para identificação de espécies (Vázquez-González et al., 2013)

5.6. Peniciliose

A peniciliose é causada por *Penicillium marneffe*, que pode causar infeção fatal em indivíduos infetados por VIH. É um fungo dimórfico que pode existir na forma de micélio e na forma de levedura. Foi identificado pela primeira vez em 1973, como uma infeção oportunista em um paciente com linfoma de Hodgkins. Em países do sudeste asiático, como a Tailândia, a peniciliose é a terceira infeção oportunista mais comum em pessoas com VIH (Dahiya et al., 2012).

A inalação de conídios transmitidos pelo ar é o modo mais comum de transmissão. A maioria dos pacientes tem febre, perda de peso e mal-estar. Podem estar presentes manifestações cutâneas, como abscessos subcutâneos, lesões semelhantes a molusco contagioso e úlceras semelhantes a pápulas. O envolvimento respiratório é caracterizado por tosse, dispneia e hemoptise. Lesões orais incluem pápulas, erosões ou úlceras superficiais cobertas por descamação necrótica amarelada que é observada principalmente no palato, gengiva, mucosa labial, língua e orofaringe (Chitasombat & Supparatpinyo, 2013).

O diagnóstico de peniciliose pode ser feito por meio do exame de citologia ou de amostras de biópsia. Na fungemia, as células de levedura podem ser vistas dentro dos monócitos no esfregaço de sangue periférico e são mais bem demonstradas por coloração com PAS ou prata de metanamina. Células de levedura a germinar com septo transversal central é uma característica importante para conclusão do diagnóstico, que deve ser confirmado por cultura microbiológica (Wong & Wong, 2011). O isolamento de *P. marneffe* é o padrão ouro para o diagnóstico. A cultura em SDA (Ágar de dextrose Sabouraud) fornecerá colónias granulares com cor amarelo-esverdeado e um pigmento vermelho difusível característico. Em casos onde não for possível realizar o diagnóstico

histopatológico, a coloração com prata de metanamina pode auxiliar no diagnóstico. Vários tipos de teste de antígeno-anticorpo e ensaio de RCP específicos para *P. marneffei*, foram desenvolvidos em laboratórios de pesquisa, mas não estão amplamente disponíveis (Wong, 2010; Wong & Wong, 2011).

5.7. Histoplasmose

A histoplasmose, doença causada pelo fungo dimórfico *Histoplasma capsulatum*, é a infecção fúngica sistêmica mais comumente diagnosticada nos Estados Unidos. Os fungos dimórficos manifestam-se na forma de bolor no solo à temperatura ambiente, assumindo a forma de levedura ao infectar um hospedeiro humano. A inalação de esporos transportados pelo ar é geralmente o meio de transmissão. O fungo *H. capsulatum* não se limita aos Estados Unidos e pode ser encontrado em partes da América Central e do Sul, África, Ásia e Austrália (Vidyanath et al., 2013).

Para aqueles que contraem a histoplasmose, os sintomas podem ocorrer em poucos dias ou em algumas semanas. A maioria dos indivíduos afetados, especialmente os imunocompetentes, não apresentam sinais ou sintomas de infecção. A gravidade da doença pode estar relacionada com a carga de esporos inalados, com altas taxas de exposição resultando em uma apresentação mais dramática. A histoplasmose ocorre em três formas, a aguda, crônica e disseminada. A aguda é caracterizada por uma infecção pulmonar autolimitada que causa sintomas semelhantes aos da gripe; a crônica pode parecer clinicamente semelhante à tuberculose, afetando principalmente os pulmões e os afetados são frequentemente imunossuprimidos. Por fim, a forma disseminada também afeta desproporcionalmente os imunocomprometidos e, pode afetar múltiplos sistemas orgânicos: baço, glândulas adrenais, fígado (Vidyanath et al., 2013).

As lesões orais da histoplasmose disseminada podem ocorrer em qualquer área da mucosa oral, mas são mais comumente encontradas na língua, palato e mucosa bucal. Os pacientes podem apresentar úlceras dolorosas que persistem por várias semanas. A aparência clínica pode ser semelhante à de uma doença maligna, levando o médico a fazer uma biópsia da lesão (Folk & Nelson, 2017; Vidyanath et al., 2013).

Os achados histológicos de histoplasmose geralmente mostram infiltrados linfocitocíticos difusos com elementos fúngicos no citoplasma dos histiócitos (Vidyanath et al., 2013). Granulomas bem formados são geralmente raros. Colorações especiais, como os métodos prata de metanamina e PAS, destacam a parede celular dos organismos fúngicos. Uma clássica aparência de "halo" causada pela retração do citoplasma da parede celular espessa é útil na identificação dos fungos. Além disso, o diagnóstico pode ser auxiliado por exames laboratoriais. No entanto, a sensibilidade pode ser variável, especialmente na forma disseminada de histoplasmose (Folk & Nelson, 2017).

O diagnóstico diferencial clínico de uma lesão de histoplasmose oral é amplo. Entidades benignas que variam de úlceras não específicas à malignidade são considerações. O diagnóstico diferencial histológico relaciona-se com a presença de um denso infiltrado inflamatório, e um processo reativo ou infeccioso é geralmente rapidamente considerado (Vidyanath et al., 2013). Lesões infecciosas com etiologias variadas podem ser consideradas: bacterianas, virais, parasitárias ou fúngicas. As infecções bacterianas incluem infecções sexualmente transmissíveis (*Neisseria gonorrhoea* e *Treponema pallidum*), que podem ser excluídas do diagnóstico utilizando colorações imuno-histoquímicas. As infecções virais, como herpes simples tipo I ou II, devem ser consideradas, mas geralmente demonstram o efeito citopático viral clássico, conhecido como degeneração em balão (Folk & Nelson, 2017).

As infecções parasitárias, como a leishmaniose, podem ser raras em algumas partes do mundo, mas o histórico de viagens deve ser investigado para ajudar a excluir esta e outras infecções incomuns (Folk & Nelson, 2017; Vidyanath et al., 2013). Outras doenças fúngicas, como blastomicose e criptococose, também precisam ser consideradas. A blastomicose exibe uma adesão entre as células. O uso de colorações especiais é útil na análise do tamanho e forma dos elementos fúngicos individuais, e é de fundamental importância para determinar as espécies específicas de fungos. As amostras para cultura são sempre uma consideração, bem como a consulta de um especialista, com ênfase ao que atua na área das doenças infecciosas (Vidyanath et al., 2013).

