



INSTITUTO UNIVERSITÁRIO EGAS MONIZ

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA DENTÁRIA

**MEDIDAS PROFILÁTICAS PARA A ENDOCARDITE
INFECCIOSA PROVOCADA POR BACTÉRIAS DA CAVIDADE
ORAL**

Trabalho submetido por
Gonçalo Filipe de Aguiar Pontes
para a obtenção do grau de Mestre em Medicina Dentária

Setembro de 2022



INSTITUTO UNIVERSITÁRIO EGAS MONIZ

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA DENTÁRIA

**MEDIDAS PROFILÁTICAS PARA A ENDOCARDITE
INFECCIOSA PROVOCADA POR BACTÉRIAS DA CAVIDADE
ORAL**

Trabalho submetido por
Gonçalo Filipe de Aguiar Pontes
para a obtenção do grau de Mestre em Medicina Dentária

Trabalho orientado por
Prof. Doutor Nuno Laranjeira

E coorientado por
Dr. José Manuel Feliz

Setembro de 2022

AGRADECIMENTOS

Quero manifestar a mais profunda gratidão à minha família, pelo amor, compreensão, por acreditarem em mim e pelo suporte que sempre me deram, obrigado.

Aos professores orientadores, Prof. Dr. Nuno Laranjeira e Dr. José Feliz pela paciência, simpatia e generosidade que me foi facultada, obrigado.

Ao IUEM, e ao seu corpo de docentes, pela excelência e rigor do seu ensino, pela infindável paciência e pelo apoio e oportunidades dadas, obrigado.

Aos meus colegas de box, Sofia, João e Joana, pelas horas bem passadas dentro e fora da Clínica Universitária, obrigado.

A todos os amigos e amigas que fiz durante o curso, pelos bons momentos, pelo apoio, pela cooperação, obrigado.

RESUMO

A Endocardite Infecciosa é uma patologia cardíaca causada pela presença de microorganismos nos tecidos endocárdico e cardiovalvular. O tratamento desta patologia envolve a identificação do organismo causador, e a aplicação de agentes antibióticos adequados ao combate contra esse agente patogénico específico. Em grupos de risco, é comum recorrer a profilaxia antibiótica para evitar o aparecimento de endocardite.

Este trabalho tem como objectivo identificar bactérias da flora oral humana, passíveis de causar endocardite infecciosa, e descrever medidas de profilaxia eficazes para cada uma. Para o efeito, foi realizada uma revisão da literatura científica, com o recurso à pesquisa de fontes obtidas nas bases de dados PubMed, Medline, B-on, e Google Scholar.

A flora bacteriana capaz de despoletar um caso de endocardite pode provir da cavidade oral, que serve de habitat a um número considerável de espécies de microorganismos. Estas têm a capacidade de se organizar num biofilme, composto por bactérias e pelas estruturas tridimensionais que estas criam.

Verificou-se que algumas bactérias do biofilme oral, como *Staphylococcus mitis*, *Candida* e *Streptococcus* do grupo *viridans* têm a capacidade de iniciar casos de endocardite infecciosa. Em procedimentos dentários invasivos, existe o risco de entrada de bactérias na corrente sanguínea, tendo estas a partir daí acesso directo ao coração. A profilaxia antibiótica tem como objectivo o combate preventivo destes agentes microbiológicos antes que estes se estabeleçam no coração.

Verificou-se também que as guidelines que ditam a toma profilática de antibióticos têm evoluído ao longo do tempo, tendo em conta o aparecimento de novas evidências científicas. Nota-se uma tendência para maior restrição dos casos em que profilaxia é aplicada. Os antibióticos usados são geralmente de largo espectro, como a amoxicilina.

Conclui-se que a relação custo/benefício para a administração profilática de antibióticos tem vindo a ser posta em causa por vários estudos, e que estes antibióticos têm de ser de largo espectro, dado o número de agentes patológicos diferentes a combater, que têm origem na cavidade oral.

Palavras-chave: anti_biofilme; biofilme_oral; endocardite_infeciosa; profilaxia

ABSTRACT

Infectious Endocarditis is a cardiac pathology caused by the presence of microorganisms in the endocardial and cardiovalvular tissues. The treatment of this pathology involves the identification of the organism causing it, and the application of appropriate antibiotic agents to combat this specific pathogen. In risk groups, it is common to resort to antibiotic prophylaxis to prevent the onset of endocarditis.

This work aims to identify bacteria pertaining to the human oral flora that are likely to cause a case of infective endocarditis, and to describe effective prophylaxis measures for each one. For this purpose, a review of scientific literature was carried out, by perusing the PubMed, Medline, B-on, and Google Scholar databases, using the keywords mentioned below.

The bacterial flora capable of triggering cases of endocarditis may come from the oral cavity, which serves as a habitat for a considerable number of species of microorganisms. These have the ability to organize themselves into a biofilm, composed of bacteria and the three-dimensional structures they create.

It was found that some bacteria of the oral biofilm, such as *Staphylococcus mitis*, *Candida* and *Streptococcus* of the *viridans* group, have the ability to trigger cases of infective endocarditis. In invasive dental procedures, there is a risk of bacteria entering the bloodstream, giving them direct access to the heart. The antibiotic prophylaxis aims to preemptively combat these microbiological agents before they establish themselves in the heart.

It was also found that the guidelines that dictate the prophylactic use of antibiotics have evolved over time, taking into account the emergence of new scientific evidence, with a trend towards greater restriction of cases in which prophylaxis is administered, and when it is so, it tends to be with broad-spectrum antibiotics, such as amoxicillin.

It is concluded that the cost/benefit ratio for the prophylactic administration of antibiotics has been questioned by several studies, and that the antibiotics used have to be of broad-spectrum compounds, given the number of different pathological agents to be combated, which have their origins in the oral cavity.

Keywords: anti_biofilm; oral_biofilm; infective_endocarditis; prophylaxis

ÍNDICE GERAL

| | |
|---|-----------|
| Resumo..... | 1 |
| Abstract | 3 |
| Índice Geral..... | 5 |
| Índice de figuras..... | 9 |
| Índice de tabelas..... | 11 |
| Lista de Abreviaturas..... | 13 |
| 1 Introdução..... | 15 |
| 2 Microbioma humano Oral..... | 16 |
| 2.1 Definição de microbioma..... | 17 |
| 2.2 Microbioma do individuo em saúde..... | 18 |
| 2.2.1 Microbioma oral do individuo em saúde..... | 19 |
| 2.3 Microbioma do indivíduo em estado de doença..... | 20 |
| 2.4 Factores que influenciam a saúde do microbioma..... | 21 |
| 2.5 Importância do microbioma..... | 21 |
| 2.6 Diversidade de espécies..... | 22 |
| 2.6.1 Espécies específicas relevantes no microbioma oral..... | 22 |
| 2.6.2 <i>Streptococcus viridians</i> | 22 |
| 2.6.3 <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | 25 |
| 2.6.4 <i>Klebsiella pneumoniae</i> | 25 |
| 2.6.5 <i>Candida</i> | 26 |
| 2.6.5.1 Taxonomia..... | 27 |
| 2.6.5.2 Epidemiologia de <i>Candida</i> | 28 |
| 2.6.5.3 Dimorfismo..... | 29 |
| 2.6.5.4 Virulência..... | 29 |
| 2.6.5.5 Enzimas..... | 32 |
| 2.6.5.6 Variabilidade fenotípica de <i>Candida</i> | 33 |
| 3. Biofilme Oral..... | 33 |
| 3.1 Definição do biofilme..... | 33 |
| 3.2 Formação de biofilme..... | 34 |

| | | |
|----------|---|-----------|
| 3.2.1 | Fase de adesão..... | 34 |
| 3.2.2 | Fase de maturação..... | 35 |
| 3.2.3 | Fase de dispersão..... | 36 |
| 3.3 | Colonizadores primários e secundários da cavidade oral..... | 36 |
| 3.3.1 | Colonizadores primários..... | 36 |
| 3.3.2 | Colonizadores secundários..... | 37 |
| 3.4 | Factores de Hospedeiro que afectem a formação do biofilme..... | 37 |
| 3.5 | Morfologia e arquitetura do biofilme..... | 39 |
| 3.5.1 | Fenómeno do Quorum Sensing..... | 41 |
| 3.6 | Placa bacteriana como biofilme..... | 42 |
| 3.7 | Patologias desenvolvidas a partir do Biofilme Oral..... | 44 |
| 3.7.1 | Periodontite..... | 44 |
| 3.7.2 | Endodontite..... | 45 |
| 3.7.3 | Candididose Oral..... | 47 |
| 3.7.4 | Cárie..... | 47 |
| 3.7.5 | Estomatite..... | 47 |
| 3.7.6 | Infeção Orofaríngea e Respiratória..... | 48 |
| 3.7.7 | Carcinoma Oral..... | 48 |
| 3.8 | Mecanismos de defesa do hospedeiro..... | 49 |
| 3.9 | Biomateriais dentários e a sua interacção com o microbioma..... | 51 |
| 3.9.1 | Propriedades dos materiais dentários..... | 52 |
| 4 | Endocardite..... | 57 |
| 4.1 | Manifestações clínicas..... | 58 |
| 4.2 | Diagnóstico..... | 60 |
| 4.3 | Etiologia..... | 61 |
| 4.4 | Epidemiologia..... | 63 |
| 4.4.1 | Idosos..... | 64 |
| 4.3.2 | Utilizadores de drogas injectáveis..... | 65 |
| 4.5 | Profilaxia..... | 66 |

| | | |
|---------|---|-----------|
| 4.5.1 | Complicações associadas à profilaxia..... | 68 |
| 4.6 | Terapêutica..... | 69 |
| 4.6.1 | Terapêutica antibacteriana..... | 69 |
| 4.6.1.1 | Enterococcus..... | 69 |
| 4.6.1.2 | Streptococcus..... | 71 |
| 4.6.1.3 | Staphylococcus..... | 73 |
| 4.6.1.4 | Outros Microorganismos..... | 75 |
| 4.6.2 | Terapêutica antifúngica..... | 75 |
| 5 | Conclusão..... | 77 |
| 6 | Bibliografia..... | 81 |

ÍNDICE DE FIGURAS

| | |
|--|----|
| Figura 1 - Evolução do biofilme..... | 33 |
| Figura 2 - Fases de formação do biofilme..... | 35 |
| Figura 3 - Fases de adesão do biofilme em diferentes superfícies..... | 37 |
| Figura 4 - Depósitos de biofilme devido a streptococcus viridans envolvendo a valvula mitral..... | 60 |

ÍNDICE DE TABELAS

| | |
|--|----|
| Tabela 1 – Resposta de diferentes espécies de <i>S. viridans</i> a diversos testes de identificação..... | 18 |
| Tabela 2 – Classificação taxonómica do género <i>Candida</i> | 21 |
| Tabela 3 – Modified Duke Criteria para o diagnóstico clínico de Endocardite Infecçiosa..... | 62 |
| Tabela 4 – Microorganismos causadores de diversas formas de Endocardite..... | 63 |
| Tabela 5 – Regimes de ATB para profilaxia de endocardite em adultos com lesões cardíacas de alto risco..... | 69 |
| Tabela 6 – Terapias antibióticas para tratamento de endocardites causadas por <i>Enterococcus</i> | 74 |
| Tabela 7 – Terapias antibióticas para tratamento de endocardites causadas por <i>Streptococcus</i> | 75 |
| Tabela 8 – Terapias antibióticas para tratamento de endocardites causadas por <i>Staphylococcus</i> | 76 |
| Tabela 9 – Fármacos antifúngicos e as suas características..... | 79 |

LISTA DE ABREVIATURAS

AHA – “Associação Americana no Coração” em português. Sigla da expressão em inglês “American Heart Association”

AVC – Acidente Vascular Cerebral

ATB – Antibiótico

CIEDs – “Dispositivos Eletrônicos Implantados Cardiovasculares” em português. Sigla da expressão em inglês “Cardiovascular Implanted Electronic Devices”

CMI – Concentração Mínima Inibitória

CoNS – Coagulase Negative *Staphylococcus* (*Staphylococcus* coagulase-negativos)

EI – Endocardite Infeciosa

ESC – “Sociedade Europeia de Cardiologia” em português. Sigla da expressão em inglês “European Society of Cardiology”

EUA – Estados Unidos da América

HACEK – *Haemophilus*, *Aggregibacter*, *Cardiobacterium hominis*, *Eikenella corrodens*, & *Kingella kingae*

MRSA – Meticilin Resistant *Staphylococcus Aureus* (*S. aureus* metilina-resistente)

MSSA – Meticilin Sensitive *Staphylococcus Aureus* (*S. aureus* metilina-vulnerável)

NICE – “Instituto Nacional de Excelência de saúde & Cuidados” em português. Sigla da expressão em inglês “National Institute for health & Care Excellence”

NVE – “Endocardite de Válvula Nativa” em português. Sigla da expressão em inglês “Native Valve Endocarditis”

PVE – “Endocardite de Prótese Valvular” em português. Sigla da expressão em inglês “Prosthetic Valve Endocarditis”

1 INTRODUÇÃO

O presente trabalho tem como objectivo identificar as bactérias presentes no microbioma oral humano, capazes de despoletar um caso de endocardite infecciosa, e descrever medidas de profilaxia eficazes para cada uma.

Para a elaboração desta monografia, foi feita uma pesquisa bibliográfica, a partir das bases de dados PubMed, B-On e Google Scholar, pesquisando artigos e livros em língua portuguesa e inglesa dos últimos anos.

O microbioma humano tem na sua composição uma variedade de bactérias, vírus e fungos comensais a cada diferente região do corpo humano. Na cavidade oral, este microbioma tem mais de 700 espécies microbiais identificadas. Deste número, há variadas espécies capazes de interagir entre si, levando à criação de estruturas complexas tridimensionais denominadas de biofilme (Dewhirst et al., 2010; Flemming et al., 2016)

O termo “biofilme”, cunhado por Costerton e colegas em 1978. pode ser definido como sendo formado por uma matriz extracelular polimérica, de natureza dinâmica, criada por bactérias de diferentes espécies que nele vivem, formando um ecossistema. Na cavidade oral, este biofilme pode formar o que conhecemos por placa bacteriana dentária (Yumoto et al., 2019). Desde há muito que se conhece o potencial patogénico do biofilme oral, que pode auxiliar o desenvolvimento de doenças locais como a candidíase, periodontite, carie, entre outras (Morse et al. 2018). Como a formação de biofilme contribui também para o aumento da patogenicidade e resistência antibiótica, deverão existir estratégias para minorar este problema. Perante os estudos de Wu et al. que avisam sobre o aumento de infecções por biofilme associadas a objectos estranhos ao corpo, retira-se daqui que a remoção de qualquer corpo estranho em contacto com tecido humano, aliada a uma toma de antibióticos correcta e razoavelmente agressiva ajuda a evitar esta situação. O biofilme tem também possibilidade de desencadear patologias de natureza sistémica, como a Endocardite infecciosa. Várias espécies de bactérias presentes no biofilme oral, como *S. mitis* e *S. sanguinis* foram associadas ao aparecimento desta patologia (Cole, 2020; Jenkinson, Lamont, Hajishengallis, & Koo, 2016; Jesus, 2016; Moulhade, Kawski, & Maurier, 2020).

A Endocardite Infeciosa em si é uma patologia que é caracterizada por uma colonização bacteriana dos tecidos nativos ou prostéticos do músculo endocárdico ou das suas estruturas valvulares. Inicialmente descrita em 1554 por Jean Fernel, causada pela

presença de flora bacteriana no tecido endocárdico e cardiovalvular, provoca a deposição de coágulos, e a destruição de tecido, predominantemente valvular. Tem como sintomas clínicos febre alta, frequência cardíaca elevada (+100bpm), fadiga generalizada, e aparecimento de provas de insuficiência cardíaca na sua forma aguda, com possibilidade de coágulos formados no tecido cardiovalvular se desprenderem, podendo causar êmbolos a jusante, com graves consequências (Cole, 2020; Jenkinson, Lamont, Hajishengallis, & Koo, 2016; Jesus, 2016; Moulhade, Kawski, & Maurier, 2020; Roy et al., 2018; Thajuddin, 2016).

A endocardite tem uma taxa de mortalidade hospitalar de cerca de 20%, subindo esta para 40% passados 5 anos, tendo também altos custos associados com a sua morbilidade, com hospitalizações e cirurgia a serem comuns nas fases mais avançadas da doença. Em grupos de risco como portadores de prótese valvular, indivíduos com o sistema imunológico debilitado ou portadores de defeito cardíaco congénito, a estratégia mais comum para evitar a evolução negativa desta condição passa pela aplicação de medidas profiláticas (Campagne et al., 2020; Chan & Embil, 2016; Da Fonseca, De Almeida Rangel, Da Silva Gottardi, Lyrio, & Bombarda Nunes, 2018; Forgie, 2016).

2 Microbioma Humano Oral

2.1 Definição de microbioma

Podemos definir microbioma como sendo o conjunto de microorganismos comensais e patogénicos que vivem em comunidade com as células de um hospedeiro, podendo ser críticos no estado de saúde deste último. Chamamos ao conjunto de microorganismos existentes na cavidade oral, de microbioma oral. (Dewhirst et al., 2010; Hanson & Weinstock, 2016; Lederberg & McCray, 2001).

2.2 Microbioma Oral do Indivíduo São

O microbioma oral integra uma diversidade de bactérias, fungos e vírus, estando descritas cerca de 1000 espécies de microorganismos. (Morse et al., 2018). O aparelho digestivo no seu todo alberga a maior e mais diversificada comunidade bacteriana presente no corpo humano. Na cavidade oral, parte desse sistema conta com bactérias que colonizam as superfícies dos tecidos moles da mucosa oral e dos tecidos duros

dentários com cerca de 700 espécies descritas. (Kilian et al., 2016; Øilo & Bakken, 2015).

Estes microorganismos são capazes de coexistir com o hospedeiro, estabelecendo um sistema de relações de benefício mútuo. Ao ocupar o habitat que a cavidade oral fornece, os microorganismos comensais impedem a colonização da cavidade oral por microorganismos externos, potencialmente patogénicos. No entanto, qualquer perturbação que afecte o equilíbrio deste sistema de relações sinérgicas pode levar à propagação de patógenos provocando doenças não só orais, mas também sistémicas, dada a fácil dispersão possível ao resto do corpo, através da corrente sanguínea, pela cavidade oral (Avila, Ojcius, & Ylmaz, 2009; P. Marsh & Martin, 2005b; Wade, 2013).

A cavidade oral é um complexo sistema de estruturas biológicas duras e moles. É formado por dentes, gengivas, sulcos gengivais, bochechas, língua, palato duro e mole, e lábios, tendo como estruturas anexas as amígdalas, faringe, esófago, traqueia, seios nasais, pulmões e ouvido médio (Dewhirst et al., 2010; Ion & Chetruş, 2013; Kolenbrander, Palmer, Periasamy, & Jakobovics, 2010). Ela possui várias características que auxiliam a manutenção de um equilíbrio microbiológico dinâmico ao guiar o desenvolvimento, quantidade, composição e facilidade de coabitação entre microorganismos de cada parte do habitat oral.

Factores intrínsecos ao hospedeiro, bem como a saliva apresentam-se como importante ferramenta na regulação de factores, como o pH, humidade, temperatura, factores de adesão e co-agregação, potencial de oxirredução e nutrição disponível para o florescer de um microbioma (Avila et al., 2009; Ureña, Mondelo, Cubillos, & Estévez, 2002; Zarco et al., 2012).

Temos, porém, de ter em conta que devido a características intrínsecas às suas superfícies duras e moles, como humidade, temperatura, hidrofobicidade, rugosidade e presença de nutrientes como a glucose, a cavidade oral serve também como habitat ideal para a colonização por espécies microbianas e subsequente criação de biofilme. (Seabra, 2011).

Pelo contacto contínuo com o exterior que ocorre na boca, existem várias formas de desestabilizar o equilíbrio dinâmico do seu microbioma, sendo proeminentes a negligente higiene oral do indivíduo, a idade e características genéticas do mesmo ou mesmo alterações pontuais do seu sistema imunitário (Filoche, Wong & Sissins, 2010)

2.2.1 Microbioma oral do indivíduo em saúde

O microbioma oral está em desenvolvimento constante. A saúde geral de um indivíduo pode ser influenciada pela saúde oral dado que a boca pode ser vista como um ecossistema de bastante diversidade, com diferentes partes da mesma, como os dentes, a língua, os lábios, o palato mole e duro, a gengiva aderida, o sulco gengival e a mucosa jugal, assim como estruturas anexas, como o esófago, amígdalas, faringe, ouvido médio e seios nasais a servir de habitat a diferentes comunidades bacterianas. A complexidade deste microbioma aumenta concomitantemente com o desenvolvimento do hospedeiro humano. (Kilian et al., 2016; Xu et al., 2015).

O modo de nascimento, parto natural ou cesariana, altera o tipo de microorganismos a que o indivíduo está exposto primeiro. Partos naturais promovem a exposição a *Candida* e *Lactobacillus*, por exemplo. Mesmo a alimentação dada ao indivíduo nesta primeira etapa da vida influencia a biodiversidade do microbioma. Indivíduos alimentados a leite materno têm uma maior taxa de *Lactobacillus* quando comparados com os que são alimentados a leite artificial (Dewhirst et al., 2010; Killian et al., 2016).

Durante os primeiros meses ocorre o aumento da diversidade de espécies presentes no meio oral. As primeiras espécies colonizadoras, ou espécies pioneiras costumam ser da família *Streptococcus*, especificamente *S. mitis*, *S. oralis* e *S. salivaris* (Marsh, 2000).