Em alguns pacientes, a histoplasmose remite sem intervenção. No entanto, aqueles com lesões orais geralmente precisam de tratamento abrangente. A gravidade da infecção e, os problemas de saúde subjacentes do paciente, geralmente direcionam o tratamento, com indicação de medicamentos antimicóticos. Esses medicamentos frequentemente resultam

em numerosos e graves efeitos colaterais, agravando a dificuldade de tratamento desses pacientes. O prognóstico, por sua vez, está diretamente relacionado à gravidade e ao estado de saúde do paciente e pode ser variável (Folk & Nelson, 2017)

5.8. Sacaromicose

A levedura *Saccharomyces cerevisiae* (também conhecido como "fermento de padeiro" ou "fermento de cerveja") é difundida na natureza. É um microrganismo comensal que habita o trato gastrointestinal de humanos, desempenhando papel importante na manutenção da homeostase normal na sua parte inferior. *S. cerevisiae* atualmente está incluída em alguns alimentos dietéticos ou saudáveis. No entanto a fungemia de *S. cerevisiae* pode ocorrer após o uso de cápsulas de levedura viva de *S. boulardii*, que são usadas como probióticos para a prevenção e tratamento de distúrbios intestinais (Wadhwa et al., 2010).

As lesões assemelham-se à candidíase invasiva devido à presença de coreorretinite e esofagite em ambas as condições, com manifestação de febre na maioria dos pacientes. Também foi relatado envolvimento de locais com áreas de necrose e reação granulomatosa. As manifestações intraorais incluem úlceras com dor associada à deglutição, boca seca e sensação de queimação (Wadhwa et al., 2010).

A coloração direta de Gram de um esfregaço mostrará a maioria das células de levedura como Gram-positivo. A cultura dará um crescimento semelhante a uma levedura de cor branca cremosa. A coloração de Gram da colônia mostrará células de levedura germinando. O organismo pode ser identificado usando ágar de farinha de milho e teste de assimilação de carboidratos (Wadhwa et al., 2010).

6. INTERAÇÕES ENTRE MICRORGANISMOS

A importância das interações fungo-bactéria e fungo-fungo na homeostase da saúde bucal foi recentemente destacada em indivíduos com e sem VIH. No estudo de Mukherjee e colaboradores (2014), os autores traçaram perfis concomitantemente do microbioma e da micobioma na cavidade oral de 24 indivíduos e identificaram uma série de correlações

fúngico-fúngico significativas em indivíduos com e sem VIH. Embora *Candida* e *Penicillium* tenham sido isolados da cavidade oral de todos os indivíduos, diferenças significativas nos perfis gerais de microbiomas foram identificadas entre os estados de saúde e doença. Por exemplo, *Alternia*, *Epicoccum* e *Trichosporon* foram encontrados apenas em pacientes VIH positivos, enquanto *Pichia*, *Cladosporium* e *Fusarium* foram associados ao grupo de pacientes saudáveis. Em contraste, as avaliações das populações microbianas, identificaram um microbioma oral estável entre os dois grupos, com predomínio de *Streptococcus* e *Prevotella*. Quando os autores avaliaram as relações bacteriano-fúngicas neste conjunto de dados, eles identificaram uma série de correlações significativas, incluindo uma correlação negativamente significativa entre a abundância de *Rothia* e *Cladosporiumna* de indivíduos saudáveis. Curiosamente, os autores identificam um efeito antagônico entre os géneros de fungos bucais *Candida* e *Pichia*, de modo que um aumento relativo na colonização de *Pichia* foi associado a uma redução na população de *Candida*.

Esse estudo comparativo de Mukherjee e colaboradores(2014)demonstrou uma correlação negativa entre a abundância de *Candida* e *Pichia* e afirmou claramente que o VIH afeta a comunidade fúngica e deve ser levado em consideração em estudos que investigam o impacto da microbiota nos indivíduos infetados.

Marsh & Zaura (2017) através de amostras de salivas inoculadas com *Candida albicans* demonstrou que este fungo altera o microbioma bacteriano de biofilmes orais possibilitando que bactérias anaeróbicas crescessem em condições aeróbicas.

Embora os fungos possam se desenvolver de forma independente, frequentemente eles se apresentam interagindo com bactérias, o que pode tornar um ou ambos mais resistentes aos tratamentos (Schlecht et al., 2015).

Em infecções semelhantes, sabe-se que a existência de fungos co-habitando com bactérias torna o tratamento mais complexo e reduz as chances de sucesso, porém ainda não há uma explicação clara para este fato. A pesquisa com camundongo evidenciou que a co-infecção de *C. albicans* e *Staphylococcus aureus* aumentava a sua virulência, levando ao aumento de candidíase oral e infecção de órgãos profundos (Schlecht et al., 2015).

Estudos *in vitro* demonstraram que patogênicos bacterianos como *Porphyromonas gingivalis* e *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* interagem com espécies de *Candida*. Foi observado que os componentes da parede celular (complexo manoproteína-b-glucana) de *C. albicans* aumentaram a capacidade invasiva de *P. gingivalis* (Tamai, Sugamata, & Kiyoura, 2011). Sztukowska e colaboradores (2018) caracterizaram recentemente as interações entre *C. albicans* e *P. gingivalis* e demonstraram que a co-adesão mediada por proteínas específicas resultaram em grandes mudanças na expressão gênica de *P. gingivalis*, o que poderia servir para aumentar o seu potencial patogênico. Isso implica que as interações dos componentes bacterianos e fúngicos da microbiota oral podem modular as doenças orais. Considerando o fato de que o micobioma da doença periodontal ainda não foi totalmente esclarecido, esses achados dão crédito aos que propõem que o micobioma pode apresentar um papel chave na iniciação e progressão das doenças periodontais.

Persoon e colaboradores (2017), analisando segmentos da raiz apical e coronal de 26 dentes extraídos e doados por pacientes que apresentavam periodontite apical e que se abstiveram de tratamento endodôntico, demonstraram que há uma correlação do micobioma de infecção do canal radicular com o bacterioma. Todavia, ainda é incerto como a co-ocorrência de bactérias e fungos afeta o tratamento das infecções do canal radicular e o seu prognóstico, contudo, quando os fungos estavam presentes a composição do bacterioma apresentava-se claramente diferente sugerindo que deve haver tratamento antimicrobiano diferente nestes casos.

Stehlikova e colaboradores (2019) em seus estudos sobre a composição da microbiota em pacientes com Estomatite Aftosa Recorrente destacou que foram encontradas muitas associações entre bactérias e fungos nas regiões ulceradas e que estas não estavam presentes em controles saudáveis. Algumas correlações foram positivas e outras correlações foram negativas. A *Malassezia spp.* mostrou correlação negativa com *Haemophilus* e positiva com OTUs de *Porphyromonas*. A outra *Malassezia* teve uma correlação negativa com *Streptococcus* nas úlceras ativas, mas não na mucosa cicatrizada. Contudo, foi observada uma correlação negativa desta OTU de *Malassezia* em particular com uma OTU de *Haemophilus* na mucosa cicatrizada. *Rhodotorula* teve associações negativas com ambas as OTUs de *Streptococcus*, *Leptotrichia* e *Haemophilus* na coorte ativa.