É nesta altura que aparecem também as primeiras bactérias Gram negativo, a primeira das quais é frequentemente a *Prevotella melaninogenica* (Marsh, 2000).

O momento da erupção dos dentes é de grande significado, pois constitui o aparecimento na cavidade oral de superfícies duras, passíveis de colonização por diferentes espécies de bactérias. Tanto o aparecimento dos primeiros decíduos como a substituição dos mesmos pelos definitivos favorece a presença de *Streptococcus Sanguis* e *S. mutans* (Killian et al., 2016).

Podemos classificar as bactérias em Gram Positivo ou Gram Negativo tendo em conta a coloração que adquirem após a aplicação de corantes segundo a técnica de Gram. Podem também ser diferenciadas pelo seu formato físico, em bacilos ou cocos (Marsh, 2000).

Num indivíduo saudável, os cocos Gram negativo mais encontrados são *Neisseria*, *Moraxella* e *Veilonella*, sendo os bacilos Gram negativo mais comuns *Campylobacter*, *Capnocytophaga*, *Desulfovibrio*, *Eikenella*, *Fusobacterium*, *Haemophilus*, *Prevotella*, *Selenomonas*, *Simoniella*, *Treponema* e *Wolinella*.

Os cocos Gram positivo mais encontrados são *Abiotrophia*, *Peptostreptococcus*, *Stomatococcus* e *Streptococcus*, e os Bacilos Gram positivos são *Actinomices*, *Bifidobacterium*, *Corynebacterium*, *Eubacterium*, *Lactobacillus*, *Rothia*, *Propionibacterium* e *Pseudoamibacter* (Marsh, 2000).

É possível encontrar bactérias do género *Actinobacillus* e *Porphyromonas* em número aumentado em estados de doença, mas são também comensais ao hospedeiro saudável, todavia em número reduzido (Wade, 2012).

Em termos de fungos, *Candida* (o mais comum), *Cladosporium*, *Aureoboa -102 sidium*, *Saccharomycetales*, *Aspergillus*, *Fusarium* e *Cryptococcus* são os mais comuns na cavidade oral (Wade, 2012).

Na cavidade oral as bactérias coexistem com o hospedeiro em equilíbrio simbiótico. Em condições normais isto apresenta-se como sendo vantajoso para o hospedeiro, ajudando na manutenção de um aparelho digestivo saudável, apresentando também propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias, dificulta a colonização por parte de agentes patogénicos, apoiando os mecanismos de defesa do hospedeiro (Killian et al., 2016).

As bactérias comensais da boca, em circunstâncias normais são incapazes de provocar doença, no entanto, na ocorrência de desequilíbrios no normal microbioma oral, certas espécies comensais têm capacidade de se tornarem patogénicas, desenvolvendo doenças como a cárie, a candidíase e a periodontite (Øilo & Bakken, 2015).

2.3 Microbioma do indivíduo em estado de doença

Um estado de doença pode surgir quando ocorre uma interrupção no equilíbrio dinâmico entre o microbioma oral e o hospedeiro, passando de um estado de simbiose para uma disbiose. (Marsh et al., 2015).

Disbiose implica comprometimento do normal estado do microbioma oral, com aumento do número de bactérias patogénicas e modificação dos espaços orais, de forma

a mostrar o aparecimento de doenças como a cárie e a periodontite. Não implica, no entanto, que as modificações orais presentes nas diferentes fases do desenvolvimento humano sejam necessariamente estados de disbiose, já que o ecossistema oral tem capacidade para se adaptar ao ambiente que estas mudanças trazem sem causar aumentos no número de bactérias patogénicas (Kilian et al., 2016; Marsh et al., 2015).

2.4 Factores que influenciam a saúde do microbioma

A saúde oral está dependente de um equilibrado microbioma oral. Qualquer disrupção na harmonia deste equilíbrio pode afectar negativamente a saúde do hospedeiro. Este equilíbrio dinâmico pode ser influenciado por vários factores que afectam o estado de saúde do indivíduo (Killian et al., 2016; Olms, Yahiaoui-doktor, Remmerbach, & Stingu, 2018).

Entre os factores que influenciam a constituição do microbioma podemos contar a dieta do indivíduo, a sua idade, o estado do seu sistema imunitário, os hábitos de higiene oral do indivíduo, a medicação que toma, e o consumo de tabaco, álcool e estupefacientes (Shi, Wu, Mclean, Edlund, & Young, 2016).

A dieta de um indivíduo influencia a quantidade de nutrientes disponíveis às bactérias da cavidade oral. O consumo de hidratos de carbono, bebidas gaseificadas e açúcares em quantidades excessivas foi tornado possível pela revolução industrial. Isto, aliado a hábitos como o tabaco e o álcool, pode alterar o equilíbrio do microbioma oral, potenciando o aparecimento de patologias como a periodontite e a cárie. (Donnel et al., 2015; Killian et al, 2016).

A capacidade que o sistema imunitário tem de influenciar a microbiota oral está relacionada com a quantidade e constituição da saliva e do fluido crevicular, que têm incluídos em si agentes antimicrobianos e anti-inflamatórias. (Devine, Marsh, & Meade, 2015)

A saliva é de grande importância na cavidade oral. O seu papel vai para além da lubrificação necessária para a fala e auxílio à mastigação e digestão, já que na sua composição entram também péptidos antimicrobianos (AMP) que impedem a fácil fixação de microorganismos às superfícies bucais, para além de mitigarem a severidade dos seus ataques ácidos através da presença de enzimas e outras proteínas, lípidos e

hidratos de carbono com propriedades de regulação antimicrobiana. Contudo é de salientar que o conteúdo salivar pode ser utilizado por microorganismos como fonte de nutrientes e enzimas necessárias ao seu desenvolvimento. Desta forma a saliva afecta o equilíbrio dinâmico do ecossistema oral (Donnell et al., 2015; Kilian et al., 2016; van 't Hof, Veerman, Nieuw Amerongen, & Ligtenberg, 2014).

Existem também na saliva outros compostos capazes de modular as funções do organismo. Um dos quais é o nitrito, um vasodilatador com características antimicrobianas, produzido a partir da decomposição dos nitratos presentes na dieta. A ingestão de nitratos pode levar, então, a uma redução da pressão arterial, bem como a redução da função das plaquetas, existindo uma diminuição de disfunção endotelial mesmo perante o consumo de uma pequena dose de nitratos. Tem também acção no sistema gastrointestinal, como estimulante da produção do suco gástrico (Marsh, Head, & Devine, 2015).

2.5 Importância do microbioma

Tanto na cavidade oral como noutras zonas anatómicas do corpo humano, os microorganismos têm a capacidade de existir de forma sustentável com o meio que o hospedeiro disponibiliza. Isto implica relações mutuamente benéficas, incluindo o evitar de colonização por parte de elementos patogénicos exógenos. Contudo, este equilíbrio é facilmente desestabilizado, podendo levar a doenças, tanto locais (como é o caso da cárie e periodontite) como sistémicas, dada a capacidade inerente aos microorganismos de alcançar capilares e, por aí, a corrente sanguínea. Estudos demonstraram que microorganismos comensais à flora oral foram isolados em pacientes com patologias sistémicas.

A flora oral comensal, muito embora possua funções protectoras contra patógenos exógenos, perante alterações que causem disrupção do equilíbrio existente em saúde possui elementos com capacidade de se tornarem patogénicos (Avila, Ojcius, & Yilmaz, 2009; P. Marsh & Martin, 2005a; Wade, 2013).

Diferentes factores podem causar estados disbióticos, como a idade avançada, a predisposição genética do individuo, alterações do sistema imunitário e a insuficiente higiene da boca por parte do individuo (Filoche, Wong, & Sissons, 2010).

Mesmo as interações físicas e químicas entre as diferentes espécies de microorganismos presentes na cavidade oral, sejam estas bactérias ou fungos, apresentam um papel determinante na saúde oral do indivíduo e fazem-se por mecanismos de bastante complexidade. Os microorganismos conseguem exercer influências positivas ou negativas, uns sobre os outros (B. P. Krom et al., 2014).

2.6 Diversidade de espécies

Os microorganismos do microbioma humano são muitos e variados. Podem distribuir-se pelas diversas zonas anatómicas e consoante a zona existirão diferentes espécies, em diferentes quantidades, sendo estas também diferentes de indivíduo para indivíduo.

O Projecto do Microbioma Humano (HMP), criado pelo Instituto Nacional de Saúde dos Estados Unidos tem como objetivo descobrir qual a diversidade, quantidade e funcionalidade dos genes de microorganismos residentes no corpo humano. Dependendo da sua distribuição pelas diversas partes do corpo humano, nomeadamente pela pele, nariz, boca, tracto intestinal e geniturinário, a cada uma destas regiões anatómicas corresponde um habitat, com um microbioma característico e com variação interindividual (Belizário & Napolitano, 2015; Parfrey & Knight, 2012; P. C. Silva, 2014).

2.6.1 Espécies específicas revelantes no microbioma oral

2.6.2 Streptococcus viridans

S. viridans descreve um grupo variado e heterogéneo de microorganismos. Pertencem ao género *Streptococcus*, família *Streptococcaceae*, ordem *Lactobacillales*, classe *Bacilli*, filo *Bacillota*, subdivisão *Bacteria*, do reino *Monera*. (Chan & Embil, 2016; Doern & Burnham, 2010; Vickery, 2020).

Neste grupo incluem-se várias espécies de estreptococos α -hemolíticos e vários deles têm importância como agentes causadores de endocardite bacteriana. Espécies deste grupo incluem a *S. salivarius*, *S. sanguis*, *S. mitis* e *S. mutans*. Muitas espécies fazem parte da microbiota comensal da cavidade oral, algumas destas tendo a superfície dentária e as gengivas como habitat preferencial. (Chan & Embil, 2016; Doern & Burnham, 2010; Jameson et al., 2018; Vickery, 2020).

Conhece-se que várias espécies contribuem para o aparecimento da carie dentária (*S. mutans*, *S. sanguinis*) e pericoronarite, tendo estas também influencia no aparecimento de endocardite infecciosa subaguda. Bactérias do grupo *S. viridans* são responsáveis por 0,3% a 3% dos casos de meningite bacteriana do adulto e 1% daqueles que ocorrem em crianças. Muito embora a taxonomia deste grupo possa ser passível de mudança (ex: *S. anginosus* era previamente conhecido por *S. milleri* e *S. sanguinis* tinha o nome de *S. sanguis*), clinicamente estas espécies demonstram comportamentos e características que as identificam clínica e terapêuticamente como sendo “*Viridans*”. Há que ter atenção, porém, que certas espécies têm resistências específicas a certos antibióticos (Chan & Embil, 2016; Facklam, 2002; Jameson et al., 2018; Vickery, 2020).

Bactérias da família *S. viridans* também são responsáveis por infecções pulmonares (especialmente em pacientes com fibrose cística), abscessos abdominais, sepsis em pacientes imunocomprometidos e sepsis neonatal e osteomielite. São responsáveis também por 40% a 60% dos casos de endocardite que ocorrem em válvulas normais (Vickery, 2020).

Previamente, aceitava-se que a penicilina era eficaz contra todos os *Streptococcus* orais. Porém, desde a década de 1990, bactérias da família *Streptococcus* têm demonstrado maior resistência à penicilina e outros agentes antimicrobianos β -lactâmicos (Chan & Embil, 2016; Doern & Burnham, 2010).

O grupo *S. mitis* em particular demonstra este tipo de resistência, especialmente (mas não exclusivamente) em pacientes com cancro e neutropenia, após serem expostos a um regime de terapia e profilaxia antimicrobiana. É frequente estes microorganismos que não respondem clinicamente à penicilina terem também uma reacção reduzida à clindamicina, eritromicina e ceftriaxona. Resistência a antibióticos glicopeptídeos é, porém, relativamente incomum (Chan & Embil, 2016).

Quando os casos de doença cardíaca reumática eram prevalentes, os *Streptococcus* do grupo *viridans* prefaziam 60 a 80% dos casos de endocardite infecciosa. Com o passar dos anos, a prevalência de doença cardíaca reumática diminuiu e, concomitantemente, também ocorreu uma diminuição nos casos de Endocardite provocada por *S. viridans* (Chan & Embil, 2016; Jameson et al., 2018; Vickery, 2020).

A associação mais comum de endocardite em jovens é o prolapso da válvula mitral, principalmente no sexo masculino e em pacientes maiores de 45 anos. A bacteremia é a consequência das infecções da cavidade oral (Vickery, 2020).

| Identificação de grupos de espécies <i>Streptococcus viridans</i> | | | | | | | |
|---|----------|----------|-----------------|---------|----------|-------|----------------|
| Grupo/Espécie | Arginina | Esculina | Voges-Proskauer | Manitol | Sorbitol | Ureia | Origem |
| Grupo Mutans | | | | | | | |
| <i>S. mutans</i> | - | + | + | + | + | - | Humana |
| <i>S. sobrinus</i> | - | + | + | + | + | - | Humana, ratos |
| <i>S. cricetus</i> | - | + | + | + | + | - | Ratos, humana |
| <i>S. downei</i> | - | - | + | + | + | - | Macacos |
| <i>S. ferus</i> | - | + | + | + | + | - | Ratos |
| <i>S. macacae</i> | - | + | + | + | + | - | Macacos |
| <i>S. rattii</i> | + | + | + | + | + | - | Ratos, humanos |
| <i>S. hyovaginalis</i> | - | - | + | + | + | - | Suínos |
| Grupo salivaris | | | | | | | |
| <i>S. salivarius</i> | - | + | + | - | - | + | Humana |
| <i>S. vestibularius</i> | - | + | + | - | - | - | Humana |
| <i>S. infantarius</i> | - | + | + | - | - | - | Humana |
| <i>S. alactolyticus</i> | - | + | + | - | - | - | Suínos, aves |
| <i>S. hyointestinalis</i> | - | - | + | - | - | - | Suínos |
| <i>S. thermophilus</i> | - | - | + | - | - | - | Lacticínios |
| Grupo Anginosus | | | | | | | |
| <i>S. anginosus</i> | + | + | + | - | - | - | Humana |
| <i>S. constellatus</i> | + | + | + | - | - | - | Humana |
| <i>S. intermedius</i> | + | + | + | - | - | - | Humana |
| Grupo Sanguinus | | | | | | | |
| <i>S. sanguinus</i> | + | + | - | - | + | - | Humana |
| <i>S. parasanguinis</i> | + | + | - | - | + | - | Humana |
| <i>S. gordonii</i> | + | + | - | - | + | - | Humana |
| Grupo Mitis | | | | | | | |
| <i>S. mitis</i> | - | - | - | - | + | - | Humana |
| <i>S. oralis</i> | - | + | - | - | - | - | Humana |
| <i>S. cristatus</i> | + | - | - | - | - | - | Humana |
| <i>S. infantis</i> | - | - | - | - | - | - | Humana |
| <i>S. peroris</i> | - | - | - | - | - | - | Humana |
| <i>S. oristatti</i> | - | + | - | - | - | - | Ratos |

Tabela nº 1, Resposta de diferentes espécies de *S. viridans* a diversos testes de identificação (adaptado de Facklam, 2002)

2.6.3 *Pseudomonas aeruginosa*

P. aeruginosa é uma bactéria Gram-negativa, anaeróbia facultativa em forma de bastonete, ubíquo ao ambiente oral e faz parte da flora intestinal normal (Vickery, 2020).

A crescente capacidade de resistir a fármacos como as cefalosporinas e carbapenemos agravam ainda mais o problema de infecções por *P. aeruginosa* resistentes a medicamentos. O tratamento disponível de último recurso é a colistina, um antibiótico do grupo das polimixinas que foi evitado nas últimas décadas, devido à sua neuro e nefrotoxicidade (Vickery, 2020).

Pacientes dependentes de ventilação mecânica, ou equipados com um dispositivo invasivo como um cateter, estão em risco de doença por *P. aeruginosa*, que é capaz de formar biofilmes em superfícies de dispositivos médicos. Estudos revelam que biofilmes de *P. aeruginosa* podem causar uma infecção da válvula endocárdica através de tubos endocárdicos, pneumonia associada ao ventilador (PAV) e infecções do tracto urinário associadas a cateter (CAUTI). Para além do mais, revelou-se que *P. aeruginosa* possui a capacidade de crescer no fluido intravenoso e pode entrar na corrente sanguínea, existindo o risco de sepsis (Vickery, 2020).

2.6.4 *Klebsiella pneumoniae*

Klebsiella pneumoniae (*K. pneumoniae*) é um bacilo Gram-negativo de baixa energia, normalmente encapsulado. Faz parte da flora bacteriana comensal oral, encontrando-se também em zonas como a pele e intestinos (Vickery, 2020).

Estudos demonstram que causa pneumonia, infecções do tracto urinário e bacteremia em pacientes de hospitais, lares de idosos e outros estabelecimentos de saúde que tenham a imunidade fragilizada (Vickery, 2020).

K. pneumoniae consegue evitar os mecanismos de detecção e captura do sistema imunitário do hospedeiro em vez de os suprimir ativamente. Desenvolveu resistência a um leque de antibióticos bastante alargado: fluoroquinolonas, cefalosporinas de terceira

geração e aminoglicosídeos, todos estes fazem parte do grupo de antibióticos a que *K. pneumoniae* desenvolveu resistência (Vickery, 2020).

Recentemente, foram identificadas estirpes de *K. pneumoniae* resistentes a carbapenemo. Lamentavelmente, estas têm na actualidade expressão mundial e forçaram em muitas zonas a administração de colistina, um antibiótico considerado de último recurso, a que também infelizmente já foi demonstrada resistência, não existindo para essa estirpe específica nenhum antibiótico dito como eficaz (Vickery, 2020).

Para agravar o problema, *K. pneumoniae* tem a capacidade de sobreviver e singrar dentro do fluido intravenoso e formar biofilme em dispositivos médicos como cateteres urinários, levando muitas vezes a septicemia (Vickery, 2020).

2.6.5 Candida

Candida descreve um género pertencente ao Reino *Fungi*, unicelular, com tamanho médio entre 3 a 5 μm . Pode demonstrar dois tipos de morfologias, uma em forma de levedura e outra filamentosa. Como características diferenciadoras, vê-se nas células leveduriformes unicelularidade e uma forma oval, e nas células filamentosas um formato revelador de multicelularidade, com hifas e pseudo-hifas, forma elíptica e conexões nas suas extremidades (as pseudo-hifas), podendo também ser uniformes em toda a sua largura, sem conexões, e com septos (hifas verdadeiras) (Freitas, 2010; Gonçalves, 2014; López-Martínez, 2010; Thompson, Carlisle, & Kadosh, 2011).

As células de *Candida* são formadas por uma parede celular que proporciona rigidez à sua estrutura, que tem na sua constituição quitina, oligossacarídeos como glucanos e mananos, dispostos em camadas diferentes, por cerca de 80%-90% de polissacáridos de glicose com ligações β -1,6 e β -1,3, por 6-25% de proteínas diversas, moléculas de N-acetil-D-glicosamina ligadas à quitina por ligações β 1,4, e por polímeros de manose ligados de forma covalente às manoproteínas.

Esta parede é uma estrutura celular essencial em qualquer interacção que a bactéria faça com o meio envolvente, devido à presença de compostos moleculares responsáveis pelo desenvolvimento num hospedeiro de infeções fúngicas e, como tal, é também o foco

principal da ação terapêutica dos antifúngicos (Emeterio, Lara, & Andrés, 2002; Gonçalves, 2014; Santana, Ribeiro, Menezes, & Naves, 2013).

2.6.5.1 Taxonomia de *Candida*

Com vários métodos moleculares (nomeadamente o estudo de sequências de genes que codificam para o ARN ribossômico 18S, e para os domínios D1 e D2 do ARN ribossômico 26S) foi possível determinar uma classificação para este tipo de formas de vida. Desta forma, determinou-se que estes microrganismos pertencem ao reino Fungi, no qual se incluem filós com relevância clínica demonstrada, tais como:

Chytridiomycota, *Zygomycota*, *Basidiomycota* e *Ascomycota*. Inobstante, é neste último filo - *Ascomycota* - que se encontram os fungos que se consideram dos mais patogênicos para o ser humano. Entre outros exemplos desses encontram-se: *Aspergillus*, *Candida* e *Pneumocystis* (Bruckner & Deak, 2014; Gonçalves, 2014).

Candida descreve um microrganismo de composição eucariota, com reprodução assexuada e sexuada, com a assexuada a integrar a forma de reprodução mais comum, e com maior relevância, pois permite ao fungo um maior alcance, quando se refere ao limite da sua dispersão. Assim, através da conidiogênese tálica, *Candida* forma clamidósporos, esporos de resistência, e através da conidiogênese blástica, forma de reprodução por gemulação, forma blastoconídios/blastósporos (Freitas, 2010).

| | |
|-------------------|------------------------|
| REINO | <i>Fungi</i> |
| DIVISÃO | <i>Eumycota</i> |
| SUBDIVISÃO | <i>Deuteromycotina</i> |
| FILO | <i>Ascomycetes</i> |
| CLASSE | <i>Blastomycetes</i> |
| ORDEM | <i>Cryptococcales</i> |
| FAMÍLIA | <i>Cryptococcaceae</i> |
| GÉNERO | <i>Candida</i> |

Tabela 2 - Classificação taxonômica do género *Candida*. (Adaptado de López-Martínez, 2010).

2.6.5.2 Epidemiologia de *Candida*

A levedura do género *Candida* é constituinte comensal na microflora oral de 45%-65% dos bebés e em cerca de 30%-55% dos adultos. Sabe-se que na maioria da população é possível encontrar este género de microrganismo na cavidade oral (Millsop & Fazel, 2016).

Com base no estudo efetuado por Ng et al. (2015) em indivíduos saudáveis, constata-se que a percentagem de *C. albicans* possível de se isolar na cavidade oral é maior que espécies não-*albicans*. Destas espécies não *albicans*, *C. parapsilosis* e *C. tropicalis* foram as espécies mais frequentemente encontradas, em contraste com *C. dubliniensis* e *C. rugosa*, também identificadas na boca.

Não obstante a existente diversidade de espécies ser semelhante entre indivíduos saudáveis e com patologias orais, vários estudos afirmam que esta diversidade é manifestamente mais reduzida no decorrer de uma infeção. Assim, segundo estudos recentes, a espécie *C. albicans* é a mais prevalente em infeções orais, seguindo-se *C. dubliniensis*, *C. glabrata*, *C. krusei*, *C. parapsilosis* e *C. tropicalis*, *C. guilliermondii* e *C. kefyr* também como espécies frequentemente vistas no biofilme oral (B. P. Krom et al., 2014; López-Martínez, 2010; Millsop & Fazel, 2016).

Estudos realizados em doentes com candidíase oral (CO) demonstram a ubiquidade de *C. albicans* num microbioma enfermo, no entanto *C. glabrata* e *C. tropicalis* frequentemente aparecem nos hospedeiros. Por outro lado, em infeções como estomatite protética, têm-se observado a presença simultânea de *C. albicans* e *C. glabrata*, muito embora *C. glabrata* tende a ser frequentemente isolada nestas patologias, pois a população alvo deste estudo é sobretudo idosa (Muadcheingka & Tantivitayakul, 2015).

Em doentes diabéticos com periodontite e em indivíduos VIH/SIDA positivos com CO, tem sido descrita a associação entre *C. albicans* e *C. dubliniensis* (Maddi & Scannapieco, 2013; Sardi et al., 2013).

A nível Mundial, no contexto de infeções sistémicas, *C. albicans*, pode ser considerada como a principal causa de candidose invasiva. No entanto, a frequência de infeções por espécies não-*albicans*, nomeadamente, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis* e *C. glabrata*, tem vindo a aumentar na América do Norte, e em alguns países europeus como Portugal.

Em países da América Latina, como o Chile, esta tendência está invertida e são as espécies *C. parapsilosis*, *C. tropicalis* e *C. glabrata* mais prevalentes, em detrimento da *C. albicans* (Guinea, 2014; Mendes, 2012; Sardi et al., 2013).

3.6.5.3 Dimorfismo

Pode-se considerar o dimorfismo como uma característica que potencia a virulência. *Candida* é dotada de uma capacidade dimórfica e quando toma uma morfologia leveduriforme, exibe um comportamento comensal, em oposição à morfologia filamentosa, em que manifesta invasividade e patogenicidade (Jacobsen et al., 2012; Kabir, Hussain, & Ahmad, 2012; Santana et al., 2013).

Dito isto, tanto uma ou outra forma morfológica pode estar presente no decorrer de uma infecção, tanto leveduras como hifas são passíveis de ser encontradas em órgãos infectados, exemplo disto é a ausência da forma de hifas no baço ou nos rins, quando ocorre uma infecção invasiva por *Candida*, em contraste directo com o que acontece quando o órgão em questão é o fígado, em que a forma morfológica prevalente são as hifas. Ainda que a forma leveduriforme não esteja directamente associada à infecção, pode estar presente no decorrer da mesma, pois é promotora de disseminação (Jacobsen et al., 2012; Mayer et al., 2013).

A patogenicidade atribuída à forma micelial da levedura pode ser devida à resposta desta a variados estímulos ambientais como por exemplo: pH quase neutro ou superior, temperaturas elevadas, presença de CO₂ (cerca de 5.5ppm), presença de elementos base como o carbono, nitrogénio, ou de aminoácidos que existem como fontes nutricionais e presença de N-acetil-glicosamina (Geraldino et al., 2012; Karkowska-Kuleta et al., 2009; Mayer et al., 2013).

Nem todas as espécies do género têm a capacidade de alterar totalmente a sua morfologia. *C. albicans*, *C. dubliniensis* e algumas estirpes de *C. tropicalis* conseguem exibir a forma de hifas verdadeiras. Espécies como *C. parapsilosis* e *C. krusei* porém, exibem a criação de pseudohifas e *C. glabrata* apenas evidencia a forma de blastósporos leveduriformes (Whibley & Gaffen, 2015).

O dimorfismo tem um papel importante no que toca ao biofilme desenvolvido com base em *C. albicans*, tendo a forma filamentosa papel central na adesão às superfícies orais.

As hifas desta forma morfológica executam funções cruciais tanto na integridade estrutural do biofilme, como no formato e arquitetura interna das suas camadas (O'Donnell et al., 2015; Ramage, Saville, Thomas, & Lopez-Ribot, 2005).

2.6.5.4 Virulência

Para que *Candida* se torne patogénica, é necessária a expressão de mecanismos específicos, que permitam a colonização, sobrevivência, multiplicação e capacidade de invadir as células do hospedeiro. Para tal, *Candida* manifesta factores de virulência, que através de vários processos suprimem e suplantam os mecanismos de defesa do hospedeiro (Brunke, Mogavero, Kasper, & Hube, 2016; Santana et al., 2013).

Os principais factores de virulência atribuídos ao género *Candida* são a adesão, o dimorfismo, a produção de enzimas, uma variabilidade fenotípica e, pela acção conjunta destes, a formação eficaz de biofilme (Mayer, Wilson, & Hube, 2013; Santana et al., 2013).

O primeiro passo tanto para a colonização como para o estabelecimento de uma infecção, provocada pelo género *Candida*, é a sua adesão às células epiteliais, endoteliais e fagocíticas do hospedeiro, bem como a outros microrganismos patogénicos e a corpos estranhos, como dispositivos médicos. A adesão assim promove a sobrevivência de *Candida* no hospedeiro humano, bem como a formação de biofilmes nas diversas superfícies disponíveis e, conseqüentemente, infeções polimicrobianas (Karkowska-Kuleta, Rapala-Kozik, & Kozik, 2009; Santana et al., 2013).

O processo de adesão de *Candida* envolve a existência de interacções moleculares específicas, via adesinas e recetores da membrana citoplasmática. Também envolve interacções não específicas, como reacções hidrofóbicas e electrostáticas da superfície celular. As adesinas, proteínas especializadas, existem na parede celular das células e têm a capacidade de se fixar a diferentes superfícies que, por sua vez, possuem receptores que as reconhecem. Próteínas que pertencem a este grupo são, por exemplo a laminina, a fibrina, e a fibronectina (Geraldino et al., 2012; Santana et al., 2013; Sardi et al., 2013).

Um grupo de 8 genes, designado de agglutinin-like sequence (ALS), é o grupo de adesinas mais estudadas e conhecidas. Estes 8 genes codificam oito proteínas, Als1-

Als7 e Als9. A expressão destas proteínas tende a variar conforme a espécie de *Candida*, sendo que *C. albicans* tem como adesinas basilares Als1, Als3, Als5. Als1 e Als5 estão envolvidas na adesão a células epiteliais orais, mas também com a morfologia leveduriforme de *Candida*. Na mesma maneira que Als1-4 estão presentes nos tubos germinativos e nas hifas, Als5-7 e Als9 localizam-se nos blastósporos (Henriques, Azeredo, & Oliveira, 2006; KarkowskaKuleta et al., 2009; Mayer et al., 2013; Modrezewka & Kurnatowski, 2015).

Como supracitado, a adesão de *Candida*, mais precisamente *C. albicans*, a superfícies bióticas ou abióticas contribui para a formação do biofilme, sendo que a *hyphal wall protein* (Hw1p), uma glicoproteína expressa na superfície das hifas e estruturalmente semelhante a Als, foi a primeira adesina descoberta com esta função. Dito isto, também Als1 e Als3 têm sido descritas como adesinas importantes na formação do biofilme e na patogenicidade associada ao mesmo, no que toca ao papel de *C. albicans*. Estudos evidenciam ainda que estas adesinas são capazes de aderir ao epitélio oral, e que indivíduos com candidose oral expressam os genes que codificam estas adesinas (Liu & Filler, 2011; Martin, Wächtler, Schaller, Wilson, & Hube, 2011; Modrezewka & Kurnatowski, 2015; D. W. Williams et al., 2011).

2.6.5.5 Enzimas

Candida, tal como outros microorganismos, tem a capacidade de secretar enzimas para o meio ambiente. A produção e excreção destas enzimas é um factor que codifica a virulência de *Candida*. São fabricadas múltiplas classes de enzimas, como lípases, hemolisinas, fosfolípases e proteases, sendo este último grupo o mais estudado. (Noumi et al., 2010; Sanitá et al., 2014; Santana et al., 2013; S. Silva et al., 2012).

Embora as classes de enzimas supracitadas funcionem com mecanismos de actuação diferentes para destruir células do hospedeiro, estas são todas hidrolíticas. As proteases têm a acção de lisar as ligações peptídicas das proteínas celulares, enquanto as fosfolípases hidrolisam os fosfolípidos estruturais da membrana celular do hospedeiro modificando assim as características da sua superfície celular, dando à hifa contacto directo com o citoplasma da célula hospedeira. As lípases são capazes de hidrolisar os triacilglicerois e as hemolisinas deterioram a hemoglobina, dando à bactéria acesso ao ferro aí existente, conseguindo assim assegurar mais recursos e aumentar a sua

persistência nos tecidos do hospedeiro (Sanitá et al., 2014; Santana et al., 2013; Sardi et al., 2013; S. Silva et al., 2012).

C. albicans exporta para o seu exterior um conjunto de isoenzimas, isto é, enzimas que catalizam a mesma reacção, mas que diferem na sua codificação genética e subsequente sequência proteica. Um exemplo são as aspartil proteinase secretórias (Sap), codificadas por um grupo de 10 genes, SAP, que está definida de SAP1 a SAP10 e organizada em 6 grupos: SAP1-3, SAP4-6, SAP7, SAP8, SAP9 e SAP10 (Miranda, Vianna, Rodrigues, Rosa, & Corrêa, 2015; Sardi et al., 2013; N. C. Silva, Nery, & Dias, 2014).

Estas enzimas Saps foram descritas pela primeira vez em 1965 e, inicialmente, eram qualificadas como proteases ácidas de *Candida*, dado que a sua presença era detectada predominantemente neste género e a sua acção era pH-dependente. A sua função operativa foca-se na adesão, invasão e na destruição de proteínas chave das células hospedeiras, que estão presentes no local da infeção tais como: albumina, hemoglobina, queratinócitos e imunoglobulina secretora A (IgA), tendo também efeitos de diminuição da resposta efectiva do sistema imunitário do hospedeiro (Miranda et al., 2015; Modrzewska, Kurnatowski, & Khalid, 2016; Sardi et al., 2013; N. C. Silva et al., 2014; Yang, 2003).

Não descontando estas funções mais gerais, cada gene deste grupo responsável por codificar e determinar a proteína possui uma função específica. Por exemplo, enquanto SAP6 influencia o processo de adesão ao provocar alterações no sistema imunitário, SAP9 e SAP10, ao invés de actuarem contra o hospedeiro, a sua acção é exercida em benefício directo da levedura, mantendo a parede celular desta íntegra. É também de notar que enquanto as SAP1-3 são detectáveis na fase leveduriforme do fungo, as SAP4-6 predominam na fase filamentosa (Miranda et al., 2015; Sardi et al., 2013).

Existem variações na quantidade de genes expressos entre diferentes espécies de *Candida*. Demonstrou-se que espécies a que se atribui menor patogenicidade têm na sua estrutura uma menor quantidade de genes SAP. *C. albicans*, por sua vez, evidencia níveis mais elevados de SAPs comparativamente às espécies não-albicans (N. C. Silva et al., 2014; D. W. Williams et al., 2011).

O pH é um dos fatores determinantes na acção das proteases, sendo um meio com um pH mais reduzido (leia-se: mais ácido) influencia *Candida* de forma a aumentar a produção destas, aumentando por sua vez a patogenicidade a si associada e,

consequentemente aumentando a sua capacidade de despoletar infeções orais. Verificou-se então que diferentes proteínas Saps mostram o seu pico de actividade num intervalo específico de pH, entre 2-7. A título de exemplo, SAP1-3 mostra actividade num pH ideal entre 3-5. SAP4-6, por outro lado, possui atividade máxima num pH entre 5-6. Assim, *Candida* goza de actividade proteolítica em diferentes gamas de pH, sendo isto uma mais valia no que toca à capacidade de se adaptar a diversas condições ambientais (Miranda et al., 2015; Modrzewska et al., 2016; D. W. Williams et al., 2011).

2.6.5.6 Variabilidade fenotípica de *Candida*

Também conhecido por *Switching*, este fenómeno de variabilidade fenotípica, descrito pela primeira vez em 1985, caracteriza o processo em que colónias de *Candida* conseguem alterar de forma reversível a sua morfologia, transitando consoante a sua necessidade entre colónias brancas e colónias opacas (Soll, 2014).

Este fenómeno não é exclusivo de *C. albicans*. Muito embora os primeiros estudos se tenham focado nesta espécie, outras são capazes de o executar, como *C. tropicalis* e *C. dubliniensis* (Lastauskienė, Čepulytė, Girkontaitė, & Zinkevičienė, 2015; Moralez, França, Furlaneto-Maia, Quesada, & Furlaneto, 2014).

3 Biofilme Oral

3.1 Definição do biofilme

Historicamente, no início do séc. XX, muito antes do termo “biofilme” ter sido cunhado, já era constatado pela comunidade científica que grande parte dos crepúsculos vivos, bactérias, podiam ser encontradas aderidas a superfícies. Robert Koch, pai da microbiologia moderna, descreveu em 1970 estas bactérias como sendo microorganismos individuais de flutuação livre. Pode-se falar do início do biofilme como conceito a partir de 1978, altura em que Costerton formaliza o termo na sua

definição moderna. Biofilmes podem ter diferentes constituições dependendo da sua composição bacteriana e das condições em que o biofilme se forma (Costerton, Geesey, & Cheng, 1978; Rabin et al., 2015; Technique, 1932).

O biofilme é uma estrutura matricial tridimensional extracelular altamente especializada, onde comunidades de bactérias de espécies diferentes estão incluídas. Pode também ser descrito como sendo as comunidades de bactérias que convivem entre si, aderidas a uma superfície (Bowen et al., 2017; Le et al., 2015).

O biofilme possui, pelas suas características físicas, a capacidade de desenvolver mecanismos de resistência a fármacos. Isto torna as bactérias nele comensais mais difíceis de eliminar, tornando-se então o biofilme um importante foco no desenvolvimento de infecções bacterianas num hospedeiro. (Le et al., 2015).

O valor aproximado médio de bactérias presentes no biofilme é de 80%. Estas têm geralmente a capacidade de existir tanto em forma livre, não associadas a um biofilme como elementos de uma comunidade de um biofilme. Esta segunda forma tem tendência a ser mais resistente a alterações do meio ambiente, providenciando maior protecção às bactérias que nele habitam (Bowen et al., 2017; Le, Adams, Yu, Sykes, & Wang, 2015).

Os agentes patogénicos que podem fazer parte do biofilme veem o seu potencial de virulência aumentado. Dependendo da sua localização no hospedeiro, é possível constatar que diferentes biofilmes, com diferentes organizações multicelulares e diferentes interacções cooperativas e antagonistas internas têm diferentes potenciais patogénicos. As interacções entre diferentes espécies dentro da matriz extracelular do biofilme, bem como a sua resposta a estímulos exteriores têm influência nos estados de saúde e doença do organismo hospedeiro (Bowen et al., 2017; Flemming et al., 2016).

A virulência que certas bactérias têm associada ao biofilme relaciona-se directamente a certos fatores intrínsecos às mesmas, nomeadamente, a variabilidade fenotípica que existe entre células planctónicas, e as mesmas organizadas em biofilme, pelo que esta é a forma na qual os microrganismos preferem viver, uma vez que captam os nutrientes necessários ao seu crescimento com maior aptidão, possuem um desenvolvimento mais rápido, organizado, e têm maior capacidade de resistência contra fármacos e à acção do sistema imunitário do hospedeiro (Gulati & Nobile, 2016; Nobile & Johnson, 2015; Santana et al., 2013; S. Singh et al., 2015).

3.2 Formação de biofilme

Para que haja formação de um biofilme é necessária a existência de uma superfície e a adesão das bactérias à mesma. Na cavidade oral as superfícies são embebidas pela saliva. As proteínas glicosídeas nesta presente vão formar a película adquirida, acelular e amorfa, com espessura inferior a 1µm. Esta película vai tolerar a adesão de microorganismos, permitindo a colonização da superfície e a formação de um ecossistema, capaz de comunicar através de moléculas sinalizadoras e dando azo à formação de uma matriz extracelular e, com isso, ao biofilme tal como o conhecemos (Øilo & Bakken, 2015).

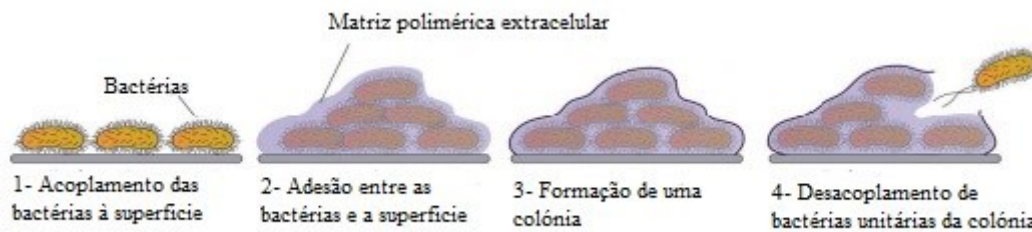


Figura 1 - Evolução do biofilme (adaptado de Teughels, Assche, Sliepen, & Quirynen, 2006)

Muito embora a carga negativa das bactérias seja repelida pela carga da mesma polaridade das superfícies a serem aderidas, quando a distância entre os microorganismos e o substrato é de 10 a 20nm, estas podem ser convertidas em pontes de hidrogénio ou forças de atracção *van der Waals*, ocorrendo assim a adesão bactéria-superfície. A anatomia dos microorganismos, nomeadamente a presença de fímbrias e/ou flagelos auxilia também na adesão (Jamal et al., 2018; Le et al., 2015).

A formação do biofilme define-se em três fases, a adesão, a maturação e a dispersão (Le et al., 2015).

3.2.1 Fase de adesão

A fase de adesão separa-se numa fase reversível e numa irreversível. A matriz extracelular tende a possuir proteínas, como a vitronectina, o fibrogénio e a fibronectina, onde os componentes da parede celular bacteriana, os peptoglicanos, se

tendem a aderir através de ligações covalentes, mediadas pelo reconhecimento das moléculas adesivas da matriz. Ligações não covalentes também existem, sendo estas mediadas por autolisinas. Os flagelos das bactérias são críticos nesta fase inicial, reversível da adesão, pela vantagem que representam em termos de adesão e agregação celular. (Jamal et al., 2018; Le et al., 2015).

A fase irreversível da adesão ocorre quando existe formação activa da matriz polimérica extracelular. Neste estágio, as forças necessárias, para quebrar as ligações criadas entre a superfície e as bactérias sejam elas de natureza física ou química, são muito maiores do que no estágio anterior (Bowen et al., 2017).

3.2.2 Fase de Maturação

A fase de maturação reflecte-se na captura de novas espécies de microorganismos para a primeira fina camada do biofilme, a partir de fluido em suspensão. A partir daqui o biofilme adquire uma forma de cogumelo ou torre, devido ao seu crescimento. Nesta fase, fenómenos de co-adesão e co-agregação ocorrem, sendo a co-adesão integral no reconhecimento entre diferentes espécies bacterianas, auxiliando a sucessão bacteriana. A co-agregação é fundamental para a organização funcional do ecossistema microbiano que se espera de um biofilme (Le et al., 2015; Marsh, Martin, Lewis & Williams 2009).

A comunicação interbacteriana que ocorre, fá-lo por via de moléculas sinalizadoras, autoindutoras, que criam o “quorum sensing” entre bactérias. Este processo usa um sistema de transdução de dois estágios: um sensor de kinases histidínicas ligado à membrana bacteriana e um péptido de sinalização, i.e., o autoindutor. Quando ocorre acumulação de quantidades suficientes do autoindutor no meio, as kinases activam o sistema de sinalização que directa ou indirectamente induzem a transcrição de genes críticos nas bactérias. Assim ocorre a comunicação entre as colónias bacterianas através da matriz, com remoção de resíduos e distribuição de nutrientes necessários (Jamal et al., 2018; Vickery, 2020).

À medida que o biofilme se torna maior e mais espesso, os microorganismos tendem a agrupar-se segundo as suas necessidades metabólicas e a sua tolerância ao oxigénio. Assim, é expectável ver bactérias anaeróbias a ocupar os nichos mais profundos do biofilme, onde existe menos penetração por parte do oxigénio (Le et al., 2015).

3.2.3 Fase de Dispersão

A fase de dispersão é de crítica importância no ciclo de vida do biofilme, devido à miríade de factores que a despoletam. Falta de nutrientes no meio para a população criada na fase anterior leva a competição intensa por recursos. Isto leva à quebra de ligações de co-adesão e co-agregação das bactérias e o meio, estando assim estas bactérias libertadas, livres para colonizar outras partes do corpo do hospedeiro (Jamal et al., 2018; Le et al., 2015).