Uma investigação realizada por Mukherjee e colaboradores (2014) sobre a interação *in vitro* de *Pichia* e outros fungos descobriu que nos meios usados uma estirpe de *Pichia farinosa* inibiu o crescimento de *Aspergillus*, *Fusarium* e *Candida*. Não ficou evidente se *Pichia farinosa* faz parte do microbioma oral. Entretanto, este estudo destaca o potencial de interações fúngicas para modular a composição de microbiomas orais.

Os resultados das pesquisas de Stehlikova e colaboradores (2019) propuseram que interações inter-reinos alteradas durante a Estomatite Aftosa Recorrente permite que patogênicos oportunistas proliferem. Foram reveladas várias associações negativas e positivas de fungos e bactérias, por exemplo entre *Malassezia* sp. e *Haemophilus parainfluenzae* foi verificado uma correlação negativa e entre *Malassezia* sp. e *Porphyromonas pasteri* uma correlação positiva. Várias associações entre *Rhodotorula mucilaginosa* com espécies bacterianas também foram evidenciadas durante a Estomatite Aftosa Recorrente ativa. Esses achados sugerem que as relações bacteriano-fúngicas podem ser de grande importância e, no futuro, podem potencialmente servir para fins de prognóstico ou diagnóstico da Estomatite Aftosa Recorrente.

6.1. Prevenção

Conforme Millsop & Fazel (2016), a boa higiene bucal e da prótese são fatores primordiais para a prevenção de infecções fúngicas. Isso inclui não apenas escovar os dentes duas vezes ao dia e escovar a língua, mas também usar fio dentário, fazer visitas regulares ao médico-dentista e tratar fatores predisponentes como xerofthalmia e diabetes, além de limitar o uso tópico ou sistêmico de corticosteróides e antibióticos. Millsop & Fazel (2016) ressaltam ainda que o tratamento da xerofthalmia deverá ser feito com ingestão frequente de água e / ou lascas de gelo ou ingestão de pastilhas sem açúcar para estimular a salivagem.

Muzyka & Epifanio (2013) afirma que as dentaduras devem ser lavadas preferencialmente diariamente, e ao menos duas vezes por semana, embebidas por 30 min em vinagre branco, suspensão de 2% de gluconato de clorexidina ou uma solução de 1 parte de desinfetante doméstico misturado com 10 partes de água, seguido de enxaguamento completo e secagem ao ar.

A prevenção de infecções fúngicas depende em grande parte de evitar tomar corticosteróides e antibióticos desnecessários e manter uma boa higiene bucal (Hager & Ghannoum, 2018).

Fatores locais podem prevenir a proliferação de *Candida*. A saliva é um fluido biológico com potente atividade antifúngica, oferecendo proteção através de alguns componentes de sua composição como a proteína histatina 5 e a calprotectina (Salvatori et al., 2016).

Conforme enfatiza Lalla e colaboradores (2010) durante a terapia do cancro a prevalência de infecção fúngica avaliada clinicamente foi de 39,1%. Entretanto, esse risco pode ser diminuído com a administração profilática do antifúngico fluconazol, resultando em uma prevalência de infecção fúngica durante a terapia do cancro de apenas 1,9%, sugerindo que os antifúngicos sistêmicos são eficazes na prevenção de infecções fúngicas orais.

III. CONCLUSÃO

Apesar de não ser numericamente abundante, representar um grupo de baixa diversidade e não ser visível a olho nu, o papel do Micobioma Oral é significativo no processo de saúde e doença, fato que torna seu conhecimento de extrema importância, pois danos na integridade do ecossistema bucal podem trazer prejuízos tanto na saúde oral quanto na saúde geral do organismo humano, podendo originar, inclusive altas taxas de mortalidade.

As limitações dos métodos de cultura foram superadas pelo desenvolvimento dos métodos moleculares que proporcionou a descoberta de novos gêneros e espécies de fungos. Esses novos métodos moleculares possibilitaram inclusive a comparação da composição do Micobioma Oral entre indivíduos saudáveis e doentes mostrando diferenças não só na variedade de gêneros encontrados como também na sua abundância. A quebra da homeostase leva alguns a especularem, inclusive, se a eliminação de disbioses entre os microrganismos poderia impedir ou retardar a progressão de doenças, muito embora se observem também que outros fatores além das proporções e diversidades fúngicas estejam relacionados com a presença de manifestações clínicas, como por exemplo o fator imunidade.

Todavia, para uma compreensão completa dos papéis dos fungos na saúde bucal e nas doenças, e sabendo que os mesmos podem ser transportados para locais distantes do corpo através de simples atividades diárias de rotina, como usar fio dentário e escovar os dentes, muitas questões ainda precisam ser respondidas: Qual o papel do fungo na homeostase oral? As doenças têm um impacto na disbiose ou é a disbiose que tem impacto nas doenças?

A relação das doenças orais mediadas por fungos e o desequilíbrio no ecossistema bucal diante de condições de doenças orais e doenças sistêmicas merecem ser profundamente estudadas, pois dessa forma se compreenderá melhor a relação saúde/doença. Ter-se-á assim, não apenas um diagnóstico mais preciso, mas principalmente, uma terapêutica adequada, já que além do exposto, cada pessoa possui um Micobioma Oral único, dependente da interação de fatores genéticos, ambientais e imunológicos, o que torna a terapêutica específica para cada indivíduo.

Assim, os fungos desempenham um papel importante no Microbioma Oral e graças aos avanços nas tecnologias de microbiologia molecular este fato deixou de ser negligenciado e temos chegado a importantes descobertas nos últimos anos.

Diante de tantas questões ainda sem respostas, evitar o uso de corticosteroides, fazer uso racional de antibióticos e adotar hábitos diários de higiene bucal, principalmente para aqueles que usam dentaduras ou aparelhos, ainda é a melhor abordagem. Prevenir sempre será mais fácil do que remediar.

IV. BIBLIOGRAFIA

Alcure, M. L., Di Hipólito Júnior, O., de Almeida, O. P., Bonilha, H., & Lopes, M. A. (2006). Oral histoplasmosis in an VIH-negative patient. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology*, 101(2), 33–36. <https://doi.org/10.1016/j.tripleo.2005.06.028>

Bajwa, S., & Kulshrestha, A. (2013). Fungal infections in intensive care unit: Challenges in diagnosis and management. *Annals of Medical and Health Sciences Research*, 3(2), 238–244. <https://doi.org/10.4103/2141-9248.113669>

Bathoorn, E., Escobar Salazar, N., Sepehrkhoy, S., Meijer, M., de Cock, H., & Haas, P. J. (2013). Involvement of the opportunistic pathogen *Aspergillus tubingensis* in osteomyelitis of the maxillary bone: A case report. *BMC Infectious Diseases*, 13(59), 1–4. <https://doi.org/10.1186/1471-2334-13-59>

Baumgardner, D. J. (2019). Oral Fungal Microbiota: To Thrush and Beyond. *Journal of Patient-Centered Research and Reviews*, 6(4), 252–261. <https://doi.org/10.17294/2330-0698.1705>