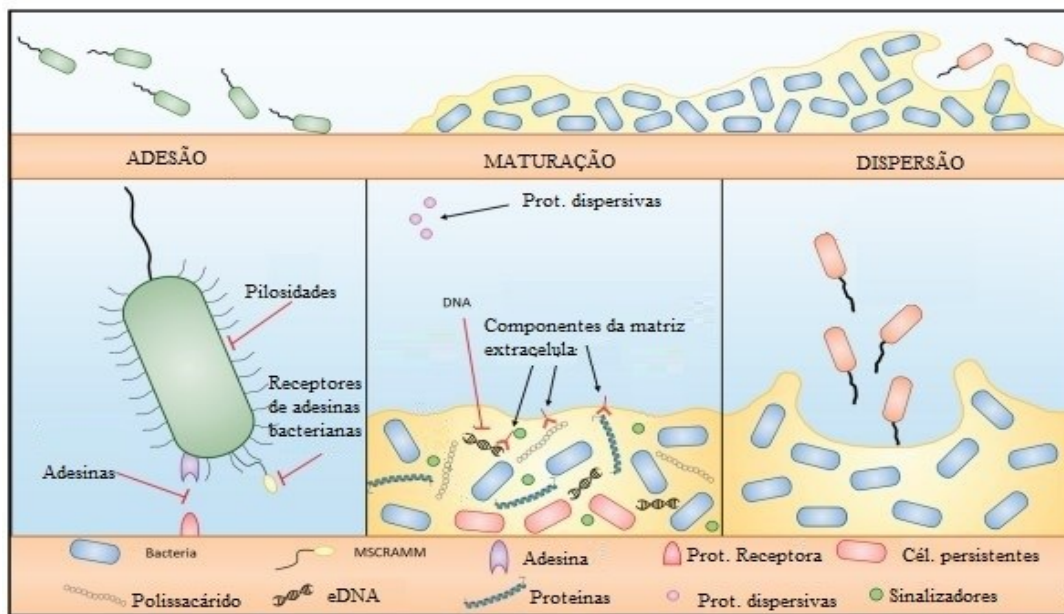


Figura 2- Fases de formação do biofilme (adaptado de: Beitelshes, Hill, Jones, & Pfeifer, 2018)

3.3 Colonizadores primários e secundários da cavidade oral

3.3.1 Colonizadores primários

Na cavidade oral, os *Streptococcus* perfazem 60 a 90% dos colonizadores primários que auxiliam a criação do tártaro. Isto ocorre pela sua capacidade de adesão às superfícies e entre si e de reconhecimento e interacção com receptores na película adquirida.

Actinomyces também fazem parte dos primeiros colonizadores (Le et al., 2015; Mancl, Kirsner, & Ajdic, 2013; Marsh, 2000).

As mais proeminentes colonizadoras primárias do grupo *Streptococcus* são a *S. mitis* (24-42%), *oralis* (1-27%) e *sanguinis* (6-18%) (Kolenbrander, Palmer, Periasamy, & Jakubovics, 2010; Wang, Shen, & Haapasalo, 2014).

Espécies anaeróbias como *Capnocytophaga spp*, *Haemophilus spp*, *Neisseria e Veillonella spp* também são detectadas nesta fase primária de colonização, embora em muito menores quantidades (Marsh, Martin, Lewis & Williams 2009).

As *Streptococcus* são grandes produtoras de bacteriocinas, capazes de lisar outras bactérias. Isto potencia fortemente a sua competitividade no meio oral, e capacidade de formação de biofilmes. Bactérias como *Streptococcus mutans* são extremamente competitivas nestas fases de criação do biofilme pois são capacitadas de boa resistência ao stress oxidativo, bem como igual resistência aos excipientes ácidos do seu próprio metabolismo dos hidratos de carbono (Killian et al., 2016; Mancl et al., 2013).

No substrato podem existir diversos tipos de receptores, tais como proteínas ricas em prolina ou fosfatos, aglutininas salivares, fragmentos de bactérias, mucinas sialiladas, e α -amilase. Diferentes tipos de bactérias têm diferentes tipos de receptores preferenciais. *Actinomyces*, por exemplo, ligam-se a proteínas ricas em prolina e fosfatadas, como as estaterinas, estas últimas servindo também de receptor a bactérias anaeróbias gram negativo e a *Fusobacterium* (Le et al., 2015).

A *Fusobacterium nucleatum* pode ser considerada como a ponte entre os colonizadores primários e secundários, dada a sua capacidade de co-agregação entre os colonizadores primários (*Actinomyces e Streptococcus*) e secundários (*Eubacterium spp e Selenomonas spp*) (Mancl et al., 2013).

3.3.2 Colonizadores Secundários

Entre os colonizadores secundários contam-se: *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Eubacterium spp*, *P. gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Tannerella forsythensis*, *Treponema denticola*, *Selenomonas flueggei e Streptococcus mutans* (Mancl et al., 2013).

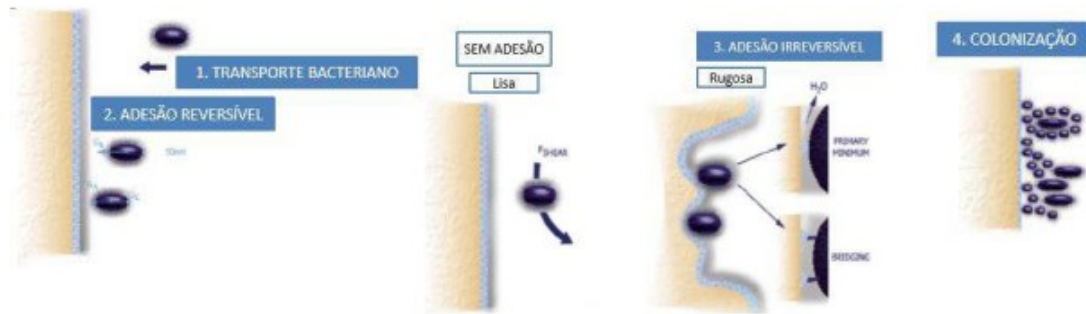


Figura 3 - Fases de adesão do biofilme em diferentes superfícies (Adaptado de Teughels, Assche, Sliepen, & Quirynen, 2006)

3.4 Factores de Hospedeiro que afectem a formação do biofilme

Vários factores do ambiente local influenciam a formação de determinado tipo de biofilme. Na cavidade oral, factores como a saliva e as proteínas e glicoproteínas aí suspensas, o fluido crevicular nas gengivas a cervical dos dentes, bem como a temperatura e nível de humidade do ambiente são elementos que permitem a formação e desenvolvimento de comunidades de microorganismos, diferenciadas consoante a sua localização (Devine et al., 2015).

A composição da saliva é capaz de influenciar o crescimento e desenvolvimento de determinados tipos de biofilme na cavidade oral. Diferentes componentes salivares influenciam de maneira diferente o desenvolvimento do biofilme (Killian et al., 2016).

Os níveis de pH e oxigénio, a síntese de diferentes proteínas extracelulares, o tipo de superfície e a localização da mesma, a disponibilidade de nutrientes e a qualidade da higienização por parte do hospedeiro; todos são factores que afectam a estrutura e características do biofilme (Bowen et al., 2017; Øilo & Bakken, 2015).

Biofilme que sofre higienização regular tem uma composição diferente do biofilme que não passa por este processo e, devido a isso, mantém-se em desenvolvimento (Øilo & Bakken, 2015).

À medida que o biofilme se desenvolve, as bactérias vão-se dispondo na matriz extracelular consoante a disponibilidade de oxigénio na mesma, com as bactérias anaeróbias a reclamarem como habitat as camadas mais profundas (menos oxigenadas)

e as aeróbias as camadas mais superficiais do biofilme, devido à sua dependência por oxigénio (Flemming et al., 2016).

A dieta do hospedeiro influencia a quantidade e qualidade de nutrientes disponíveis aos microorganismos. As interações entre os agentes patogénicos na cavidade bucal e os nutrientes presentes consequência da dieta, bem como a competição entre microorganismos induz a (mais ou menos veloz, consoante a dieta) colonização microbiana da cavidade oral (Bowen et al., 2017; Flemming et al., 2016).

Também a influenciar a composição bacteriana do biofilme encontram-se vários factores ambientais, tais como o grau de humidade e presença relativa de água, o delta de variações na temperatura sofridos na cavidade pelas bactérias, a disponibilidade de elementos como o carbono e o azoto, entre outros (Le et al., 2015).

O número de dentes presentes na cavidade oral, bem como a existência de restaurações de diversos tipos, pontes, próteses removíveis, coroas e implantes, conseguem também influenciar a composição do biofilme, pois dependendo das condições da formação do biofilme, este pode ser portador de espécies diferentes (Kilian et al., 2016; Le et al., 2015; Øilo & Bakken, 2015).

Hábitos como o consumo de álcool, tabaco ou estupefacientes, pobre higiene oral, a presença de patologias sistémicas, inflamação gengival, disfunção das glândulas salivares ou a sua hipofunção devido a toma de medicamentos, a sensibilidade do sistema imune e a própria idade do hospedeiro podem influenciar o desenvolvimento do biofilme, ou servir de elemento de disrupção no seu equilíbrio microbiano e podem portanto despoletar o aparecimento de patologias orais como carie e periodontite (Bowen et al., 2017; Marsh et al., 2014).

Uma dieta rica em hidratos de carbono e açúcares provoca uma maior produção de ácidos por parte das bactérias, o que pode levar ao aparecimento de lesões cariosas nas faces dentárias. A descida do pH provocada pela presença destes ácidos de génese bacteriana leva também ao desenvolvimento selectivo de apenas algumas espécies de microorganismos, já que apenas alguns são capazes de tolerar a baixa acidez do ambiente (Bowen et al., 2017).

3.5 Morfologia e arquitetura do biofilme

Tanto estruturas bióticas como abióticas podem ser substratos para a criação e proliferação de comunidades polimicrobiais com resistência às defesas do sistema imune do hospedeiro e alta tolerância a antimicrobianos. (Donnell et al., 2015).

A estrutura extracelular do biofilme tem como base uma série de compostos poliméricos denominados exopolissacáridos (glucanos derivados da acção de bactérias como *S. mutans*), frutanos, glicoproteínas, glucanos insolúveis, proteínas do hospedeiro e DNA extracelular, este último na forma de ácidos nucleicos (Bowen et al., 2017).

A matriz polimérica extracelular tem a importante função de estabilizar a estrutura do biofilme pois é capaz de mediar a adesão bactéria-bactéria, bem como a adesão bactéria-superfície. A estrutura porosa da matriz permite a passagem por toda a estrutura de água, gases e nutrientes necessários para a continuidade da vida das bactérias presentes no biofilme. As características bioquímicas e estruturais inerentes à matriz polimérica proporcionam às bactérias nela presentes condições benéficas. Potenciam as interações entre bactérias, tanto sinérgicas como competitivas, bem como a sua virulência, e aumentam a tolerância a agentes antimicrobianos. A matriz polimérica também proporciona um espaço onde é possível o aparecimento de comportamentos colectivos por parte das bactérias (Bowen et al., 2017; Le et al., 2015).

Na matriz polimérica, a difusão de agentes antimicrobianos é significativamente abrandada dentro da sua estrutura, protegendo as bactérias no seu interior. A matriz é também capaz de reduzir a eficácia de agentes antimicrobianos catiónicos, como a clorhexidina, e de impedir a penetração destes nas camadas de maior profundidade do biofilme (Donnell et al., 2015).

Os microorganismos existentes no biofilme são responsáveis pela criação do esqueleto do mesmo, que tem como base exopolissacáridos. Estes compostos de grande peso molecular baseados em açúcar, poliméricos, são fabricados intra ou extracelularmente pelas bactérias para o meio, e servem como um suporte primário para a adesão dos restantes elementos que formam a matriz extracelular do biofilme, tais como ácidos nucleicos, carboidratos (entre os quais a glicose, a galactose e a manose), lípidos e proteínas (Lee et al. 2015).

Também na matriz existem os glucanos, que aumentam a coesão célula-célula à medida que aparecem novas interações entre diferentes espécies de microorganismos permitindo assim um aumento do número de indivíduos bacterianos na superfície dentária (Bowen et al., 2017).

Na cavidade oral, a mais proeminente produtora de glucanos insolúveis, fundamentais na formação da matriz do biofilme, é *Streptococcus mutans*. É reconhecida a sua importância no ecossistema bacteriano responsável pela criação de microambientes para outras bactérias cariogénicas e acidúricas, e é capaz de coexistir com vários níveis de bactérias na placa. (Bowen et al., 2017).

A presença de DNA extracelular na estrutura do biofilme é explicada tanto pela lise de células presentes no biofilme, como também por fenómenos de secreção activa. Proporciona às bactérias um importante aumento na sua capacidade de adesão devido à sua capacidade de interagir com os seus receptores celulares quando a distância entre as bactérias e a superfície dentária é extremamente curta, medida em nanómetros. Tem também, dada a sua carga negativa, uma capacidade de quelação de compostos de carga positiva, como é o caso de alguns agentes antibióticos (Le et al., 2015).

As proteínas extracelulares têm extrema importância na formação e estabilização do biofilme pela sua capacidade de aderir tanto às superfícies das células, como da superfície do esqueleto polissacarídeo da matriz extracelular. Funcionam também como reserva de nutrientes, pois em períodos de falta de alimento, as bactérias excretam enzimas capazes de decompor as proteínas, via quebra de polímeros, de forma a reestabelecer o suprimento de carbono e energia às mesmas (Le et al., 2015).

Com esta organização, a matriz consegue fazer a separação de bactérias em populações diferenciadas, com as substâncias poliméricas extracelulares a permitirem diferentes interações entre espécies distintas, bem como processos de adesão-coesão de bactérias entre si e com o meio. Assim, pode ser dito que a matriz potencia a função celular das bactérias a um nível uni e multicelular, com uma estrutura que proporciona uma rede molecular interligada, a permitir uma reciprocidade dinâmica entre a matriz e as células bacterianas que nela habitam (Bowen et al. 2017).

3.5.1 Fenómeno de Quórum Sensing

Quórum sensing (QS) define um mecanismo de comunicação intercelular dependente da densidade celular. Num biofilme os microorganismos usam moléculas exsudadas do decorrer do seu processo metabólico como sinalizadores QS, detectáveis por receptores específicos. A produção e acumulação destas moléculas sinalizadoras é constante com o decorrer do desenvolvimento do biofilme e ao alcançar-se uma densidade celular elevada – o limite crítico – a quantidade de pares sinalizadores/receptores QS força a expressão ou repressão de certos genes nas bactérias, com acções benéficas para os microorganismos ou nocivas, devido à toxicidade das moléculas expressas. O fenómeno QS tem a capacidade de afectar a velocidade de crescimento das bactérias num biofilme ou mesmo a dispersão das células a partir do mesmo (Barriuso, 2015; Han, Cannon, & Villas-Bôas, 2011; Krom, Levy, Meijler, & Jabra-Rizk, 2016; Singh et al., 2015; Williams et al., 2011; Wongsuk, Pumeesat, & Luplertlop, 2016).

O QS foi descrito pela primeira vez em células de *C. albicans* onde se identificou o farnesol como uma molécula sinalizadora de QS, numa cultura com elevada densidade celular. Mais tarde descobriram-se várias outras moléculas capazes de despoletar uma reacção QS em fungos, como por exemplo o triptofol, o tirosol e o feniletanol. A *C. albicans* é uma das bactérias eucariotas mais utilizadas em estudos sobre QS. Várias moléculas como os ácidos feniletílico e farnesóico, o dodecanol, o feniletanol, o tirosol e o triptofol foram identificados como sinalizadores QS. O farnesol, por exemplo tem funções inibitórias na expressão da forma filamentosa de *C. albicans*, afectando assim a formação eficaz de biofilme. A influência que isto tem num biofilme rico em farnesol reflecte-se na presença mais frequente das formas morfológicas leveduriformes e de pseudo-hifa da *C. albicans*, podendo também promover a dispersão celular para fora do biofilme pela promoção de células em forma de levedura (Barriuso, 2015; Krom et al., 2016; Williams et al., 2011; Finkel & Mitchell, 2011; Han et al., 2011; Martinez & Fries, 2010; Wongsuk et al., 2016).

Outras moléculas podem ter também funções diferentes em fases diferentes do desenvolvimento do biofilme. por exemplo, o tirosol controla a formação do tubo germinativo em *C. albicans* na fase inicial de desenvolvimento no biofilme, passando a promover o desenvolvimento de hifas numa fase mais intermédia. (Barriuso, 2015; Wongsuk et al., 2016).

O fenómeno QS tem funções regulatórias para além da morfologia das bactérias. Consegue também provocar a apoptose, isto é, morte controlada das mesmas. Pela sua natureza consegue também interferir com o sistema imunitário do hospedeiro, podendo afectar negativamente os efeitos de fármacos antifúngicos (Barriuso, 2015; Wongsuk et al., 2016).

3.6 Placa bacteriana como biofilme

Devido ao papel que desempenha na cavidade oral, o biofilme dentário tem sido alvo de diversos estudos na área da Medicina Dentária. A placa bacteriana é um dos biofilmes a que mais ênfase se deu em termos de estudos. (Le et al., 2015; Marsh, 2004).

A placa bacteriana pode ser considerada como uma mistura composta de biofilmes, sendo a sua composição em saúde consideravelmente diferente da placa associada a doença (Marsh, 2004).

Um biofilme em saúde é um biofilme em simbiose com o hospedeiro, servindo como uma camada de protecção contra ácidos provenientes da dieta e contra a adesão de microorganismos patogénicos. No entanto, a higiene do indivíduo é importante para manter este equilíbrio. A não-higienização da cavidade oral convida ao aparecimento e crescimento de microorganismos patogénicos e favorece um estado de não equilíbrio disbiótico que tem impacto negativo não só na saúde das estruturas orais do hospedeiro, como também na saúde sistémica do mesmo. (Øilo & Bakken, 2015)

Quando se fala na complexidade da placa bacteriana, está-se em grande parte a falar das diferentes camadas do biofilme, da comunidade diversa de microorganismos que cobrem diferentes nichos ambientais e das intrincadas interações entre as diferentes entidades bacterianas, que contribuem para o crescimento e desenvolvimento do biofilme. (Donnell et al., 2015).

É necessário que haja interacção entre a superfície enamelizada do dente e as bactérias para que o biofilme comece a ser criado. A organização dos microorganismos que conseguem adesão efectiva ao esmalte dentário forma o início da placa bacteriana. Se esta organização não se efectuar, as bactérias são passíveis de serem lavadas pelos fluidos orais (Lee et al., 2015).

A cobrir a superfície dos dentes e a auxiliar a adesão bacteriana está a película aderida, cujos elementos têm a sua proveniência de diversas fontes. Tanto o hospedeiro (na forma de proteínas derivadas da saliva, entre outras) como a acção microbiológica (na criação de exoenzimas bacterianas) têm mão na criação desta película (Bowen et al., 2017).

Os colonizadores primários como *Actinomyces* e *Streptococcus* conseguem ter grande adesão à superfície da película adquirida do esmalte ao fazer uso de fenómenos de interacção adesina-receptor especializados, por forças electrostáticas ou hidrofóbicas (Marsh et al., 2015).

A co-adesão acontece no momento em que os microorganismos aderem a estruturas imóveis: estrutura dentária, tecidos epiteliais, bactérias já aderidas. Já o evento de co-agregação corresponde a interacções que levam à união de bactérias geneticamente distintas, e pode ocorrer em suspensão. A co-adesão e a co-agregação são fenómenos de extrema importância na formação e desenvolvimento do biofilme dentário, dado o papel que desempenham na colonização microbiana (Bowen et al., 2017; Lee et al., 2015).

Bactérias presentes em biofilmes saudáveis, como *Actinomyces*, *Streptococcus gordonii*, *Streptococcus oralis* e *Streptococcus Sanguis* têm geralmente uma baixa tolerância a pH baixos. Pelo contrário, vê-se em bactérias como *Streptococcus mutans* e *Streptococcus sobrinus*, indicativas de um biofilme com alta patogenicidade, uma elevada tolerância à acidez ambiental. Um fraco controlo da placa bacteriana tem como consequência o aparecimento de lesões de cárie, e periodontite (Donnel et al., 2015; Lee et al., 2015).

A placa bacteriana tende a acumular-se em zonas específicas dos dentes, tais como as fissuras existentes nos dentes e a interproximal. A composição bacteriana desta placa difere consoante a localização da acumulação da mesma (Marsh, Martin, Lewis & Williams 2009; Marsh & Bradshaw, 1995).

A margem gengival em particular tem uma flora bacteriana residente única, pelo facto de, pela influência do fluido crevicular presente nessa zona, apresentar maior percentagem de bactérias anaeróbias, como diferentes tipos de *Actinomyces* (*A. georgiae*; *A. naeslundii*, *A. odontolyticus*) *Bacteroides*, *Fusobacterium*, *Peptostreptococcus*, *Prevotella*, *Propionibacterium*, *Prevotella*, *Rothia dentocariosa*, *Selenomonas* e *Veilonella*. Estas conseguem extrair energia a partir das glicoproteínas e

moléculas proteicas aí exsudadas pelo hospedeiro (Marsh, Martin, Lewis & Williams 2009; Marsh & Bradshaw, 1995).

Pode existir acumulação de placa bacteriana nas fissuras das faces oclusais dos molares e pré-molares, onde normalmente o microbioma nessas localizações é formado por *Propionibacterium* e *Veilonella spp*, Gram-negativas e Streptococci, Gram-positivas. Estas últimas são responsáveis pela criação da matriz, via produção dos polissacarídeos necessários. É possível também encontrar em número menor, bactérias como *Neisseria spp* e *Haemophilus parainfluenzae* (Marsh, Martin, Lewis & Williams 2009; Marsh & Bradshaw, 1995).