Bhardwaj, S. B. (2018). Introductory Chapter: Oral Flora and Oral Diseases. In *Oral Microbiology in Periodontitis*. InTech. <https://doi.org/10.5772/intechopen.79363>

Bonifaz, A., Macias, B., Paredes-Farrera, F., Arias, P., Ponce, R., & Araiza, J. (2008). Palatal zygomycosis: experience of 21 cases. *Oral Diseases*, 14(6), 569–574. <https://doi.org/10.1111/j.1601-0825.2007.01433.x>

Bonifaz, Alexandro, Vázquez-González, D., Macías, B., Paredes-Farrera, F., Hernández, M. A., Araiza, J., & Ponce, R. M. (2010). Oral geotrichosis: report of 12 cases. *Journal of Oral Science*, 52(3), 477–483. <https://doi.org/10.2334/josnurd.52.477>

Chanda, W., Joseph, T. P., Wang, W., Padhiar, A. A., & Zhong, M. (2017). The potential management of oral candidiasis using anti-biofilm therapies. *Medical Hypotheses*, 106, 15–18. <https://doi.org/10.1016/j.mehy.2017.06.029>

Chen, Y., Zhou, R., Yi, Z., Li, Y., Fu, Y., Zhang, Y., Li, P., Li, X., & Pan, Y. (2018). *Porphyromonas gingivalis* induced inflammatory responses and promoted apoptosis in

lung epithelial cells infected with H1N1 via the Bcl-2/Bax/Caspase-3 signaling pathway. *Molecular Medicine Reports*, 18(1), 97–104. <https://doi.org/10.3892/mmr.2018.8983>

Chitasombat, M., & Supparatpinyo, K. (2013). *Penicillium marneffeii* infection in immunocompromised host. *Current Fungal Infection Reports*, 7(1), 44–50. <https://doi.org/10.1007/s12281-012-0119-5>

Dahiya, P., Kamal, R., Puri, A., Saini, G., & Arora, A. (2012). Penicillinosis in a VIH-positive individual. *Indian Journal of Sexually Transmitted Diseases and AIDS*, 33(1), 38–40. <https://doi.org/10.4103/2589-0557.93819>

De-La-Torre, J., Quindós, G., Marcos-Arias, C., Marichalar-Mendia, X., Gainza, M. L., Eraso, E., Acha-Sagredo, A., & Aguirre-Urizar, J. M. (2018). Oral *Candida* colonization in patients with chronic periodontitis. Is there any relationship? *Revista Iberoamericana de Micología*, 35(3), 134–139. <https://doi.org/10.1016/j.riam.2018.03.005>

Dias, I. J., Trajano, E. R. I. S., Castro, R. D., Ferreira, G. L. S., Medeiros, H. C. M., & Gomes, D. Q. C. (2018). Antifungal activity of linalool in cases of *Candida* spp. isolated from individuals with oral candidiasis. *Brazilian Journal of Biology*, 78(2), 368–374. <https://doi.org/10.1590/1519-6984.171054>

Diaz, P. I., Hong, B. Y., Dupuy, A. K., Choquette, L., Thompson, A., Salner, A. L., Schauer, P. K., Hegde, U., Burleson, J. A., Strausbaugh, L. D., Peterson, D. E., & Dongari-Bagtzoglou, A. (2019). Integrated analysis of clinical and microbiome risk factors associated with the development of oral candidiasis during cancer chemotherapy. *Journal of Fungi*, 5(2), 1–21. <https://doi.org/10.3390/jof5020049>

Diaz, P. I., Hong, B. Y., Dupuy, A. K., & Strausbaugh, L. D. (2017). Mining the oral mycobiome: Methods, components, and meaning. *Virulence*, 8(3), 313–323. <https://doi.org/10.1080/21505594.2016.1252015>

Dongari-Bagtzoglou, A., Dwivedi, P., Ioannidou, E., Shaqman, M., Hull, D., & Burleson, J. (2009). Oral *Candida* infection and colonization in solid organ transplant recipients. *Oral Microbiology and Immunology*, 24(3), 249–254. <https://doi.org/10.1111/j.1399-302X.2009.00505.x>

- Dupuy, A. K., David, M. S., Li, L., Heider, T. N., Peterson, J. D., Montano, E. A., Dongari-Bagtzoglou, A., Diaz, P. I., & Strausbaugh, L. D. (2014). Redefining the Human Oral Mycobiome with Improved Practices in Amplicon-based Taxonomy: Discovery of *Malassezia* as a Prominent Commensal. *Plos One*, *9*(3), 1–11. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0090899>
- Dzidic, M., Collado, M. C., Abrahamsson, T., Artacho, A., Stensson, M., Jenmalm, M. C., & Mira, A. (2018). Oral microbiome development during childhood: an ecological succession influenced by postnatal factors and associated with tooth decay. *The ISME Journal*, *12*(9), 2292–2306. <https://doi.org/10.1038/s41396-018-0204-z>
- Folk, G. A., & Nelson, B. L. (2017). Oral Histoplasmosis. *Head and Neck Pathology*, *11*(4), 513–516. <https://doi.org/10.1007/s12105-017-0797-y>
- Gainza-Cirauqui, M. L., Nieminen, M. T., Novak Frazer, L., Aguirre-Urizar, J. M., Moragues, M. D., & Rautemaa, R. (2013). Production of carcinogenic acetaldehyde by *Candida albicans* from patients with potentially malignant oral mucosal disorders. *Journal of Oral Pathology and Medicine*, *42*(3), 243–249. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0714.2012.01203.x>
- Ghannoum, M. (2016). *Cooperative Evolutionary Strategy between the Bacteriome and Mycobiome*. *7*(6), 4. <https://doi.org/10.1128/mBio.01058-16>
- Ghannoum, M. A., Jurevic, R. J., Mukherjee, P. K., Cui, F., Sikaroodi, M., Naqvi, A., & Gillevet, P. M. (2010). Characterization of the Oral Fungal Microbiome (Mycobiome) in Healthy Individuals. *PLoS Pathogens*, *6*(1), e1000713. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1000713>
- Gholizadeh, P., Eslami, H., Yousefi, M., Asgharzadeh, M., Aghazadeh, M., & Kafil, H. S. (2016). Role of oral microbiome on oral cancers, a review. In *Biomedicine and Pharmacotherapy*, *84*, 552–558. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2016.09.082>
- Gomes, C., Fidel, S., Fidel, R., & de Moura Sarquis, M. I. (2010). Isolation and Taxonomy of Filamentous Fungi in Endodontic Infections. *Journal of Endodontics*, *36*(4), 626–629. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2010.01.016>

Goulart, L. S., Souza, W. W. R. de, Vieira, C. A., Lima, J. S. de, Olinda, R. A. de, & Araújo, C. de. (2018). Oral colonization by *Candida* species in VIH-positive patients: association and antifungal susceptibility study. *Einstein*, *16*(3), 1–6. <https://doi.org/10.1590/S1679-45082018AO4224>

Hadzri, M. H., Azarisman, S. M., Fauzi, A. R. M., & Kahairi, A. (2009). Invasive rhinocerebral mucormycosis with orbital extension in poorly-controlled diabetes mellitus. *Singapore Med J*, *50*(3), e109.

Hager, C. L., & Ghannoum, M. A. (2018). The mycobiome in VIH. *Current Opinion in VIH and AIDS*, *13*(1), 69–72. <https://doi.org/10.1097/COH.0000000000000432>

He, J., Li, Y., Cao, Y., Xue, J., & Zhou, X. (2015). The oral microbiome diversity and its relation to human diseases. In *Folia Microbiologica*, *60*(1) 69–80. <https://doi.org/10.1007/s12223-014-0342-2>

Hug, L. A., Baker, B. J., Anantharaman, K., Brown, C. T., Probst, A. J., Castelle, C. J., Butterfield, C. N., HERNSDORF, A. W., Amano, Y., Ise, K., Suzuki, Y., Dudek, N., Relman, D. A., Finstad, K. M., Amundson, R., Thomas, B. C., & Banfield, J. F. (2016). A new view of the tree of life. *Nature Microbiology*, *1*(5), 1–6. <https://doi.org/10.1038/nmicrobiol.2016.48>

Iatta, R., Napoli, C., Borghi, E., & Montagna, M. T. (2009). Rare mycoses of the oral cavity: a literature epidemiologic review. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology*, *108*(5), 647–655. <https://doi.org/10.1016/j.tripleo.2009.07.010>

Imabayashi, Y., Moriyama, M., Takeshita, T., Ieda, S., Hayashida, J. N., Tanaka, A., Maehara, T., Furukawa, S., Ohta, M., Kubota, K., Yamauchi, M., Ishiguro, N., Yamashita, Y., & Nakamura, S. (2016). Molecular analysis of fungal populations in patients with oral candidiasis using next-generation sequencing. *Scientific Reports*, *6*, 1–8. <https://doi.org/10.1038/srep28110>

Jacobsen, M. D., Duncan, A. D., Bain, J., Johnson, E. M., Naglik, J. R., Shaw, D. J., Gow, N. A. R., & Odds, F. C. (2008). Mixed *Candida albicans* strain populations in colonized and infected mucosal tissues. *FEMS Yeast Research*, *8*(8), 1334–1338.

<https://doi.org/10.1111/j.1567-1364.2008.00438.x>

Jenks, J., & Hoenigl, M. (2018). Treatment of Aspergillosis. *Journal of Fungi*, 4, 1–17. <https://doi.org/10.3390/jof4030098>

Johnson, C. C., Yu, A., Lee, H., Fidel, P. L., & Noverr, M. C. (2012). Development of a contemporary animal model of candida albicans-associated denture stomatitis using a novel intraoral denture system. *Infection and Immunity*, 80(5), 1736–1743. <https://doi.org/10.1128/IAI.00019-12>

Kalaskar, R. R., Kalaskar, A. R., & Ganvir, S. (2016). Oral mucormycosis in an 18-month-old child: a rare case report with a literature review. *Journal of the Korean Association of Oral and Maxillofacial Surgeons*, 42(2), 105–110. <https://doi.org/10.5125/jkaoms.2016.42.2.105>

Kinane, D. F., Stathopoulou, P. G., & Papapanou, P. N. (2017). Periodontal diseases. *Nature Reviews Disease Primers*, 3(1), 1–14. <https://doi.org/10.1038/nrdp.2017.38>

Klimesova, K., Zakostelska, Z. J., & Tlaskalova-Hogenova, H. (2018). Oral bacterial and fungal microbiome impacts colorectal carcinogenesis. In *Frontiers in Microbiology*, 9(774) 1–13. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.00774>

Krüger, W., Vielreicher, S., Kapitan, M., Jacobsen, I. D., & Niemiec, M. J. (2019). Fungal-Bacterial Interactions in Health and Disease. *Pathogens*, 8(2), 70. <https://doi.org/10.3390/pathogens8020070>

Lalla, R. V., Latortue, M. C., Hong, C. H., Ariyawardana, A., D'Amato-Palumbo, S., Fischer, D. J., Martof, A., Nicolatou-Galitis, O., Patton, L. L., Elting, L. S., Spijkervet, F. K. L., & Brennan, M. T. (2010). A systematic review of oral fungal infections in patients receiving cancer therapy. *Supportive Care in Cancer*, 18(8), 985–992. <https://doi.org/10.1007/s00520-010-0892-z>

Lamont, R. J., Hajishengallis, G. N., Koo, H. M., & Jenkinson, H. . F. (2020). *Oral microbiology and immunology*. John Wiley & Sons, Ltd.

Li, Y., Wang, K., Zhang, B., Tu, Q., Yao, Y., Cui, B., Ren, B., He, J., Shen, X., Van Nostrand, J. D., Zhou, J., Shi, W., Xiao, L., Lu, C., & Zhou, X. (2019). Salivary

mycobiome dysbiosis and its potential impact on bacteriome shifts and host immunity in oral lichen planus. *International Journal of Oral Science*, 11(2), 1–10. <https://doi.org/10.1038/s41368-019-0045-2>

Marsh, P. D., & Zaura, E. (2017). Dental biofilm: ecological interactions in health and disease. *Journal of Clinical Periodontology*, 44(18), 12–22. <https://doi.org/10.1111/jcpe.12679>

Mason, M. R., Preshaw, P. M., Nagaraja, H. N., Dabdoub, S. M., Rahman, A., & Kumar, P. S. (2014). The subgingival microbiome of clinically healthy current and never smokers. *The ISME Journal*, 9, 268–272. <https://doi.org/10.1038/ismej.2014.114>

McManus, B. A., & Coleman, D. C. (2014a). Molecular epidemiology, phylogeny and evolution of *Candida albicans*. *Infection, Genetics and Evolution*, 21, 166–178. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2013.11.008>

McManus, B. A., & Coleman, D. C. (2014b). Molecular epidemiology, phylogeny and evolution of *Candida albicans*. In *Infection, Genetics and Evolution*, 21, 166–178. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2013.11.008>

Millsop, J. W., & Fazel, N. (2016). Oral candidiasis. *Clinics in Dermatology*, 34(4), 487–494. <https://doi.org/10.1016/j.clindermatol.2016.02.022>

Monteiro-Da-Silva, F., Araujo, R., & Sampaio-Maia, B. (2014). Interindividual variability and intraindividual stability of oral fungal microbiota over time. *Medical Mycology*, 52(5), 496–503. <https://doi.org/10.1093/mmy/myu027>

Moritani, K., Takeshita, T., Shibata, Y., Ninomiya, T., Kiyohara, Y., & Yamashita, Y. (2015). Acetaldehyde production by major oral microbes. *Oral Diseases*, 21(6), 748–754. <https://doi.org/10.1111/odi.12341>