A placa bacteriana interproximal, pela sua posição única abaixo do ponto de contacto entre os dentes é habitat a uma maior diversidade quando comparado com a placa existente nas fissuras. Microorganismos como *A. nashundii* e *A. odontolyticus* são encontrados com mais frequência nesta localização. *S. mutans* e *S. sobrinus* também são passíveis de ser encontrados nesta zona. *S. mitis*, *S. sanguinis* e *Neisseria* têm como habitat as localizações proximais acima ou em redor do ponto de contacto, interproximais (Marsh, Martin, Lewis & Williams 2009; Marsh & Bradshaw, 1995).

3.7 Patologias desenvolvidas a partir do Biofilme Oral

3.7.1 Periodontite

A doença periodontal é caracterizada por uma inflamação nos tecidos periodontais, podendo ser expressa de forma ligeira e reversível, chamada gengivite, em que a gengiva se apresenta inchada e a sangrar. Pode, porém, sofrer mudanças para um estado mais grave – periodontite - irreversível, em que os efeitos da destruição de tecido podem culminar na perda de peças dentárias. É uma infeção resultante de um biofilme subgengival bacteriano activo, que no seu auge atinge os dentes. As espécies encontradas com frequência neste contexto são *S. aureus* e *C. albicans*, e crê-se estarem associadas com doentes com diabetes, doentes neutropénicos, VIH/SIDA e com agranulocitose (Canabarro et al., 2013; O'Donnell et al., 2015; Shi et al., 2015).

O cerne da interação entre *S. aureus* e *C. albicans* são as células filamentosas desta última, já que *S. aureus* tem adesão preferencial a esta forma de hifas e forma microcolónias ao longo de todo o biofilme. *Candida* e *S. aureus* formam o núcleo de um

biofilme complexo e no qual se estabelecem não só relações de benefício mútuo, mas também antagônicas. Adicionalmente, a presença de *C. albicans* leveduriforme facilita a disseminação de *S. aureus* da superfície da mucosa oral, para a corrente sistêmica (Allison et al., 2016; Freiberg et al., 2015; Harriott & Noverr, 2011; O'Donnell et al., 2015).

3.7.2 Endodontite

As infecções endodônticas podem ter início com uma infecção na polpa do sistema do canal radicular e resultam de traumas sobre os dentes, nomeadamente, de infecções do tecido dentário, cariosas, ou quando uma periodontite atinge o ápice da raiz do dente (O'Donnell et al., 2015).

Existem evidências da existência de uma relação entre *Enterococcus faecalis*, agente etiológico principal da endodontite e *C. albicans*, muito embora os mecanismos específicos desta interação continuem por desvendar (O'Donnell et al., 2015).

3.7.3 Candidose Oral

A CO é a infecção fúngica mais frequente, resultante de um complexo biofilme rico em *Candida sp.*, mais concretamente *C. albicans* pelas características à mesma atribuídas (Gursoy, Ozcakir-Tomruk, Tanalp, & Yilmaz, 2013; Millsop & Fazel, 2016; O'Donnell et al., 2015; Richard, 2013).

A CO pode manifestar-se com diferentes apresentações clínicas, sendo possível uma classificação dividida em quatro tipos: o primeiro sendo a candidose pseudomembranosa, que é uma forma ubíqua de candidose oral que no caso de indivíduos com imunossupressão, há o risco de evolução para um estado crónico (como é o caso de pacientes VIH/SIDA positivos). Outro tipo é a candidose eritematosa aguda, que no caso de ocorrer evolução para um estado crónico pode despoletar diversas infecções ditas secundárias como: estomatite protética, queilite angular ou linear, candidose atrófica aguda ou crónica, eritema gengival e glossite romboide mediana. Ainda outro tipo é a candidose hiperplásica crónica. Finalmente, a candidose mucocutânea, que inclui a candidose orofaríngea, esofagite, candidose mucocutânea crónica (Kauffman, 2016; Millsop & Fazel, 2016; Williams & Lewis, 2011).

Por não existir ainda consenso nas diferentes classificações da CO, estas têm sido alvo de diversas alterações ao longo do tempo. A mais recente classificação divide a CO em primária (com subdivisões em candidiose eritematosa, hiperplásica e pseudomembranosa) e secundária (que inclui a candidiose mucocutânea sistémica) (Simões, Fonseca & Figueiral, 2013).

No que toca à candidose eritematosa esta pode ser agrupada em aguda e crónica. A fase aguda surge especialmente com o uso de antibioterapia de largo espectro, e a fase crónica com higiene oral incorreta, o uso extenso de prótese dentária, imunocompromisso devido a VIH/SIDA e corticoides. As lesões são avermelhadas, a mucosa oral apresenta-se seca e brilhante, as placas tendem a situar-se no dorso da língua, e na fase aguda provocam dor devido à formação de úlceras na superfície da mucosa (Marsh & Martin, 2005c; Simões Fonseca & Figueiral, 2013).

Quando há uma evolução de um estado agudo para uma situação crónica, as espécies que são frequentemente isoladas são: *C. albicans* e *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *C. guilliermondii* e *C. glabrata* (Marsh & Martin, 2005c).

Quanto à candidose hiperplásica, esta é identificada pela presença de lesões brancas, nodulares ou em placa, com formação de eritema, localizadas nos cantos da boca ou na língua (Marsh & Martin, 2005c; Scully, 2014; Simões et al., 2013).

A candidose pseudomembranosa, conhecida vulgarmente por aftas, é característica de doentes com terapêutica corticoide inalada ou outros fármacos que suprimam o sistema imunitário, e em indivíduos com doenças do foro oncológico ou autoimunes, e em transplantados. Os idosos e os recém-nascidos, dada a composição do seu microbioma oral, são também considerados grupos candidatos ao desenvolvimento desta infeção (P. Marsh & Martin, 2005c; Millsop & Fazel, 2016).

C. albicans é, regra geral, o microrganismo com mais responsabilidade no aparecimento da candidose pseudomembranosa (P. Marsh & Martin, 2005c).

A candidose mucocutânea dá nome a um grupo de infeções, presentes não só na cavidade oral, mas também na pele e unhas, tipifica-se por lesões pseudomembranosas. Origina-se predominantemente numa população mais jovem, crianças ou adolescentes, mas pode aparecer em adultos, normalmente associada a patologias como miastenia gravis. Pode também estar relacionada a imunodeficiências por parte do hospedeiro,

uma vez que estudos afirmam que indivíduos VIH/SIDA, cuja imunidade celular está comprometida, têm tendência a desenvolver micoses crónicas provocadas por *Candida* (P. Marsh & Martin, 2005c).

3.7.4 Cárie

A cárie dentária resulta da formação de biofilmes polimicrobianos sobre as superfícies mineralizadas dos dentes, provocando a destruição do esmalte e da dentina (Peters, Jabra-Rizk, O'May, Costerton, & Shirtliff, 2012).

Existem estudos que revelam que há uma associação entre *S. mutans* e *C. albicans* no desenvolvimento da cárie em que o lactato, excretado por *S. mutans* é utilizado por *C. albicans* como fonte de carbono, exacerbando o seu crescimento. Isto, entretanto, influencia os níveis de oxigénio, favorecendo assim o crescimento de *S. mutans*. Noutros estudos in vitro constatam que existe uma melhora da capacidade de adesão de *S. mutans* através das células filamentosas de *C. albicans* (Metwalli, Khan, Krom, & Jabra-Rizk, 2013).

3.7.5 Estomatite

A estomatite identifica-se como sendo uma inflamação da mucosa oral, sendo possível relacionar directamente esta patologia com a utilização de próteses dentárias, já que estas servem de substratos habitacionais para o desenvolvimento de biofilmes polimicrobianos (O'Donnell et al., 2015).

Em pacientes com estomatite protética são isolados com frequência vários microorganismos comensais da cavidade oral, como *C. albicans*, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus gordonii*, *S. aureus*, *Actinomyces viscosus* e *Fusobacterium*. Não obstante, a presença simultânea destes microrganismos, em grande concentração está também associada a infecções periodontais e cárie (Gulati & Nobile, 2016).

3.7.6 Infecção Orofaríngea e Respiratória

Em infecções pulmonares como a pneumonia ou fibrose cística, vários estudos indicam *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*) como sendo o principal agente etiológico. Tem sido também revelada a presença de *Candida* neste tipo de infecções, bem como em casos de doença pulmonar obstrutiva crónica (DPOC) e carcinoma pulmonar, evidenciando casos de co-infecção de *Candida* e *P. aeruginosa*. Isto dá a entender que existe a possibilidade de microorganismos patogénicos orais poderem estar envolvidos em infecções pulmonares e vice-versa. Um mecanismo provável para explicar este acontecimento pode ser a aspiração de secreções orais para os pulmões, constituindo assim a principal porta de entrada de patogénicos orais (Harriott & Noverr, 2011; O'Donnell et al., 2015).

Dito isto, actualmente o consenso é que *C. albicans* e *P. aeruginosa* possuem uma relação simultaneamente sinérgica, e antagónica no que toca à formação de biofilmes. Por exemplo, existem provas de que *P. aeruginosa* tem preferência em aderir a células filamentosas de *C. albicans*, podendo isto levar à lise destas últimas. Porém, através da maufactura de enzimas especializadas, *P. aeruginosa* é capaz de formar um biofilme sobre hifas mortas (Dhamgaye, Qu, & Peleg, 2016; Harriott & Noverr, 2011).

3.7.7 Carcinoma Oral

Várias bactérias podem ter um efeito potenciador carcinogénico. Por exemplo, em 1969, Cawson e Williamson afirmaram, pela primeira vez, que *Candida* tem uma intervenção significativa no aparecimento de carcinomas na mucosa oral. Estudos posteriores constataram uma relação entre a presença de *C. albicans* na boca e a malignidade de lesões pré-cancerosas. No entanto, os mecanismos específicos inerentes a esta associação permanecem, por enquanto, por descobrir (Kang et al., 2016).

Devido à natureza das interações existentes entre os microrganismos, acredita-se que o efeito carcinogénico de *Candida*, nomeadamente, *C. albicans*, pode estar relacionado com a formação de biofilmes polimicrobianos, e que tanto a forma filamentosa como a leveduriforme podem estar relacionadas com fenómenos malignos (Kang et al., 2016).

Infecções causadas por biofilmes polimicrobianos têm significativas consequências na morbidade e mortalidade e não são unicamente provocadas só por bactérias ou só por

fungos. De salientar também que *C. albicans* tem responsabilidade por 27-56% das infecções nosocomiais sistémicas, bem como outro tipo de infecções como fibrose cística, infecções do trato urinário, otite média e diversas patologias associadas a dispositivos médicos (Allison et al., 2016; Gulati & Nobile, 2016; Harriott & Noverr, 2011).

Mesmo que os mecanismos de interacção entre *Candida* e outros elementos do microbioma, responsáveis pela criação do biofilme misto sejam ainda desconhecidos, estudos têm proposto possíveis modos de interacção entre *Candida* e outras bactérias. A capacidade que as bactérias mostram de aderir às hifas da levedura, e as alterações do nível do pH provocadas por um dos microrganismos, bem como as modificações no nível de oxigénio e secreção de moléculas sinalizadoras, beneficiam o crescimento mútuo (Gulati & Nobile, 2016; Mukherjee & Chandra, 2015).

3.8 Mecanismos de defesa do hospedeiro

Contra as constantes agressões provenientes do meio externo e dos agentes patogénicos aí existentes, o corpo humano desenvolveu diversos mecanismos, com base em elementos interligados que permitem montar uma defesa contra essas agressões. Ao todo desses mecanismos dá-se o nome de sistema imunitário, que forma então um mecanismo de defesa face aos microrganismos patogénicos. Dentro do sistema imunitário distinguem-se dois tipos de mecanismos: a imunidade inata e a adquirida. Estes, muito embora não tenham acção isolada, não dependem um do outro para desenvolverem uma resposta imunitária (Costa, 2014; Parslow & Bainston, 2004).

Entre o sistema imunitário inato e o adquirido existem várias distinções sendo a principal o facto de a resistência inata responder quando há a apresentação do patogénico ao organismo pela primeira vez, enquanto a adquirida possui uma resposta praticamente nula no primeiro contacto com este. Isto quer dizer que a imunidade inata desenvolve uma resposta de defesa imediata, não específica a um agente patogénico específico. Já a adquirida só responde após exposição, e aumenta a sua resposta com a exposição a um patogénico específico sofrendo alterações na sua resposta ao longo do contacto com este (Parslow & Bainston, 2004).

No que diz respeito à imunidade inata, na superfície dos microrganismos existem moléculas identificadas como sendo padrões moleculares associados a patogénicos (PAMPs). Estes podem ser lipo-polissacarídeos, ácidos teicoicos e resíduos de manose. Tendo isto em conta, os mecanismos que fazem parte da resposta imunitária inata, como a libertação de agentes mediadores, fagocitose, fabrico de proteínas, citocinas e quimocinas e a ativação de proteínas do sistema do complemento, são desencadeados quando ocorre um reconhecimento dos PAMPs por parte dos recetores de reconhecimento de padrões do hospedeiro (PRRs). Dentro destes PRR, destacam-se os recetores pertencentes à família Toll-like (TLRs), que têm presença mais significativa em células efectoras do sistema imunitário inato tais como: neutrófilos, macrófagos e células dendríticas (Cruvinel et al., 2010).

Por sua vez, a imunidade adquirida possui como células principais os linfócitos. No entanto, as células apresentadoras de antígenos (APCs) como, por exemplo as células B, macrófagos e células dendríticas, também têm responsabilidade nesta resposta porque apresentam os antígenos aos linfócitos, estando associadas também a moléculas do complexo de histocompatibilidade major (major histocompatibility complex – MHC). As moléculas MHC de classe I são apresentadas a células T CD8, e estas diferenciam-se em células T citotóxicas com capacidade de provocar a apoptose as células infectadas. MHC II, por sua vez, são apresentadas a células T CD4, diferenciando-se estas em células TH1 e TH2 (Cruvinel et al., 2010; Janeway, Travers, Walport, & Shlomchik, 2005).

Nos passos iniciais de uma infecção oral (como por exemplo, uma infecção de *C. albicans*), o primeiro passo consiste na adesão do microorganismo aos queratinócitos orais. Neste momento ocorrem as interações entre PRRs e PAMPs que, servem como estímulo para a posterior a produção de citocinas como IL-1 β , IL-6 e IL-23. Por sua vez, estas citocinas instigam a diferenciação de Th17 e geram IL-17 e/ou IL-22. Outras células do sistema imunitário inato oral, como células Natural Killer (NK), células linfoides e as células T $\gamma\delta$, têm a capacidade de produzir o IL-17 na presença de microorganismos como *C. albicans*, em quantidades suficientes de modo que a IL-17 produzida é capaz de conferir uma resposta imunitária eficaz contra a levedura. Por outro lado, a ativação de células com capacidade fagocitária como macrófagos e neutrófilos tem um papel de semelhante importância na imunidade contra este tipo de infecções. Tendo isto em conta, as células dendríticas, constituem o elo de ligação entre

os dois sistemas, já que após desencadeada a resposta inata, são capazes de ativar as células T e, conseqüentemente, a resposta adquirida passa a ser regulada por células Th1, Th1, Th17 e células T reguladoras. Assim, tanto o sistema imunitário inato como o adquirido são mecanismos de defesa de crítica importância ao hospedeiro (Cruvinel et al., 2010; Feller, Khammissa, Chandran, Altini, & Lemmer, 2014; Kullberg, Veerdonk, & Netea, 2014; Richardson & Moyes, 2015; Wüthrich, Deepe, & Klein, 2012).

3.9 Biomateriais dentários e a sua interacção com o microbioma

O ecossistema microbiano oral no geral e a formação e desenvolvimento do biofilme em particular são influenciados pela presença de diferentes biomateriais restauradores na cavidade oral (Øilo & Bakken, 2015).

Para que se mantenha o equilíbrio no microecossistema da cavidade oral é necessário que esses materiais restauradores sejam biocompatíveis, isto é, segundo o Glossary of Prosthodontic Terms, “capazes de coexistir em harmonia com o meio biológico envolvente” (Driscoll et al., 2017).

Também o Glossary of Prosthodontic Terms atribui ao termo biomaterial a característica de ser “qualquer substância ou dispositivo que pode ser utilizado por um período de tempo indeterminado como sendo parte do sistema que trata, aumentando ou substituindo qualquer tecido, órgão ou função do corpo” (Driscoll et al., 2017).

Os biomateriais, diferentes na sua composição e forma, são passíveis de afectar benéfica ou nocivamente o equilíbrio do microbioma do hospedeiro. Os biomateriais utilizados podem modificar as características fisiológicas, físicas e químicas, intrínsecas à cavidade oral do hospedeiro (Øilo & Bakken, 2015).

A formação e acumulação de biofilme nestes biomateriais tem sido alvo de estudos alargados, já que a formação de biofilme nestes materiais é um acontecimento a evitar. A capacidade do biomaterial utilizado de inibir a formação deste biofilme é, de facto, um dos mais importantes factores no sucesso clínico de vários procedimentos (Øilo & Bakken, 2015; Teughels et al., 2006).

Localizações anatómicas húmidas, como é o caso da cavidade oral são propícios ao desenvolvimento de microorganismos e, com isso, biofilme tanto nos seus tecidos, como nos biomateriais aí incorporados. Outros sítios que possam albergar dispositivos

médicos possuem igual risco de formação de biofilme, como tubos de incubação, válvulas cardíacas e cordas vocais artificiais. (Francolini & Donelli, 2010).

3.9.1 Propriedades dos materiais dentários

As propriedades físicas dos biomateriais podem influenciar a formação e adesão do biofilme nas suas superfícies. Características como a composição química, a rugosidade, porosidade, hidrofobicidade e energia de superfície podem afectar a capacidade de adesão de bactérias aos diferentes biomateriais. Algumas destas características são também influenciadas pela forma de colocação dos biomateriais da cavidade oral (por exemplo, o tipo de polimerização que certos materiais sofrem) e pelas modificações que sofrem ao longo do tempo na cavidade oral (Aslanimehr, Rezvani, Mahmoudi, & Moosavi, 2017; Teughels et al., 2006).

A composição química do material restaurador tem efeito sobre a capacidade de adesão do biofilme, pois as bactérias (e as proteínas que elas usam para este processo) usam forças electroestáticas, forças van der Waals e reacções ácido-base. Ao longo do tempo, as propriedades do material podem ser alteradas devido à acção deste tipo de interacções químicas. (Øilo & Bakken, 2015).

A rugosidade da superfície do material tende a facilitar a acumulação de bactérias e dificulta a remoção mecânica do biofilme após colonização do material. Uma superfície mais lisa é menos propensa ao acumular de microorganismos, mas ao longo do tempo que o material está na boca as fissuras do material tendem a aumentar de número e tamanho, podendo servir de abrigo a elementos bacterianos, e facilitando a acumulação dos mesmos. A rugosidade nem sempre é uma característica que influencia a agregação abaixo de um determinado limiar de rugosidade ($R_a=0,2 \mu\text{m}$) considera-se que a rugosidade do material é negligenciável como factor de acumulação de biofilme (Øilo & Bakken, 2015; Teughels et al., 2006).

A energia de superfície do material deve ser baixa para diminuir a probabilidade de acumulação de biofilme. Lamentavelmente, a maioria dos materiais tende a ter um nível de energia de superfície mais elevado do que o esmalte, sendo a excepção à regra os materiais cerâmicos. Tende a existir maior risco de acumulação de biofilme na maioria dos materiais restauradores, quando comparados com o esmalte (Øilo & Bakken, 2015).

A agregação de biofilme em diferentes materiais é também influenciada pela interação tríplice entre a superfície do material, as proteínas salivares que aí aderem e a flora bacteriana oral (Susewind et al., 2015a).

Com a presença de materiais restauradores na cavidade oral, ocorre uma alteração do equilíbrio químico na área local à restauração que, quando aliada á presença de microfissuras e/ou espaços entre a restauração e o tecido dentário, dificulta a higienização e a remoção de placa bacteriana. Devido a este fenómeno, é comum o aparecimento de cáries secundárias, normalmente ligadas a restaurações infiltradas, partidas, ou com grande desgaste. (Øilo & Bakken, 2015; Olms et al., 2018).

Dependendo da técnica de adesão das diferentes restaurações, também se modifica o habitat disponível às bactérias. No caso da amalgama dentária, como não há adesão directa ao dente (toda a obturação fica no lugar devido ao formato do preparo dentário) existe um espaço vazio que permite colonização por parte da flora microbiana, e eventual surgimento de lesões cariosas (Øilo & Bakken, 2015).

Resinas compostas gozam de uma técnica que faz uso de um sistema adesivo que evita a formação dos espaços vazios presentes em amálgama. Porém, esta técnica exige uma manipulação mais cuidadosa dos materiais, de forma a evitar a criação de espaços vazios pela contracção da resina devido ao processo de polimerização. Contudo, com os devidos cuidados tomados, esta técnica dificulta a formação de cáries secundárias ao negar habitats aos microorganismos causadores de cárie. (Øilo & Bakken, 2015).

No caso das coroas em cerâmica, estas são ligadas ao tecido dentário pelo cimento, que também tem o propósito de tornar a união dente/cerâmica isenta de espaços vazios. Contudo, este cimento é sujeito a forças que infligem desgaste, o que pode levar à criação de espaços vazios e subsequente colonização por bactérias (Øilo & Bakken, 2015).

Materiais metálicos para uso oral podem ser polidos para diminuir a acumulação de biofilme, mas algumas bactérias têm afinidade com certos metais, e pode ocorrer adesão via forças electroestáticas (Busscher, Rinastiti, Siswomihardjo, & Van Der Mei, 2010).

Implantes são na sua maioria feitos de titânio, e apresentam duas partes, uma responsável por substituir as raízes dentárias, integrada no osso alveolar, e uma parte exposta ao meio oral. Esta última normalmente é formada por uma superfície mais lisa

com o intuito de ter fácil higienização e fraca aderência por parte da flora bacteriana. A porção interna de um implante tem uma superfície mais rugosa para facilitar o processo de osteointegração. É comum a existência de espaços vazios entre estas duas porções, e é nesses espaços que se torna possível a colonização bacteriana (Subramani et al., 2009).

No evento da colonização deste espaço as bactérias conseguem acesso à superfície rugosa, antes do desenvolvimento de osso nessa zona. A este fenómeno dá-se o nome de periimplantite, inflamação de rápida propagação e difícil de conter, pois nesta zona as bactérias podem disseminar-se através do osso ou dos capilares sanguíneos. A periimplantite, ao contrário da periodontite, tem uma maior variedade de espécies bacterianas e fúngicas, fenómeno que poderá provir da superfície de titânio do implante (Busscher et al., 2010; Subramani et al., 2009).

Materiais como cimentos de ionómero de vidro tem a capacidade de libertar flúor e dificultar a desmineralização do tecido dentário junto ao mesmo. Esta característica não existe em materiais poliméricos de outra origem (Øilo & Bakken, 2015).

Os materiais poliméricos como resinas acrílicas, compostas ou ionómeros de vidro têm regularmente uma superfície mais porosa e irregular que cerâmicas, metais ou o esmalte. O desenvolvimento do biofilme é auxiliado por estas porosidades, que acumulam humidade e servem como habitat propício para colonização e desenvolvimento de comunidades bacterianas, que produzem resíduos metabólicos de alta acidez, que por sua vez tornam a superfície do material ainda mais rugosa, o que dificulta a remoção deste biofilme (Busscher et al., 2010).

Devido a isto, desenvolveram-se protocolos de polimento e acabamento destes materiais para reduzir esta rugosidade de superfície (Busscher et al., 2010).

As coroas de restaurações cerâmicas são naturalmente mais lisas, polidas e fáceis de higienizar correctamente, mas devido à natureza do processo de usinagem usado na sua manufactura, as margens das coroas podem ter irregularidades, que podem servir de habitat para as bactérias (Øilo & Bakken, 2015).

As próteses dentárias removíveis alteram o equilíbrio do ecossistema oral entre bactérias patogénicas e não patogénicas, funcionando como novas superfícies para colonização de biofilme. Ocorrem alterações na mucosa que suportará a prótese e a

redução dos níveis de oxigénio disponível predispõem à formação de bactérias anaeróbias, em detrimento das aeróbias (Øilo & Bakken, 2015).

Ocorre colonização da prótese dentária por mecanismos semelhantes aos da colonização dos tecidos orais. As propriedades do material que constitui a prótese, a sua porosidade, rugosidade, energia de superfície e hidrofobicidade têm relação directa com a capacidade adesiva e de colonização por parte dos microorganismos. Neste tipo de ambiente, florescem bactérias do género *Candida*.

O facto de o material acrílico da prótese poder despoletar reacções adversas, com o aparecimento de feridas na mucosa, pode criar novos habitats para colonização bacteriana. Esta mucosa fragilizada é facilmente colonizada por bactérias e fungos, causando dor e edema (Aslanimehr et al., 2017).

O contacto entre a mucosa oral e as resinas de polimetacrilato (PMMA) convencionais pode causar este tipo de reacções adversas. Neste contexto, foi necessário a criação de alternativas que mantivessem as características das resinas acrílicas tradicionais, mas que não causassem reacções inflamatórias na mucosa. Isto levou ao desenvolvimento de resinas hipoalergénicas, como é o caso da poliamida. Este material tem tendência a ser menos poroso que as resinas convencionais, reduzindo a probabilidade de formação de biofilme. É, no entanto, mais macio (Aslanimehr et al., 2017; Susewind et al., 2015).

Porém, um estudo em 2011 revelou que existe maior crescimento do biofilme associado a uma resina poliamida quando comparado com uma resina PMMA. Outro estudo efectuado demonstrou que a adesão e desenvolvimento de um biofilme de *Candida* podem ser parcialmente inibido numa resina de PMMA devido à presença de monómeros residuais, não polimerizados, na sua estrutura (Susewind et al., 2015; Vojdani & Giti, 2015).

Nas resinas PMMA, porém, verificou-se maior diversidade de espécies bacterianas, contando com um maior número de espécies anaeróbias. Contudo, tanto estas resinas PMMA, como a poliamida são escolhas aceitáveis para utilização em clínica (Olms et al., 2018).

Muito embora materiais mais macios nas próteses sejam de maior conforto para o paciente, podem também em casos de deficiente higiene oral ser foco para mais

infecções, pois a sua estrutura tende a ser mais porosa, dando às bactérias mais espaço de habitats (Susewind et al., 2015).

A dificuldade de obter em laboratório a composição exacta do biofilme oral é razão para estudos *in vitro* e *in vivo* apresentarem resultados muito diferentes. Muitos estudos focam-se apenas num tipo de bactéria, ou num tipo de superfície, tornando complicado obter um ponto de comparação útil. Ainda nas próteses descreve-se o desenvolvimento de um biofilme associado a *Candida albicans*, um fungo. A velocidade de disseminação deste é subalterna às propriedades físicas do material, tais como a hidrofobicidade e a energia de superfície. *Candida*, devido ao seu grau de hidrofobicidade, consegue singrar em superfícies com grande contribuição polar para a energia de superfície (Koch et al., 2013; Susewind et al., 2015).

Estratégias para impedir a adesão e propagação de *Candida albicans* são essenciais. Isto é possível através de investimento em estratégias de melhoramento das propriedades dos materiais utilizados em prótese (Susewind et al., 2015).

Em 2015, um estudo por Susewind e seus colaboradores demonstrou um crescimento de *Candida* superior em superfícies metálicas, de cromo-cobalto, e inferior em resinas PMMA. Isto deve-se à contribuição polar do cromo-cobalto para a energia de superfície (Susewind et al., 2015).

Em 2018 um estudo efectuado por Olms e colaboradores revelou que em 50% das amostras extraídas da base de uma prótese continham *Actinomyces*, *Atopobium*, *Capnocytophaga*, *Neisseria*, *Prevotella*, *Streptococcus* e *Veilonella párvula*, sendo a presença de *S. aureus nula* e *S. epidermidis* reduzida. (Olms et al., 2018).

A adesão de *Candida albicans* em resinas acrílicas convencionais é superior do que em resinas acrílicas com forma dada por moldagem injectável. Isto pode dever-se ao facto das resinas convencionais serem preparadas manualmente com uma estratégia pó + líquido, passível de introduzir bolhas de ar e conseqüentemente, aumentar a porosidade do material, dando mais nichos habitáveis a microorganismos. Resinas de moldagem injectável são preparadas em cartuchos e a sua confecção mitiga este problema. A rugosidade, hidrofobicidade e energia de superfície diferentes para cada tipo de material também pode influenciar a adesão destas espécies de microorganismos (Aslanimehr et al., 2017).

As resinas de moldagem injectável têm características que as tornam em parte superiores às resinas convencionais. Têm boa estabilidade dimensional, boa adaptação aos tecidos, são menos susceptíveis a erros de confecção, mais fáceis de trabalhar e o biofilme tem menor adesão à sua superfície. Isto tende a evitar o aparecimento de infecções orais (Al-Bakri et al., 2014).

Em 2018 num trabalho realizado por Olms e colegas, revelou-se que não existem estudos suficientes que relacionem a constituição de espécies num biofilme na base de uma prótese com a compatibilidade da mesma nos tecidos (Olms, 2018).

A levedura do género *Candida* está presente na microflora oral de 30 - 55% dos adultos, sendo um microorganismo comum no bioma oral. Segundo Ng et al., em saúde a percentagem de *C. albicans* é superior à de *Candida* não-*albicans*. Estudos recentes, porém, revelam que *C. albicans* é a espécie de *Candida* mais prevalente num estado de infecção, seguindo-se de *C. dubliniensis*, *C. glabrata*, *C. guilliermondii*, *C. kefyr*, *C. krusei*, *C. parapsilosis* e *C. tropicalis*. (Krom et al., 2014; López-Martínez, 2010; Millsop & Fazel, 2016; Ng et al., 2015).

Candida é um microorganismo eucariota, com capacidade de se reproduzir sexuada e assexuadamente, sendo esta última a mais comum, permitindo uma dispersão eficaz. Ao usar conidiogénese tálica (formando esporos resistentes) e a conidiogénese blástica (formando por gemulação blastoconídios/blastóporos), *C. albicans* multiplica a sua carga bacteriana (Freitas, 2010).

4 Endocardite

As primeiras ligações feitas em relação a procedimentos cirúrgicos e Endocardite Infecçiosa (EI) foram publicadas por Osler em 1885, que relatou uma possível associação entre bacteremia e endocardite. Posteriores publicações relacionaram positivamente a endocardite à presença de bacterémias provocadas por procedimentos cirúrgicos, incluindo os procedimentos cirúrgicos dentários. Provada então a associação entre bacteremia provocada por procedimentos dentários e endocardite, pôs-se a descoberto a necessidade de criar protocolos de antibioterapia preventivos, tendo o seu início com a guia publicada pela American Heart Association (AHA) em 1995 (Fernández, Reyes, Benavides, Irarrázaval, & Padilla, 2018).

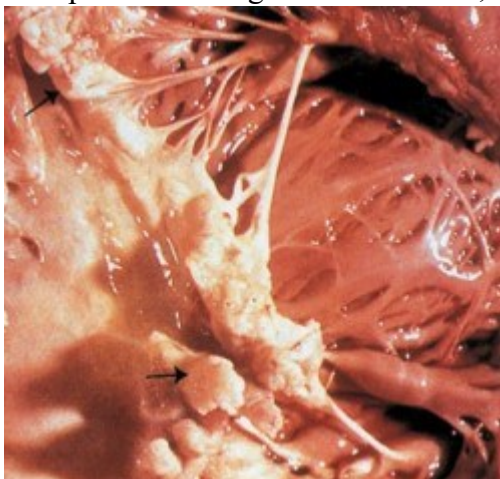
Actualmente existem diversas sociedades científicas focadas em cardiologia como a AHA e a European Society of Cardiology (ESC) que propõem metodologias de profilaxia antibiótica para pacientes denominados de alto risco (Fernández, Reyes, Benavides, Irarrázaval, & Padilla, 2018).

Várias populações têm risco acrescido de Endocardite Infecciosa, como por exemplo crianças com defeitos congénitos, idosos, portadores de próteses valvulares, utilizadores de drogas injectáveis e portadores de HIV (Forgie, 2016; Keynan & Rubinstein, 2016).

Em crianças a etiologia é geralmente diferente do que se pode encontrar em adultos. Nas culturas sanguíneas de crianças, consegue-se isolar vários tipos de coccus gram positivos – *S. aureus* (27-33% dos elementos isolados), bactérias do grupo *viridians* (32-43%), *staphylococcus* coagulase-negativos (CoNS) (2-12%) e *S. pneumoniae* (3-7%). Em estudos posteriores constatou-se que em 1500 admissões por endocardite pediátrica, 57% dos casos foram causados por *S. aureus* e 20% por *streptococcus* do grupo *viridians* (Forgie,2016).

4.1 Manifestações Clínicas

Vários tipos de manifestações clínicas existem para vários tipos de endocardite, abrangendo um leque de sintomas classificados entre agudos e subagudos. Dependendo do tipo de microorganismo causador, diferentes sintomas se manifestam. Por exemplo,



S. aureus, *pnneumococcus* e *Streptococcus* β -hemolíticos tendem a desenvolver sintomas de endocardite aguda (embora ocasionalmente *S. aureus* despolete sintomas subagudos), enquanto *Streptococcus viridans*, *Staphylococcus coagulase-negativos* (CoNS), *enterococcus* e o grupo *HACEK* têm tendência para causar sintomatologia subaguda (Jameson et al., 2018).

Figura 4- Depósitos de biofilme devido a *streptococcus viridans* envolvendo a valvula mitral (Adaptado de Jameson et al., 2020)

Nos pacientes com sintomatologia aguda é comum o desenvolvimento de febres altas, acima dos 39.4 - 40°C. Tal não se passa em pacientes com sintomatologia subaguda, onde existe o desenvolvimento de febre, mas esta raramente ultrapassa os 39.4°C (Jameson et al., 2018).

Os sintomas não cardíacos historicamente mais comuns de uma endocardite subaguda são as lesões de Janeway (pápulas eritematosas não dolorosas nas extremidades), ligados a infecções prolongadas. Com o diagnóstico e tratamento a serem feitos cada vez mais cedo, estes sintomas tornaram-se menos frequentes na população (Jameson et al., 2018).

Em casos de endocardite aguda, os sintomas não cardíacos tomam o aspecto de nódulos de Osler (nódulos eritematosos e sensíveis) e hemorragia subunhal. Estes sintomas são comuns em casos de endocardite provocada por *S. aureus* (Jameson et al., 2018).

Dor músculoesquelética é um sintoma comum a ambos os tipos de endocardite, assim como diversos tipos de infecções focais, comuns na pele, mas também passíveis de aparecer nos rins, na meninge, nos ossos e no baço. Também é comum o desenvolvimento de êmbolos arteriais (Jameson et al., 2018).

O risco de acidente vascular cerebral (AVC) durante a semana antecedente ao diagnóstico é de 8:1000. Este risco desce para 4.8:1000 na primeira semana após o início do tratamento, continuando a descer para 1.7:1000 na segunda semana após tratamento (Jameson et al., 2018).

Um paciente com endocardite pode também desenvolver meningite purulenta ou asséptica, hemorragias intercranianas ou aneurismas. O surgir de microabscessos cerebrais e na meninge foram ligados à endocardite causada por *S. aureus* (Jameson et al., 2018).

Em utilizadores de drogas injectáveis que desenvolvem endocardite, 50% dos casos são limitados à zona da válvula tricúspide, sem sopro cardíaco nem manifestações periféricas, mas com o desenvolvimento de febre (Jameson et al., 2018).

4.2 Diagnóstico

Para um diagnóstico correcto, tem de ocorrer uma avaliação capaz de detectar factores clínicos, microbiológicos, com auxílio de métodos complementares de diagnóstico ecocardiográficos. Febre é um sintoma comum. Deve-se ter em atenção se o paciente apresenta algum factor que revele predisposição para o desenvolvimento de endocardite (por exemplo: enfartes ou AVCs), ou quando análises ao sangue revelam microorganismos passíveis de causar endocardite (Jameson et al., 2018).

O diagnóstico de endocardite pode ser facilitado com a utilização de um protocolo específico para a detecção de endocardite – Modified Duke Criteria. Inicialmente criado como uma ferramenta de pesquisa, concluiu-se que este método pode auxiliar no diagnóstico precoce e correcto de uma situação de endocardite. Não obstante, o médico deve ter em conta todo o contexto em redor de cada caso individual, de modo que o diagnóstico seja correcto (Jameson et al., 2020).

| Modified Duke Criteria | | |
|------------------------|---|--|
| Critérios Major | | |
| | Análises sanguíneas positivas para o aparecimento de microorganismos | <ul style="list-style-type: none"> • Microorganismos que se conhece serem causadores de IE – <i>S. viridans</i>, <i>S. aureus</i>, <i>Enterococcus</i>; presentes em duas análises diferentes, OU • Microorganismos que se conhece serem causadores de IE em análises separadas no tempo por >12h, OU • Presença de <i>Coxiella burnetii</i> ou anticorpos IgG > 1:800 numa análise |
| | Provas de envolvimento do tecido endocárdico | <ul style="list-style-type: none"> • Ecocardiograma com provas de envolvimento do tecido endocárdico: massa intracárdica inconstante, massas detectadas nas válvulas ou no tecido envolvente, regurgitação inexplicável, abscessos, afecção de válvulas protéticas, OU • Regurgitação valvular não preexistente (aumento ou mudança de sopro preexistente não se considera) |
| Critérios Minor | | |
| | <ul style="list-style-type: none"> • Problemas cardíacos preexistentes, utilização de drogas injectáveis; • Febre $\geq 38^{\circ}\text{C}$ • Problemas vasculares: enfartes pulmonares, embolismos nas artérias major, aneurismos micóticos, hemorragias intracranianas e conjuntivas, lesões de Janeway • Problemas imunológicos: glomerulonefrites, nódulos de Osler, manchas de Roth • Evidencias microbiológicas: culturas de sangue positivas, mas não concomitantes com os critérios major | |

Tabela 3 – Modified Duke Criteria para o diagnóstico clínico de Endocardite Infecciosa (Adaptado de Jameson et al, 2018)

Testes serológicos podem ser utilizados para identificar microorganismos difíceis de detectar em testes sanguíneos, tais como *Bartonella*, *Brucella*, *Chlamydia psittaci*, *Legionella* e *C. burnetii*. Elementos patogénicos conseguem ser identificados em testes PCR, programados para detectar sequências de DNA microbial que codifiquem as unidades ribossomais 16S ou 28S ou o rRNA 16S ou 28S. Isto permite a identificação de diversas espécies de bactérias e fungos (Jameson et al., 2018).

4.3 Etiologia

Embora existam muitas espécies de bactérias e fungos passíveis de provocar endocardite, um grupo específico de espécies bacterianas é responsável pela maioria dos casos. A boca, a pele e o tracto respiratório superior são considerados os portais de entrada primários para infecções provocadas por *Streptococcus* do grupo *viridans*, *Staphylococcus* e microorganismos do grupo *HACEK* (espécies *Haemophilus*, espécies *Aggregatibacter*, *Cardiobacterium hominis*, *Eikenella corrodens* e *Kingella kingae*). Uma espécie de *Streptococcus*, *gallolyticus*, subespécie *gallolyticus* (anteriormente *S. bovis* biótipo 1) comensal do tracto gastrointestinal (onde está associada a pólipos no colon) pode ter acesso à corrente sanguínea através do trato geniturinário (Jameson et al., 2018; Zipes, 2019).

Endocardite de válvula nativa (NVE) pode ter um início relacionado com ambiente hospitalar em 55% dos casos (45% iniciam-se na comunidade), sendo os principais microorganismos causadores a *S. aureus*, *CoNS* e *Enterococcus* (Jameson et al., 2018; Zipes, 2019).

A endocardite associada a prótese valvular (PVE) que surge dentro de 2 meses após a cirurgia valvar - ou seja, PVE precoce - é geralmente de origem hospitalar, resultante de contaminação da prótese durante a operação, ou de uma complicação pós-operatória bacteriémica. Esta origem nosocomial é óbvia, tendo em conta os principais microorganismos responsáveis: *S. aureus*, *CoNS*, *difteróides*, bacilos gram-negativos facultativos e fungos. Casos de endocardite iniciados por *CoNS* têm especial menção dado que entre 68 a 85% das estirpes destas bactérias são resistentes a metilicina (Jameson et al., 2018; Zipes, 2019).

Endocardite associada a dispositivos médicos electrónicos cardio-implantados (CIEDs), como pacemakers, ocorre em 0,5 a 1.14 casos por cada 1000 pacientes. Nestes casos, a infecção regularmente envolve ou o dispositivo em si, ou os pontos de contacto entre o dispositivo e o endotélio, com probabilidade de existir infecções concomitantes das válvulas mitral e aórtica. Cerca de 1/3 destes casos revelam-se 3 meses após a cirurgia, 1/3 surge após 4 a 12 meses e os restantes casos apresentam-se após 1 ano. *CoNS* e *S. aureus* são os principais causadores, ambos registando uma resistência à meticilina (Jameson et al., 2018; Zipes, 2019).

Em casos de endocardite em que não é detectada bacteremia (5 a 15%), entre 1/3 a 1/2 destes casos, tal ocorre por aplicação prévia de antibióticos. Os restantes casos são provocados por microorganismos como *Granulicatella* e *Abiotrophia*, bactérias do grupo *HACEK*, *Coxiella burnetii*, *Brucella* e *Bartonella*. Alguns destes microorganismos estão associados a regiões específicas (*Bartonella* e *C. burnetii* na Europa, *Brucella* no Médio Oriente). Estas bactérias têm também comportamentos diferentes ao provocar Endocardite, com espécies como *Tropheryma whippelii* a causar uma forma não-febril, bacteremia-negativa, *C. burnetii* tende a causar mais infecções em próteses valvulares e *Corynebacterium* tende a acoplar-se a dispositivos intracardíacos, sendo também esta última de crescimento muito lento no que toca a bacteremia, sendo difícil de detectar em análises ao sangue (Jameson et al., 2018; Zipes, 2019).