Mueller, N. T., Bakacs, E., Combellick, J., Grigoryan, Z., & Dominguez-Bello, M. G. (2015). The infant microbiome development: Mom matters. *Trends in Molecular Medicine*, 21(2), 109–117. <https://doi.org/10.1016/j.molmed.2014.12.002>

Mukherjee, P. K., Chandra, J., Retuerto, M., Sikaroodi, M., Brown, R. E., Jurevic, R., Salata, R. A., Lederman, M. M., Gillevet, P. M., & Ghannoum, M. A. (2014). Oral

Mycobiome Analysis of VIH-Infected Patients: Identification of *Pichia* as an Antagonist of Opportunistic Fungi. *PLoS Pathogens*, 10(3), 1–17. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1003996>

Mukherjee, P. K., Chandra, J., Retuerto, M., Tatsuoka, C., Ghannoum, M. A., & McComsey, G. A. (2018). Dysbiosis in the oral bacterial and fungal microbiome of VIH-infected subjects is associated with clinical and immunologic variables of VIH infection. *PLOS ONE*, 13(7), 1–16. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0200285>

Mukherjee, P. K., Wang, H., Retuerto, M., Zhang, H., Burkey, B., Ghannoum, M. A., & Eng, C. (2017). Bacteriome and mycobiome associations in oral tongue cancer. *Oncotarget*, 8(57), 97273–97289. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.21921>

Muzyka, B. C., & Epifanio, R. N. (2013). Update on Oral Fungal Infections. In *Dental Clinics of North America*, 57(4), 561–581. <https://doi.org/10.1016/j.cden.2013.07.002>

Nilsson, R. H., Kristiansson, E., Ryberg, M., Hallenberg, N., & Larsson, K. H. (2008). Intraspecific ITS variability in the Kingdom Fungi as expressed in the international sequence databases and its implications for molecular species identification. *Evolutionary Bioinformatics*, 2008(4), 193–201. <https://doi.org/10.4137/EBO.S653>

O'donnell, L. E., Millhouse, E., Sherry, L., Kean, R., Malcolm, J., Nile, C. J., & Ramage, G. (2015). Polymicrobial *Candida* biofilms: friends and foe in the oral cavity. *FEMS Yeast Research*, 15(7), 77. <https://doi.org/10.1093/femsyr/fov077>

O'donnell, L. E., Robertson, D., Nile, C. J., Cross, L. J., Riggio, M., Sherriff, A., Bradshaw, D., Lambert, M., Malcolm, J., Buijs, M. J., Zaura, E., Crielaard, W., Brandt, B. W., & Ramage, G. (2015). The Oral Microbiome of Denture Wearers Is Influenced by Levels of Natural Dentition. *Plos One*, 10(9), 1–22. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0137717>

Oever, J. ten, & Netea, M. G. (2014). The bacteriome-mycobiome interaction and antifungal host defense. *European Journal of Immunology*, 44(11), 3182–3191. <https://doi.org/10.1002/eji.201344405>

Panezai, J. (2018). *Periodontal Medicine: Oral inflammatory conditions with special*

emphasis on immunological aspects. (Master Thesis, Karolinska Institutet)

Pankhurst, C. L. (2013). Candidiasis (oropharyngeal). *BMJ Clinical Evidence*, 6(4), 253–261.

Pascal, V., Pozuelo, M., Borruel, N., Casellas, F., Campos, D., Santiago, A., Martinez, X., Varela, E., Sarrabayrouse, G., Machiels, K., Vermeire, S., Sokol, H., Guarner, F., & Manichanh, C. (2017). A microbial signature for Crohn's disease. *Gut*, 66(5), 813–822. <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2016-313235>

Patel, P. K., Erlandsen, J. E., Kirkpatrick, W. R., Berg, D. K., Westbrook, S. D., Loudon, C., Cornell, J. E., Thompson, G. R., Vallor, A. C., Wickes, B. L., Wiederhold, N. P., Redding, S. W., & Patterson, T. F. (2012). The changing epidemiology of oropharyngeal candidiasis in patients with VIH/AIDS in the era of antiretroviral therapy. *AIDS Research and Treatment*, 2012, 1–5. <https://doi.org/10.1155/2012/262471>

Peay, K. G., Kennedy, P. G., & Talbot, J. M. (2016). Dimensions of biodiversity in the Earth mycobiome. *Nature Reviews Microbiology*, 14(7), 434–447. <https://doi.org/10.1038/nrmicro.2016.59>

Pereira, D., Seneviratne, C., Koga-Ito, C., & Samaranayake, L. (2018). Is the oral fungal pathogen *Candida albicans* a cariogen? *Oral Diseases*, 24(4), 518–526. <https://doi.org/10.1111/odi.12691>

Perera, M., Al-Hebshi, N. N., Perera, I., Ipe, D., Ulett, G. C., Speicher, D. J., Chen, T., & Johnson, N. W. (2017). A dysbiotic mycobiome dominated by *Candida albicans* is identified within oral squamous-cell carcinomas. *Journal of Oral Microbiology*, 9(1), 1–9. <https://doi.org/10.1080/20002297.2017.1385369>

Persoon, I. F., Buijs, M. J., Özok, A. R., Crielaard, W., Krom, B. P., Zaura, E., & Brandt, B. W. (2017). The mycobiome of root canal infections is correlated to the bacteriome. *Clinical Oral Investigations*, 21(5), 1871–1881. <https://doi.org/10.1007/s00784-016-1980-3>

Perusquía-Ortiz, A. M., Vázquez-González, D., & Bonifaz, A. (2012). Opportunistische filamentöse Mykosen: Aspergillose, Mukormykose, Phäohypho- und

Hyalohyphomycosis. *JDDG - Journal of the German Society of Dermatology*, 10(9), 611–621. <https://doi.org/10.1111/j.1610-0387.2012.07994.x>

Peters, B. A., Wu, J., Hayes, R. B., & Ahn, J. (2017). The oral fungal mycobiome: Characteristics and relation to periodontitis in a pilot study. *BMC Microbiology*, 17(1), 157. <https://doi.org/10.1186/s12866-017-1064-9>

Pinjon, E., Moran, G. P., Coleman, D. C., & Sullivan, D. J. (2005). Azole susceptibility and resistance in *Candida dubliniensis*. *Biochemical Society Transactions*, 33(5), 1210–1214. <https://doi.org/10.1042/BST20051210>

Rai, S., Misra, D., Misra, A., Jain, A., Jain, P., & Dhawan, A. (2018). Palatal mucormycosis masquerading as bacterial and fungal osteomyelitis: A rare case report. *Contemporary Clinical Dentistry*, 9(2), 309–313. https://doi.org/10.4103/ccd.ccd_743_17

Raja, H. A., Miller, A. N., Pearce, C. J., & Oberlies, N. H. (2017). Fungal Identification Using Molecular Tools: A Primer for the Natural Products Research Community. *Journal of Natural Products*, 80(3), 756–770. <https://doi.org/10.1021/acs.jnatprod.6b01085>

Rosier, B. T., Marsh, P. D., & Mira, A. (2018). Resilience of the Oral Microbiota in Health: Mechanisms That Prevent Dysbiosis. *Journal of Dental Research*, 97(4), 371–380. <https://doi.org/10.1177/0022034517742139>

Salvatori, O., Puri, S., Tati, S., & Edgerton, M. (2016). Innate immunity and saliva in candida albicans -mediated oral diseases. *Journal of Dental Research*, 95(4), 365–371. <https://doi.org/10.1177/0022034515625222>

Samaranayake, L. (2018). *Essential Microbiology for Dentistry*. London: Elsevier.