Endocardite associada ao uso de drogas injectáveis é regularmente causada por *S. aureus*, especialmente quando associada à válvula tricúspide, e é em muitos casos também resistente à meticilina. Infecções do lado esquerdo cardíaco têm uma etiologia mais variada, com *Pseudomonas aeruginosa* e *Candida* a serem os principais causadores, mas esporadicamente podem surgir casos de infecção associadas a *Bacillus*, *Lactobacillus* e *Corynebacterium*. É também comum em utilizadores de drogas injectáveis o surgimento de endocardites associadas a infecções polimicrobiais. Infecção por HIV não tende a influenciar a taxa de endocardite nesta população (Jameson et al., 2018; Zipes, 2019).

| Microorganismos causadores de formas de Endocardite | | | | | | | | | |
|---|-------------------------------------|---------------------------------------|------------------------------|-------------------|-------------------|--|-------------------|---------------|--------------|
| Organismos | Percentagem de casos de endocardite | | | | | | | | |
| | E. de válvula nativa | | E. de prótese valvular após: | | | E. em utilizadores de drogas injectáveis | | | |
| | Adquirida na comunidade (N=1718) | Adquirida em amb. Hospitalar (N=1110) | <2 meses (N=114) | 2-12 meses (N=31) | >12 meses (N=194) | Lado Esq. (N=346) | Lado Dir. (N=204) | Total (N=675) | CIED (N=337) |
| <i>Streptococcus</i> | 40 | 13 | 1 | 9 | 31 | 5 | 15 | 12 | 2 |
| <i>Pneumococcus</i> | 2 | - | - | - | - | - | - | - | - |
| <i>Enterococcus</i> | 9 | 16 | 8 | 12 | 11 | 2 | 24 | 9 | 4 |
| <i>S. aureus</i> | 28 | 52 | 22 | 12 | 18 | 77 | 23 | 57 | 36 |
| <i>Staphylococcus coagulase negativos</i> | 5 | 11 | 33 | 32 | 11 | - | - | - | 41 |
| <i>Bactérias do grupo HACEK *</i> | 3 | - | - | - | 6 | - | - | - | - |
| <i>Candida spp.</i> | <1 | 1 | 13 | 3 | 6 | 5 | 13 | 4 | 2 |
| Misc./Polimicrobial | 3 | 3 | 3 | 6 | 5 | 8 | 10 | 7 | 2 |
| <i>Difteróides</i> | - | <1 | 6 | - | 3 | - | - | 0.1 | 1 |
| Cultura sanguínea negativa | 9 | 3 | 5 | 6 | 8 | 3 | 3 | 3 | 6 |

Tabela 4 – Microorganismos causadores de diversas formas de Endocardite (* inclui *Haemophilus spp*; *Aggregibacter spp*; *Cardiobacterium horninis* e *Kingella kingae*) (Adaptado de: Jameson et al., 2018)

4.4 Epidemiologia

A epidemiologia da endocardite infecciosa, pela combinação de factores como o aumento da esperança de vida, a carga de doenças crónicas assumida pelos pacientes (estes cada vez com mais idade), a imunossupressão causada por tratamentos cada vez mais sofisticados em situações de transplantes e cancros e o aumento de infecções relacionadas com ocorrências iatrogénicas causadas por dispositivos médicos, está em mudança, pois todos estes factores podem aumentar o risco para o aparecimento de endocardite infecciosa (Keynan & Rubinstein, 2016).

Mesmo estando a epidemiologia em mudança, a incidência de Endocardite Infecciosa (EI) nos últimos 100 anos não sofreu alterações significativas. Isto apesar da evolução vertiginosa das técnicas utilizadas para a detectar. Muito embora a detecção de bacteremia tenha melhorado imenso neste período, e a introdução da ecocardiografia tenha sido um passo revolucionário no seu diagnóstico, estudos epidemiológicos

mostram que a endocardite infecciosa nos EUA dá conta de apenas 1 por cada 1000 entradas no hospital. Isto pode estar relacionado tanto com os critérios de identificação de casos ser insuficiente (por não identificar casos prováveis ou possíveis), como com viés de publicação (Keynan & Rubinstein, 2016).

4.4.1 Idosos

Mesmo com a incidência da Endocardite a manter-se relativamente inalterada, estudos recentes demonstraram algumas mudanças na epidemiologia e características clínicas da doença. Nos anos 50, quando doenças como a febre reumática eram ubíquas e antes do uso alargado de fármacos antibióticos como a penicilina, a incidência da Endocardite era mais elevada em pacientes com idades entre os 20 e os 30 anos, com apenas 5% dos pacientes a terem mais de 60 (Chan & Embil, 2016; Keynan & Rubinstein, 2016).

Actualmente a incidência aumentou significativamente em pacientes com mais de 50 anos, com mais prevalência entre os 70 e os 74 anos de idade. Mais de 50% dos pacientes que sofrem de endocardite actualmente têm mais de 50 anos. Num estudo por Murdoch et al., cerca de 2781 adultos diagnosticados com EI foram admitidos em 58 hospitais em 25 países diferentes, num período entre 2000 e 2005. A media de idades era de 57.9 anos, e a causa mais proeminente era a degeneração valvular associada à idade com afecção da válvula mitral contabilizando 43.3% dos casos e a aórtica a perfazer 26.3% (Chan & Embil, 2016; Keynan & Rubinstein, 2016).

Várias explicações são possíveis para este aumento da incidência da EI com a idade. O número de doenças coronárias reumáticas (e o contributo que elas tinham para patologias valvulares) diminuiu vertiginosamente desde há 40 anos atrás – de mais de 50% de prevalência para menos de 5% actualmente. As doenças valvulares degenerativas (que são mais passíveis de aparecer em idades avançadas) perfazem agora mais de um terço dos casos de endocardite infecciosa nativa. Com o aumento da esperança de vida, um indivíduo pode acumular lesões cardíacas passíveis de alterar o fluxo hemodinâmico no coração, podendo estar a desenvolver zonas de turbulência – efectivamente criando condições para a formação de trombos fibrinosos, que fazem parte do início do aparecimento de situações de endocardite (Chan & Embil, 2016; Keynan & Rubinstein, 2016).

Adicionalmente, com a idade aparecem também doenças como a hipertensão, arteriosclerose e doenças renais, que podem potenciar o aparecimento de fluxos turbulentos (Chan & Embil, 2016; Keynan & Rubinstein, 2016).

Outro factor de alguma importância pode ser a falta de higiene oral, que tende a ser cada vez mais difícil com a idade. Deficiências da higiene oral tendem a aumentar o risco de infecções orais, que por sua vez aumentam o risco de bacteremia, e assim aumentar o risco de se desenvolver EI (Chan & Embil, 2016; Keynan & Rubinstein, 2016).

É de notar que é também com o avançar da idade que se tornam mais comuns as próteses de válvulas cardíacas, e que a idade em que um indivíduo é elegível para cirurgias cardíacas tem estado continuamente a aumentar. Pacemakers, stents e desfibrilhadores também se tornam mais comuns em idades mais avançadas, aumentando para este grupo etário o risco de endocardite (Chan & Embil, 2016; Keynan & Rubinstein, 2016).

4.4.2 Utilizadores de Drogas Injectáveis

Este grupo populacional, pelos seus hábitos, está em risco constante de aquisição de Endocardite Infecciosa. É também vulnerável às complicações sérias que desta doença advêm. Nos últimos 30 anos houve aumento da utilização de drogas injectáveis e concomitante aumento da incidência de Endocardite Infecciosa (Chan & Embil, 2016; Keynan & Rubinstein, 2016).

A incidência de endocardite infecciosa em utilizadores de drogas injectáveis é de 2 a 5% por ano, sendo responsável por 5 a 8% das entradas hospitalares neste grupo. A incidência média nesta população é de 1 a 20 para cada 10000 indivíduos, e é responsável por 5 a 10% da média de óbitos nos EUA. Foi descrito num estudo no Detroit Medical Center por Levine et al., que acompanhou 74 casos de Endocardite infecciosa nesta população e comparou-as com um grupo de controlo, que das situações de infecção aguda (que perfazem 60% das entradas em hospital desta população), 5 a 15% dos casos são de Endocardite Infecciosa. O rácio ♂/♀ era de 5.4:1, em que os homens afectados tinham tendencialmente mais idade (media de idade ♂: 32.7 vs 3.14♀), com um historial de adicção mais prolongado (10.2 anos em ♂, vs 7.1 anos em

♀) Neste estudo 60.8% dos casos eram causados por *S. aureus* (Chan & Embil, 2016; Keynan & Rubinstein, 2016).

Outro estudo, por Chambers e colegas, revelou que a cocaína podia ter uso como marcador preditivo para o aparecimento de endocardite, muito embora o mecanismo pelo qual a cocaína aumenta este risco não tenha sido descoberto. (Chan & Embil, 2016; Keynan & Rubinstein, 2016).

4.5 Profilaxia

A prevenção da endocardite sempre foi considerada como um dos objectivos da prática clínica como a conhecemos. Tem como base a profilaxia com agentes antibióticos. Este tipo de profilaxia tem sido utilizado para evitar IE derivada de procedimentos dentários invasivos desde 1950 em pacientes de risco. Contudo, entre 2007 e 2009, várias instituições consideradas como autoridades no que toca a cuidados de saúde recomendaram uma maior restrição dos casos em que é administrada a profilaxia já que se constatou que as evidências científicas que suportam a profilaxia antibiótica são insuficientes para a aplicar em todas as situações, isto tendo em conta também os custos e o potencial existente de efeitos adversos associados ao uso de ATB's. Contabilizando os prós e os contras, instituições como a American Heart Association (AHA) e a European Society of Cardiology (ESC) têm lançado recomendações, determinando quais os casos em que é aplicável um regime de profilaxia antibiótica (Hafner, Albittar, Abdel-Kahaar, & Zolk, 2020; Jameson et al., 2018).

Em 2008, o National Institute for Health and Care Excellence (NICE), autoridade responsável por guidelines de saúde no Reino Unido publicou nas suas guidelines que não existe necessidade de profilaxia antibiótica, citando estudos insuficientes e/ou inconclusivos para justificar as suas conclusões (Wray et al., 2008).

As guidelines para a profilaxia antibiótica da Endocardite Infecciosa sofreram revisões em 2007, segundo a American Heart Association (AHA). Uma toma profilática de antibióticos é recomendada apenas a pacientes de alto risco, aquando da necessidade de procedimentos que necessitem a manipulação de tecidos irrigados, como os gengivais, periapicais e a própria mucosa oral. É o caso de pacientes de alto risco para endocardite, como portadores de próteses valvulares, portadores de transplantes cardíacos, pacientes

com defeitos cardíacos congénitos com doença cianótica não tratada, pacientes com defeitos cardíacos congénitos tratados com prótese valvular, ou pacientes que receberam tratamento cirúrgico cardíaco há menos de 6 meses. (Chan & Embil, 2016; Jameson et al., 2018)

A dose preferencial para profilaxia nestes casos passa pela toma de 1 dose de amoxicilina (2g), 30 a 60min antes do procedimento, ou em caso de alergia à penicilina, a toma de clindamicina (600mg), cafalexina (2g) ou azitromicina (500mg). De salientar que a clindamicina já não é recomendada pela AHA, tendo sido em alguns casos substituída pela Doxiciclina (100mg) (Chan & Embil, 2016; Wilson et al., 2021)

| Regimes de ATB para profilaxia de endocardite em adultos com lesões cardíacas de alto risco |
|--|
| Regime normal: <ul style="list-style-type: none"> • Amoxicilina, 2g, 1h antes do procedimento, toma oral |
| Regime em caso de não ser possível toma oral: <ul style="list-style-type: none"> • Ampicilina, 2g, 1h antes do procedimento, IV ou IM • Cefaloxina ou ceftriaxona, 1g, 1h antes do procedimento, IV ou IM |
| Regime em caso de alergia à penicilina: <ul style="list-style-type: none"> • Claritromicina ou azitromicina, 500mg, 1h antes do procedimento, toma oral • Cefalexina, 2g, 1h antes do procedimento, toma oral • Doxiciclina, 100mg, 1h antes do procedimento, toma oral |
| Em caso de alergia à penicilina e de não ser possível toma oral: <ul style="list-style-type: none"> • Cefazolina ou ceftriaxona, 1g, 30min antes do procedimento, IV ou IM |

Tabela 5 – Regimes de ATB para profilaxia de endocardite em adultos com lesões cardíacas de alto risco. Nota: A clindamicina já não é, segundo a AHA, recomendada para profilaxia antibiótica para um procedimento dentário (adaptado de Jameson et al, 2018; Wilson et al., 2021)

Pacientes que passaram por broncoscopia de incisão ou biopsia da mucosa também necessitam de profilaxia antes de tratamentos dentários, com cefazolina, 2g, ou ceftriaxona, 1g, administradas intravenosamente. Em pacientes a fazer tratamentos gastrointestinais (GI) ou genitourinários (GU) não é recomendada a profilaxia antibiótica, sendo aplicável uma recomendação para profilaxia apenas em caso de infeções já estabelecidas nos tractos GI e GU. Aqui é pertinente tratar da infeção

antes de executar quaisquer tratamentos cirúrgicos. Nesses casos é conveniente uma profilaxia com foco especial no combate contra *enterococcus* (ex: ampicilina ou vancomicina) (Chan & Embil, 2016; Jameson et al., 2018).

4.5.1 Complicações associadas à profilaxia

Como a EI pode ser potencialmente fatal, fazer profilaxia com ATB parece ser uma precaução razoável. No entanto, o benefício da aplicação de profilaxia em pacientes de grupos de risco (mas, todavia, saudáveis) deve ser superior aos riscos implícitos. Entre as principais complicações associadas à administração de profilaxia incluem-se as reações alérgicas, efeitos colaterais tóxicos dos antibióticos administrados, interações adversas com outros fármacos e desenvolvimento de organismos resistentes (Chan & Embil, 2016; Jameson et al., 2018).

Estes estudos foram feitos na década de 80, e levaram à alteração de guidelines de diversos países nessa altura, de modo que apenas pacientes de risco fossem alvo de profilaxia, não existindo actualmente estudos suficientes e actuais sobre o resultado no rácio risco/benefício das modificações feitas nessa altura (Chan & Embil, 2016).

Outro problema potencialmente associado à toma profilática de antibióticos passa pelo risco de criação de microorganismos resistentes aos antibióticos. Foram reportados casos de EI causada por *S. mitis* após procedimentos dentários, que se desenvolveu apesar da toma profilática adequada de amoxicilina (Chan & Embil, 2016).

De salientar também que as guidelines actuais estão em grande parte baseadas em estudos epidemiológicos que indicam os *Streptococcus* do grupo *viridans* como sendo os patógenos com maior proeminência. Tal pode não ser necessariamente correcto, já que estudos relativamente recentes tendem a mostrar *S. aureus* como o microorganismo prevalente em casos de EI (Chan & Embil, 2016; Fowler et al., 2005).

4.6 Terapêutica

Para um tratamento eficaz da endocardite, é necessário eliminar totalmente a presença de microorganismos do tecido cardíaco. Contudo, devido às características da infecção e da insuficiente capacidade que as defesas do hospedeiro têm neste local, uma terapia antimicrobiana deve ser prolongada e de aspecto bactericida (Jameson et al., 2018).

A terapêutica para o tratamento de endocardite deve ser feita de acordo com o tipo de microorganismo em destaque nas análises sanguíneas que acusam bacteremia, para maximizar o efeito da terapêutica antimicrobiana (Jameson et al., 2018).

4.6.1 Terapia antimicrobiana

4.6.1.1 *Enterococcus*

Este tipo de bactérias é vulnerável a antibióticos que tenham acção sobre a sua parede celular (como a penicilina, a ampicilina, a teicoplanina e a vancomicina), especialmente quando combinados com inibidores de síntese proteica, como por exemplo os antibióticos aminoglicosídeos (streptomicina e gentamicina), numa combinação sinérgica (Jameson et al., 2018).

Os *Enterococcus* foram observados a mostrar resistência a fármacos como a nafcilina, oxacilina e às cefalosporinas. A penicilina e outros antibióticos com efeito sobre a parede celular, tomados isoladamente, demonstram apenas um efeito bacteriostático – não bactericida – sobre os *Enterococcus* (Jameson et al., 2018).

Se se demonstrar em amostras isoladas de análises sanguíneas que os *Enterococcus* conseguem reproduzir-se na presença de antibióticos com acção na parede celular e em concentrações elevadas de agentes aminoglicosídeos (gentamicina $\geq 500 \mu\text{g/mL}$ ou streptomicina a $1000\text{-}2000 \mu\text{g/mL}$), está-se perante uma situação em que a acção sinérgica prevista entre os fármacos não ocorre. Resistência à gentamicina é indicativa também de uma provável resistência a outros fármacos, como a netilmicina, tobramicina, amicacina e kanamicina. De facto, tirando a gentamicina e a streptomicina, é difícil prever se outros fármacos aminoglicosídeos terão acção sinérgica com outros antibióticos. Testes in vitro mostraram potencial na combinação ampicilina + ceftriaxona/cefotaxima, no combate de *E. faecalis* (Jameson et al., 2018).

Se for provada uma resistência tanto a streptomina, como a gentamicina, assume-se que não há possibilidade de existir acção sinérgica entre um destes agentes aminoglicosídeos e um disruptor de parede celular. Assim recomenda-se não administrar um aminoglicosídeo nesta situação. Em alternativa, prolonga-se o tratamento com um disruptor de parede celular para entre 8 a 12 semanas. No caso de os *Enterococcus* mostrarem em testes a capacidade de produzirem β -lactamase, ampicilina ou vancomicina podem ser utilizados como agentes com acção na parede celular (Jameson et al., 2018).

Quando comparada com a dose de uma terapia para outros tipos de infecções, a dose de gentamicina necessária para conseguir efeitos bactericidas no tratamento de uma endocardite é menor. Dito isto, nefrotoxicidade (ou toxicidade vestibular com o uso de streptomina) não é incomum, devido à duração mais prolongada do tratamento, de cerca de 4 a 6 semanas. Regimes de tratamento com utilização de gentamicina de duração mais curta, de 2 a 3 semanas também têm sido associadas a sucessos curativos, com menor nefrotoxicidade resultante do tratamento (Jameson et al., 2018).

Estudos sugerem que a combinação ampicilina + ceftriaxona pode ser tão eficaz (e com menor nefrotoxicidade) que a combinação penicilina/ampicilina + um aminoglicosídeo, no tratamento de endocardite causada por *E. faecalis*. Esta combinação de ampicilina + ceftriaxona pode também servir como uma alternativa viável em pacientes infectados com uma estirpe de *Enterococcus* resistente a gentamicina e streptomina, ou em pacientes com problemas renais, susceptíveis à nefrotoxicidade potencial relacionada aos aminoglicosídeos (Jameson et al., 2018).

| Tratamento antibiótico de <i>Enterococcus</i> | |
|---|--|
| Fármaco + dose + duração | Notas |
| Penicilina G (4 a 5 mU IV a cada 4h) por 4 a 6 semanas + Gentamicina (1mg/kg/dia IV, a cada 8h) por 4 a 6 semanas | Toma de fármacos eficaz no tratamento de NVE se sintomas têm menos de 3 meses, se tomados durante 4 semanas. Prolongado para 6 semanas consegue tratar NVE e PVE com mais de 6 meses. Pode ser reduzida a toma de gentamicina em alguns pacientes. Pode também ser substituída a gentamicina por streptomina se não for demonstrada resistência contra esta última |
| Ampicilina (2g IV a cada 4h) por 4 a 6 semanas + Gentamicina (1g/kg a cada 8h IV) por 4 a 6 semanas | Pode ser utilizada amoxicilina em vez de ampicilina, na mesma dosagem |
| Vancomicina (15mg/kg IV a cada 12h) por 6 semanas + Gentamicina (1g/kg a cada 8h IV) por 6 semanas | Terapia recomendada apenas para pacientes alérgicos a penicilina, ou contra microorganismos que mostram resistência a penicilina |
| Ampicilina (2g IV a cada 4h) por 6 semanas + Ceftriaxona (2g IV a cada 12h) por 6 semanas | Terapia recomendada para uso contra infecções por <i>E. faecalis</i> , com ou sem resistências contra gentamicina e streptomina, ou em pacientes com alto risco renal, que não possam tomar aminoglicosídeos |

Tabela 6 – Terapias antibióticas para tratamento de endocardites causadas por *Enterococcus*.

(Adaptado de, Jameson et al., 2018)

4.6.1.2 *Streptococcus*

A terapia recomendada para o tratamento por *Streptococcus* é baseada na concentração mínima inibitória (CMI) de penicilina, eficaz contra o microorganismo isolado. Devem ser tomados cuidados para evitar nefro e ototoxicidade em tratamentos que utilizem aminoglicosídeos. O tratamento de endocardite de válvula protética (PVE) ou válvula nativa (NVE) não deve ser baseado na toma de penicilina/gentamicina + ceftriaxona se existirem complicações cardíacas como abscessos (Jameson et al., 2018).