Samaranayake, L. P., Keung Leung, W., & Jin, L. (2009). Oral mucosal fungal infections. *Periodontology 2000*, 49(1), 39–59. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0757.2008.00291.x>

Sankari, S. L., Gayathri, K., Balachander, N., & Malathi, L. (2015). Candida in potentially malignant oral disorders. In *Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences*, 7(1) 162–164. <https://doi.org/10.4103/0975-7406.155886>

Schlecht, L. M., Peters, B. M., Krom, B. P., Freiberg, J. A., Hänsch, G. M., Filler, S. G., Jabra-Rizk, M. A., & Shirtliff, M. E. (2015). Systemic *Staphylococcus aureus* infection mediated by *Candida albicans* hyphal invasion of mucosal tissue. *Microbiology*, *161*(1), 168–181. <https://doi.org/10.1099/mic.0.083485-0>

Schoch, C. L., Seifert, K. A., Huhndorf, S., Robert, V., Spouge, J. L., Levesque, C. A., Chen, W., Bolchacova, E., Voigt, K., Crous, P. W., Miller, A. N., Wingfield, M. J., Aime, M. C., An, K. D., Bai, F. Y., Barreto, R. W., Begerow, D., Bergeron, M. J., Blackwell, M., ... Schindel, D. (2012). Nuclear ribosomal internal transcribed spacer (ITS) region as a universal ADN barcode marker for Fungi. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *109*(16), 6241–6246. <https://doi.org/10.1073/pnas.1117018109>

Shelburne, S. A., Ajami, N. J., Chibucos, M. C., Beird, H. C., Tarrand, J., Galloway-Peña, J., Albert, N., Chemaly, R. F., Ghantaji, S. S., Marsh, L., Pemmaraju, N., Andreeff, M., Shpall, E. J., Wargo, J. A., Rezvani, K., Alousi, A., Bruno, V. M., Futreal, P. A., Petrosino, J. F., & Kontoyiannis, D. P. (2015). Implementation of a pan-genomic approach to investigate holobiont-infecting microbe interaction: A case report of a leukemic patient with invasive mucormycosis. *PLoS ONE*, *10*(11), 1–17. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0139851>

Shen, X., Yao, Y. F., Li, J. Y., & Li, Y. (2019). Human mycobiome and diseases. *Hua Xi Kou Qiang Yi Xue Za Zhi = Huaxi Kouqiang Yixue Zazhi = West China Journal of Stomatology*, *37*(3), 314–319. <https://doi.org/10.7518/hxkq.2019.03.017>

Silk, H. (2014). Diseases of the mouth. *Primary Care - Clinics in Office Practice*, *41*(1), 75–90. <https://doi.org/10.1016/j.pop.2013.10.011>

Sodré, C. S., Rodrigues, P. M. G., Vieira, M. S., Marques Paes da Silva, A., Gonçalves, L. S., Ribeiro, M. G., & Carvalho Ferreira, D. de. (2020). Oral mycobiome identification in atopic dermatitis, leukemia, and VIH patients – a systematic review. *Journal of Oral Microbiology*, *12*(1), 1–18. <https://doi.org/10.1080/20002297.2020.1807179>

Souza, M. N., Ortiz, S. O., Mello, M. M., Oliveira, F. de M., Severo, L. C., & Goebel, C. S. (2015). Comparação entre quatro métodos usuais de identificação de espécies de *Candida*. *Revista Do Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo*, *57*(4), 281–287.

<https://doi.org/10.1590/S0036-46652015000400002>

Stehlikova, Z., Tlaskal, V., Galanova, N., Roubalova, R., Kreisinger, J., Dvorak, J., Prochazkova, P., Kostovcikova, K., Bartova, J., Libanska, M., Cermakova, R., Schierova, D., Fassmann, A., Borilova Linhartova, P., Coufal, S., Kverka, M., Izakovicova-Holla, L., Petanova, J., Tlaskalova-Hogenova, H., & Jiraskova Zakostelska, Z. (2019). Oral Microbiota Composition and Antimicrobial Antibody Response in Patients with Recurrent Aphthous Stomatitis. *Microorganisms*, 7(12), 636. <https://doi.org/10.3390/microorganisms7120636>

Tamgadge, A., Mengi, R., Tamgadge, S., & Bhalerao, S. (2012). Chronic invasive aspergillosis of paranasal sinuses: A case report with review of literature. *Journal of Oral and Maxillofacial Pathology*, 16(3), 460–464. <https://doi.org/10.4103/0973-029X.102522>

Tiew, P. Y., Mac Aogain, M., Ali, N. A. B. M., Thng, K. X., Goh, K., Lau, K. J. X., & Chotirmall, S. H. (2020). The Mycobioome in Health and Disease: Emerging Concepts, Methodologies and Challenges. *Mycopathologia*, 185(2), 207–231. <https://doi.org/10.1007/s11046-019-00413-z>

Underhill, D. M., & Iliev, I. D. (2014). The mycobiota: Interactions between commensal fungi and the host immune system. In *Nature Reviews Immunology*, 14(6) 405–416. <https://doi.org/10.1038/nri3684>

Urs, A. B., Singh, H., Nunia, K., Mohanty, S., & Gupta, S. (2015). Post endodontic Aspergillosis in an immunocompetent individual. *Journal of Clinical and Experimental Dentistry*, 7(4), 535–539. <https://doi.org/10.4317/jced.52247>

Vázquez-González, D., Perusquía-Ortiz, A. M., Hundeiker, M., & Bonifaz, A. (2013). Opportunistic yeast infections: candidiasis, cryptococcosis, trichosporonosis and geotrichosis. *JDDG: Journal Der Deutschen Dermatologischen Gesellschaft*, 11(5), 381–394. <https://doi.org/10.1111/ddg.12097>

Vesty, A., Gear, K., Biswas, K., Radcliff, F. J., Taylor, M. W., & Douglas, R. G. (2018). Microbial and inflammatory-based salivary biomarkers of head and neck squamous cell carcinoma. *Clinical and Experimental Dental Research*, 4(6), 255–262.

<https://doi.org/10.1002/cre2.139>

Vidyanath, S., Shameena, P., Sudha, S., & Nair, R. (2013). Disseminated histoplasmosis with oral and cutaneous manifestations. *Journal of Oral and Maxillofacial Pathology*, *17*(1), 1–4. <https://doi.org/10.4103/0973-029X.110722>

Wade, W. G. (2013). The oral microbiome in health and disease. *Pharmacological Research*, *69*(1), 137–143. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2012.11.006>

Wadhwa, A., Kaur, R., & Bhalla, P. (2010). *Saccharomyces cerevisiae* as a cause of oral thrush & diarrhoea in an VIH/ AIDS patient. *Tropical Gastroenterology : Official Journal of the Digestive Diseases Foundation*, *31*(3), 227–228.

Wang, K., Lu, W., Tu, Q., Ge, Y., He, J., Zhou, Y., Gou, Y., Van Nostrand, J. D., Qin, Y., Li, J., Zhou, J., Li, Y., Xiao, L., & Zhou, X. (2016). Preliminary analysis of salivary microbiome and their potential roles in oral lichen planus. *Scientific Reports*, *6*, 1–10. <https://doi.org/10.1038/srep22943>

Williams, D., & Lewis, M. (2000). Oral Microbiology: Isolation and identification of candida from the oral cavity. *Oral Diseases*, *6*(1), 3–11. <https://doi.org/10.1111/j.1601-0825.2000.tb00314.x>

Wong, K. F. (2010). Marrow Penicilliosis. *American Journal of Clinical Pathology*, *134*(2), 214–218. <https://doi.org/10.1309/AJCPWVBQCW13DJLO>

Wong, S. Y. N., & Wong, K. F. (2011). *Penicillium marneffe*i Infection in AIDS . *Pathology Research International*, *2011*, 1–10. <https://doi.org/10.4061/2011/764293>

Xu, H., & Dongari-Bagtzoglou, A. (2015). Shaping the oral mycobiota: Interactions of opportunistic fungi with oral bacteria and the host. In *Current Opinion in Microbiology*, *26*, 65–70. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2015.06.002>

Zakaria, M. N., Furuta, M., Takeshita, T., Shibata, Y., Sundari, R., Eshima, N., Ninomiya, T., & Yamashita, Y. (2017). Oral mycobiome in community-dwelling elderly and its relation to oral and general health conditions. *Oral Diseases*, *23*(7), 973–982. <https://doi.org/10.1111/odi.12682>

Zhang, Y., Wang, X., Li, H., Ni, C., Du, Z., & Yan, F. (2018). Human oral microbiota and its modulation for oral health. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, *99*, 883–893. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.01.146>

Zomorodian, K., Kavooosi, F., Pishdad, G. R., Mehriar, P., Ebrahimi, H., Bandegani, A., & Pakshir, K. (2016). Prevalence of oral *Candida* colonization in patients with diabetes mellitus. *Journal de Mycologie Médicale*, *26*(2), 103–110. <https://doi.org/10.1016/j.mycmed.2015.12.008>

ANEXOS

Anexo 1 - Autorização da Figura 1

McComsey, Grace 

Anteontem 10:50



Re: Authorization to use text and images

Para: Fabiana de Deus, grace.mccomsey@case.edu

Sure , go ahead, please make sure you acknowledge the source of the figure
Thanks,

Grace A McComsey, MD, FIDSA
Vice President of Research and Associate Chief Scientific Officer, University Hospitals Health System
Director, UH Clinical Research Center
Director, Dahms Clinical Research Unit
John Kennell Endowed Chair
Chief, Pediatric Infectious Diseases
Professor of Pediatrics and Medicine
Case Western Reserve University
216-844-5936

[Ver Tudo de Fabiana de Deus](#)

Visit us at www.UHhospitals.org.

The enclosed information is STRICTLY CONFIDENTIAL and is intended for the use of the addressee only. University Hospitals and its affiliates disclaim any responsibility for unauthorized disclosure of this information to anyone other than the addressee.

Federal and Ohio law protect patient medical information, including psychiatric_disorders, (H.I.V) test results, A.I.Ds-related conditions, alcohol, and/or drug_dependence or abuse disclosed in this email. Federal regulation (42 CFR Part 2) and Ohio Revised Code section 5122.31 and 3701.243 prohibit disclosure of this information without the specific written consent of the person to whom it pertains, or as otherwise permitted by law.

Anexo 2 - Autorização da Figura 3

☆ **Nezar Al-Hebshi**

2 de julho de 2020 15:52



Re: [External] Authorization to use text and Images

Para: Fabiana de Deus



Hi Fabiana,

Thank you for your request. You have my approval to reuse my figure. The content of the paper is available under the Creative Commons Attribution License (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Best

Nezar Al-Hebshi, PhD

Associate Research Professor

Co-director, Oral Microbiome Laboratory

Kornberg School of Dentistry, Temple University

3223 N Broad Street, Philadelphia, PA 19140

Phone: +1-215-707-2091

Laboratory website: <https://dentistry.temple.edu/research/laboratories-centers/oral-microbiome-research-laboratory-0>

Google scholar: <http://scholar.google.com/citations?user=k7OTm24AAAAJ&hl=en>

Research Gate: https://www.researchgate.net/profile/Nezar_Al-Hebshi

Researcher ID: <http://www.researcherid.com/rid/J-9180-2013>

[Ver Tudo de Fabiana de Deus](#)

Anexo 3 - Autorização da Figura 4

This is an open access article distributed under Creative Commons Attribution License which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Anexo 4 - Autorização da Figura 5

r **Fabiana de Deus**

1 de setembro de 2020 16:10

Re: Autorização para o uso...

[Detalhes](#)

FD

Para: Camila Stofella

Boa tarde Dr^a Camila Sodré,

Escrevo para comunicar-te que obtive a seguinte resposta ao meu questionamento sobre utilizar uma imagem do vosso trabalho:

Este   um artigo de acesso aberto distribuído nos termos da licena Creative Commons CC BY, que permite o uso irrestrito, distribuio, reproduo em qualquer meio, desde que o trabalho original seja devidamente citado.

Você não   obrigado a obter permissão para reutilizar este artigo parcial ou totalmente

Agradeo novamente a ateno. Vossa imagem será referenciada,

Obrigada!

Fabiana de Deus


[Ver Tudo de Fabiana de Deus](#)

Anexo 5 - Autorização da Figura 7

☆ **Nicholas Oberlies** ▾

Re: Authorization to use the...

Para: Fabiana de Deus

 A Siri encontrou novas informações de contato neste e-mail: Nicholas Oberlies n_oberli@uncg.edu

Hi Fabiana:

Go ahead and use the image. You have my permission to use it for this course work purpose.

I wish you good luck. I hope that our paper was helpful for you.

Sincerely, Nick

[Ver Tudo de Fabiana de Deus](#)

—

Nicholas H. Oberlies, Ph.D.
Patricia A. Sullivan Distinguished Professor of Chemistry

Department of Chemistry and Biochemistry
University of North Carolina at Greensboro
336-334-5474

Nicholas_Oberlies@uncg.edu
<https://chem.uncg.edu/oberlies/>