EI causada por *S. pneumoniae* sem meningite associada pode ser tratada com penicilina com um CMI ≤ 4 $\mu\text{g/mL}$ a cada 4 horas, com cefotaxima (2g/dia, dose unitária) ou com ceftriaxona (dose igual a cefotaxima), ou com vancomicina. Em casos em que a CMI

dos patógenos seja $\geq 2 \mu\text{g/mL}$, é preferível o uso de ceftriaxona ou vancomicina. No caso de meningite estar presente como sintoma da infecção, é prudente iniciar-se o tratamento desta com vancomicina + ceftriaxona, às doses aconselhadas para a meningite, mesmo sem os resultados das análises de susceptibilidade das bactérias serem conhecidos. Com base nos resultados da terapia para a meningite, ajusta-se a terapia para a IE (Jameson et al., 2018).

| Tratamento antibiótico de <i>Streptococcus</i> | | |
|--|---|--|
| Tipo de bactéria | Fármaco + dose + duração | Notas |
| <i>Streptococcus</i> susceptíveis à penicilina, <i>S. gallolyticus</i> (CMI $\leq 0.12 \mu\text{g/mL}$) | Penicilina G (2–3 mU IV a cada 4h por 4 semanas) | Pode ser usada ampicilina ou amoxicilina (2g a cada 4h, IV) se penicilina estiver indisponível |
| | Ceftriaxona (2g/dia em toma única IV por 4 semanas) | Pode ser usada em pacientes alérgicos a penicilina |
| | Vancomicina (15mg/kg IV a cada 12h por 4 semanas) | Pode ser usada em pacientes com alergia a β -lactâmicos |
| | Penicilina G (2–3 mU IV a cada 4h) OU Ceftriaxona (2g/dia em toma única IV) por 2 semanas + Gentamicina (3mg/kg/dia IV/IM ou em doses iguais, a cada 8h por 2 semanas) | Regime a ser evitado se existir risco de toxicidade associada a aminoglicosídeos e em PVEs |
| Streptococcus relativamente resistentes à penicilina, <i>S. gallolyticus</i> (CMI > 0.12 e $< 0.5 \mu\text{g/mL}$) | Penicilina G (2–3 mU IV a cada 4h) OU Ceftriaxona (2g/dia em toma única IV) por 4 semanas + Gentamicina (3mg/kg/dia IV/IM ou em doses iguais, a cada 8h por 2 semanas) | Pode ser usada ampicilina ou amoxicilina (2g a cada 4h, IV) se penicilina estiver indisponível. É preferível em casos de PVE causados por <i>Streptococcus</i> com CMI de penicilina $\leq 0.1 \mu\text{g/mL}$ usar apenas penicilina durante 6 semanas. |
| | Vancomicina (15mg/kg IV a cada 12h por 4 semanas) | Utilizar em caso de intolerância a penicilinas. Ceftriaxona, aliada ou não a Gentamicina pode ser aplicada em casos de alergia a β -lactâmicos |
| <i>Streptococcus</i> relativamente resistentes à penicilina, <i>Abiotrophia</i> , <i>Granulicatella</i> , ou <i>Gemella spp.</i> (CMI > 0.5 e $< 8 \mu\text{g/mL}$) | Penicilina G (2–3 mU IV a cada 4h) OU Ceftriaxona (2g/dia em toma única IV) por 6 semanas + Gentamicina (3mg/kg/dia IV/IM ou em doses iguais, a cada 8h por 6 semanas) | Preferencial em PVE causada por <i>Streptococcus</i> com CMI de penicilina $> 0.1 \mu\text{g/mL}$. |
| | Vancomicina (15mg/kg IV a cada 12h por 4 semanas) | |

Tabela 7 – Terapias antibióticas para tratamento de endocardites causadas por *Streptococcus*.

(Adaptado de, Jameson et al., 2018)

4.6.1.3 *Staphylococcus*

Todos os *staphylococcus* são geralmente considerados resistentes à penicilina e à meticilina, excepto em alguns países em que as estirpes dominantes carecem de resistência à meticilina. Mesmo sendo esse o caso, é prudente ter em consideração no regime antibiótico esta resistência, receitando mais tarde um agente β -lactâmico se se provar em testes sanguíneos que a estirpe invasora é susceptível à meticilina.

Os regimes antibióticos usados no tratamento de IE causada por *staphylococcus* têm em consideração a presença ou não de válvula protética, se ocorre no lado esquerdo ou direito do coração, e se a estirpe é resistente a penicilina, vancomicina e meticilina.

De notar que a adição de gentamicina a tratamentos de IE do lado esquerdo que envolvam um agente β -lactâmico ou vancomicina não mostraram melhores resultados, para além da nefrotoxicidade associada à gentamicina como um aminoglicosídeo. A maioria das guidelines abstém-se de recomendar gentamicina, rifampina ou ácido fusídico em regimes de tratamento contra NVE causada por *S. aureus*.

O tratamento de NVE causada por *S. aureus* meticilina-resistente (MRSA) tem como tratamento recomendado vancomicina em concentrações que cheguem a 15–20 $\mu\text{g/mL}$, sendo de salientar, porém, os riscos associados, devido à nefrotoxicidade deste tratamento.

| Tratamento antibiótico de <i>Staphylococcus</i> | | |
|---|--|---|
| Tipo de bactéria | Fármaco + dose + duração | Notas |
| MSSA a infectar válvulas nativas (sem dispositivos médicos presentes) | Oxacilina, Nafcilina ou Flucloxacilina (2g IV a cada 4h) por 4 a 6 semanas | Pode ser usada penicilina se a estirpe causadora não produzir β -lactamase. Duração de terapia é preferencialmente de 6 semanas |
| | Cefazolina (2g IV a cada 8h) por 4 a 6 semanas | Utilizável em caso de alergia a penicilina. Duração de terapia é preferencialmente de 6 semanas |
| | Vancomicina (15 mg/kg IV a cada 8 ou 12h) por 4 a 6 semanas | Usar apenas em pacientes com alergia imediata (leia-se: urticária) ou severa à penicilina. Considerar adicionar à terapia a gentamicina, rifampina ou o ácido fusídico. Duração de terapia é preferencialmente de 6 semanas |
| MRSA a infectar válvulas nativas (sem dispositivos médicos presentes) | Vancomicina (15 mg/kg IV a cada 8 ou 12h) por 4 a 6 semanas | Não existem considerações para utilização de Rifampina nesta situação. Uma alta dose de daptomicina pode ser considerada em pacientes com CMI >1 ou com bacteremia persistente durante o tratamento com vancomicina |
| MSSA a infectar válvulas protéticas | Oxacilina, Nafcilina ou Flucloxacilina (2g IV a cada 4h) por 6 a 8 semanas + Gentamicina (1mg/kg/dia IV a cada 8h) por 2 semanas + Rifampina (300mg oral, a cada 8h) por 6 a 8 semanas | Após o tratamento de 2 semanas com gentamicina, avaliar a susceptibilidade à mesma antes de iniciar a toma de rifampina. Se o paciente é alérgico a penicilina, usa-se o regime para MRSA, mas se a alergia aos β -lactâmicos for leve, a cefazolina pode substituir a Oxacilina, Nafcilina ou Flucloxacilina |
| MRSA a infectar válvulas protéticas | Vancomicina (15 mg/kg IV a cada 12h) por 6 a 8 semanas + Gentamicina (1mg/kg/dia IV a cada 8h) por 2 semanas + Rifampina (300mg oral, a cada 8h) por 6 a 8 semanas | Após o tratamento de 2 semanas com gentamicina, avaliar a susceptibilidade à mesma antes de iniciar a toma de rifampina. |

Tabela 8 – Terapias antibióticas para tratamento de endocardites causadas por *Staphylococcus*.

Abreviaturas: MRSA - *S. aureus* resistente à meticilina; MSSA - *S. aureus* sensível à meticilina

(Adaptado de, Jameson et al., 2018).

4.6.1.4 Outros microorganismos

Variados microorganismos são capazes de despoletar casos de IE. Quando é detectada nas análises sanguíneas a presença de *P. aeruginosa*, o tratamento pode passar por um β -lactâmico eficaz contra *pseudomonas*, como cefalosporina, piperacilina ou tobramicina (esta última num regime de 8mg/kg/dia, dividido por 3 tomas no dia) (Jameson et al., 2018).

Infeções por *corynebacteria* são passíveis de ser tratadas com penicilina + aminoglicosídeo (caso haja susceptibilidade a este último), ou com vancomicina (Jameson et al., 2018).

4.6.2 Terapêutica antifúngica

Os fármacos utilizados no tratamento de infeções provocadas por fungos denominam-se antifúngicos. São uma classe específica de fármacos e actuam nas diversas estruturas dos fungos (Pierce, Srinivasan, Uppuluri, Ramasubramanian, & López-Ribot, 2013).

Para instaurar uma terapêutica antifúngica deve-se ter em consideração variados pormenores como: o tipo de microorganismo a combater, o estado actual do sistema imunitário do hospedeiro, os factores de predisposição a este associados (sendo conveniente o controlo e/ou eliminação dos últimos), o tamanho das lesões e o rácio eficácia/toxicidade do composto antifúngico, de modo a que seja possível um controlo adequado da terapêutica (Garcia-Cuesta, Sarrion-Perez, & Bagan, 2014; Rautemaa & Ramage, 2011).

Nem sempre é possível eliminar completamente os factores de predisposição previamente à terapêutica antifúngica, devido a, por exemplo, patologias preexistentes como VIH/SIDA ou diabetes. Ainda assim, pode-se exercer algum controlo sobre o outcome da terapêutica via a administração de antibióticos, corticoides, imunossuppressores. (López-Martínez, 2010).

| Antifúngico | Administração | Classe | Acção | Resistência |
|---------------------------|---|----------------|------------------------|-----------------|
| Cetoconazol | Tópica; Oral | Imidazóis | Fungicida/Fungistático | Ubíqua |
| Miconazol | Tópica | | | |
| Econazol | Tópica | | | |
| Clotrimazol | Tópica | | | |
| Itraconazol | Intravenosa; Oral; Oral (Solução) | Triazóis | | |
| Fluconazol | Intravenosa; Oral; Oral (Solução) | | | |
| Vericonazol | Intravenosa; Oral | | | |
| Posaconazol | Oral (Solução) | | | |
| Ravuconazol | Intravenosa; Oral | | | |
| Anidulafungina | Intravenosa | Equinocandinas | | |
| Micafungina | Intravenosa | | | |
| Caspofungina | Intravenosa | | | |
| Nistatina | Tópica | Policinos | Fungicida | Rara (in vitro) |
| Anfotericina B | Tópica | | | |
| Anfotericina B lipossomal | Intravenosa | | | |

Tabela 9 – Fármacos antifúngicos e as suas características (Adaptado de: Freitas & Frade, 2014)

5 CONCLUSÃO

O microbioma humano oral é bastante complexo. Ele apresenta uma comunidade microbiana com bastante diversidade, sendo que a cada estrutura da cavidade oral corresponde um microbioma específico, variável ao longo do tempo e de indivíduo para indivíduo.

Nestes microbiomas locais várias espécies, comensais ou patogénicas, partilham o espaço num equilíbrio dinâmico, que em saúde é simbiótico. Porém, vários factores podem alterar este equilíbrio, despoletando um estado de disbiose.

O microbioma oral em particular é afectado por factores como o consumo de tabaco, álcool e drogas, a dieta, o stress, e factores intrínsecos ao hospedeiro que o tornam sensível a diversas patologias, locais ou sistémicas.

A diversidade de espécies presente na cavidade oral é um factor que influencia o desenvolvimento futuro do biofilme oral. A presença acentuada de certas espécies pode ser indicadora de patologia em desenvolvimento, ou de predisposição para certas patologias. Observa-se que certas espécies presentes na boca podem ser também precursoras de endocardite, se presentes no tecido cardíaco.

O biofilme é uma estrutura complexa formada pela acção de microorganismos nas superfícies a eles disponíveis. Pelas suas interacções formam-se estruturas capazes de maior resistência contra o sistema imunitário do hospedeiro e a acção antibiótica. Para que se possa agir contra o aparecimento de estados disbióticos, é necessário que se continue a elaborar estudos com o intuito de identificar o funcionamento interno do biofilme como superestrutura e das bactérias, vírus e fungos, seus componentes.

Na cavidade oral, o biofilme tem a capacidade de colonizar não só os tecidos moles e duros do hospedeiro, como também os biomateriais utilizados em restaurações dentárias. Este biofilme, se não for controlado, tem a capacidade de desenvolver doenças, podendo despoletar patologias locais como a cárie, a periodontite, a estomatite protética, entre outras. Vários métodos existem para controlo do biofilme oral.

Os diferentes microorganismos existentes têm diferentes atributos a eles associados. Alguns deles tornam-se patogénicos devido não só aos factores do hospedeiro, mas

também graças às suas características e factores de virulência. Candida, por exemplo, pode apresentar capacidades de dimorfismo e variabilidade fenotípica que a tornam capaz de causar infecções, tanto locais como sistémicas.

O biofilme oral pode também provocar doenças sistémicas, como é o caso da Endocardite Infecciosa. Espécies de microorganismos presentes nos tecidos orais, como várias espécies de *Streptococcus* do grupo *viridans*, *Enterococcus*, *Staphylococcus* (primariamente *S. aureus*) e elementos do grupo *HACEK* foram ligadas a formas de endocardite.

No decorrer de procedimentos dentários invasivos, ou durante a evolução de um estado patológico, as bactérias do biofilme podem ganhar acesso à corrente sanguínea, e a partir daí, podem ter acesso ao coração.

Certas condições, como lesões prévias ao músculo ou válvulas cardíacas, debilitação do sistema imunitário do hospedeiro e o tipo de bactérias presente no sangue, aliado à carga bacteriana, podem auxiliar ao desenvolvimento do que se denomina endocardite infecciosa.

No que toca à endocardite infecciosa, esta é uma patologia que advém da presença de bactérias, e da matriz extracelular por elas criada, nos tecidos internos do coração. A principal via de entrada de bactérias no coração é a corrente sanguínea. Está provada a existência de uma ligação entre procedimentos dentários invasivos e a entrada de bactérias na corrente sanguínea, e subsequente bacteremia, com risco dessas bactérias colonizarem os tecidos cardíacos.

Certos grupos populacionais estão em maior risco de desenvolverem endocardite, como pacientes que foram submetidos a cirurgia cardíaca, com lesões cardíacas, ou portadores de pacemakers ou próteses valvulares, com idosos a terem cada vez mais destaque na incidência de casos de EI. Nesses grupos o uso de profilaxia bacteriana pode ser recomendado. Várias instituições, de vários países, lançaram guidelines para a aplicação correcta destes métodos profiláticos, guidelines essas que se têm modificado ao longo do tempo, à medida que novos estudos revelam informação pertinente.

A tendência que se veio a demarcar desde 1950 é a de restringir a toma profilática de ATBs. Tendo em conta as evidências científicas, a relação custo/benefício e o potencial

de efeitos nefastos associados à toma dos ATBs, as instituições responsáveis têm revisto os parâmetros de necessidade de toma, as dosagens, timings e os ATBs a serem usados.

Actualmente, apenas pacientes que demonstram alto risco para endocardite é que são aconselhados a fazer toma profilática de antibióticos antes de tratamentos dentários invasivos. Ainda assim, instituições como a NICE, britânica, aconselha nas suas guidelines à não utilização de profilaxia para tratamentos dentários, alegando falta de estudos que provem conclusivamente a necessidade da toma profilática de ATBs. A potencial criação de microorganismos multirresistentes também é uma preocupação.

Diferentes tipos de pacientes são descritos nestas guidelines, e dependendo de características como a idade e sensibilidade alérgica à penicilina, é prescrito um determinado regime antibiótico. Normalmente em regime profilático são utilizados antibióticos de largo espectro, como a amoxicilina ou a ampicilina, ou em casos de alergia a penicilinas, a claritromicina ou a doxiciclina.

Perante o potencial risco de morte associado à endocardite, a profilaxia tende a ser vista como sendo uma razoável precaução. Mas tem de se ter em conta que esta profilaxia acarreta os seus próprios riscos, com efeitos colaterais, reacções alérgicas, interacções farmacológicas, e potencial de criação de resistências.

A utilização de antibióticos de largo espectro é justificada pela miríade de microorganismos potenciais causadores de EI presentes na cavidade oral. A toma profilática de metilina, por exemplo, só é justificável se se souber com antecedência que a carga bacteriana prevalente é *Staphylococcus* produtores de β -lactamases, e que não seja metilina-resistente, o que é improvável.

As opções de tratamento para uma EI já em desenvolvimento gozam de melhores meios de determinação do agente patológico em questão, e de medicação específica para diferentes agentes microbiológicos.

Para casos de toma profilática para tratamentos dentários invasivos, como o meio bucal é habitat para um grande número de diferentes organismos passíveis de causar EI, cada um deles com diferentes terapias de antibióticas ideais, ATBs de largo espectro são escolhidos pelo alargado leque de microorganismos que afectam. Não se justifica para estes casos a prescrição um ATB de espectro reduzido.

O diagnóstico de uma EI já em curso envolve testes para determinar bacteremia, ecocardiogramas etc., em que somente perante análises ao sangue e análises serológicas é possível em muitos casos determinar o microorganismo a combater. Com base nisto, é improvável ser justificável prescrever um ATB de espectro reduzido como agente profilático.

BIBLIOGRAFIA

- A new infective endocarditis information card. (2019). *BRITISH DENTAL JOURNAL*, 227(1), 2.
- Ahmed, T., & Wallis, M. (2020). Mitral Valve Replacement Under Venoarterial Extracorporeal Membrane Oxygenation Support for Severe Streptococcus Mitis Endocarditis. *Cureus*, 12(4). <https://doi.org/10.7759/cureus.7556>
- Al-Bakri, I. A., Harty, D., Al-Omari, W. M., Swain, M. V., Chrzanowski, W., & Ellakwa, A. (2014). Surface characteristics and microbial adherence ability of modified polymethylmethacrylate by fluoridated glass fillers. *Australian Dental Journal*, 59(4), 482–489. <https://doi.org/10.1111/adj.12218>
- Allison, D. L., Willems, H. M. E., Jayatilake, J. A. M. S., Bruno, V. M., Peters, B. M., & Shirliff, M. E. (2016). Candida–Bacteria Interactions: Their Impact on Human Disease. *Microbiology Spectrum*, 4(2), VMBF-0030-2016. <http://doi.org/10.1128/microbiolspec.VMBF-0030-2016>.
- American Dental Association. (2017). The Chairside Instructor: A visual guide to Case Presentations. Retrieved from <https://apps.apple.com/us/app/ada-chairside-instructor/id774623476?l=es>
- Andhini, N. F. (2017). *Biofilms and Implantable Medical devices: Infection and Control*. (Y. Deng; & W. Lv, Eds.), *Woodhead Publishing* (Vol. 53).'
- Aslanimehr, M., Rezvani, S., Mahmoudi, A., & Moosavi, N. (2017). Comparison of Candida Albicans Adherence to Conventional Acrylic Denture Base Materials and Injection Molding Acrylic Materials, 18(1), 61–64.
- Baker, S. P., Nulton, T. J., & Kittena, T. (2019). Genomic, phenotypic, and virulence analysis of streptococcus sanguinis oral and infective-endocarditis isolates. *Infection and Immunity*, 87(1), 804–828. <https://doi.org/10.1128/IAI.00703-18>
- Baldin, M., Srinivasan, B., & Sharma, S. (2018). Dental infection as a cause of bacteraemia in infective endocarditis. *Dental Update*, 45(4), 357–358. <https://doi.org/10.12968/denu.2018.45.4.357>
- Barriuso, J. (2015). Quorum sensing mechanisms in fungi. *AIMS Microbiology*, 1(1), 37–47. <http://doi.org/10.3934/microbiol.2015.1.37>

- Beitelshees, M., Hill, A., Jones, C. H., & Pfeifer, B. A. (2018). Phenotypic variation during biofilm formation: Implications for anti-biofilm therapeutic design. *Materials*. <https://doi.org/10.3390/ma11071086>
- Belizário, J. E., & Napolitano, M. (2015). Human microbiomes and their roles in dysbiosis, common diseases, and novel therapeutic approaches. *Frontiers in Microbiology*, 6(1050), 1–16. <http://doi.org/10.3389/fmicb.2015.01050>
- Bin, Z., Lorna C, M., Todd, K., & Ping, X. (2018). Streptococcus Sanguinis Biofilm Formation & Interaction with Oral Pathogens. *Future Microbiology*, 13(8), 915–932. Retrieved from <http://www.embase.com/search/results?subaction=viewrecord&from=export&id=L622901472%0Ahttp://dx.doi.org/10.2217/fmb-2018-0043>
- Birlutiu, V., Birlutiu, R. M., & Costache, V. S. (2018). Viridans streptococcal infective endocarditis associated with fixed orthodontic appliance managed surgically by mitral valve plasty. *Medicine (United States)*, 97(27). <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000011260>
- Bowen, W. H., Burne, R. A., Wu, H., & Koo, H. (2017). Oral Biofilms : Pathogens , Matrix , and Polymicrobial Interactions in Microenvironments. *Trends in Microbiology*, xx, 1–14. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2017.09.008>
- Bruckner, D. A., & Deak, E. (2014). Classification of fungi. In Feigin and Cherry's *Textbook of Pediatric Infectious Diseases* (7th ed., pp. 2702–2704). Copyright.
- Brunke, S., Mogavero, S., Kasper, L., & Hube, B. (2016). Virulence factors in fungal pathogens of man. *Current Opinion in Microbiology*, 32, 89–95. <http://doi.org/10.1016/j.mib.2016.05.010>
- Busscher, H. J., Rinastiti, M., Siswomihardjo, W., & Van Der Mei, H. C. (2010). Biofilm formation on dental restorative and implant materials. *Journal of Dental Research*, 89(7), 657–665. <https://doi.org/10.1177/0022034510368644>
- Campagne, J., Guichard, J. F., Moulhade, M. C., Kawski, H., & Maurier, F. (2020). Lactobacillus endocarditis: a case report in France and literature review. *IDCases*, 21(2019), e00811. <https://doi.org/10.1016/j.idcr.2020.e00811>
- Canabarro, A., Valle, C., Farias, M. R., Santos, F. B., Lazera, M., & Wanke, B. (2013).

- Association of subgingival colonization of *Candida albicans* and other yeasts with severity of chronic periodontitis. *Journal of Periodontal Research*, 48(4), 428–432. <http://doi.org/10.1111/jre.12022>
- Chan, K. L., & Embil, J. M. (2016). *Endocarditis: Diagnosis and management: Second edition. Endocarditis: Diagnosis and Management: Second Edition*. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-27784-4>
- Chen, P. C., Tung, Y. C., Wu, P. W., Wu, L. S., Lin, Y. S., Chang, C. J., ... Chu, P. H. (2015). Dental procedures and the risk of infective endocarditis. *Medicine (United States)*, 94(43), 1–6. <https://doi.org/10.1097/MD.0000000000001826>
- Cole, M. F. (2020). *Unifying Microbial Mechanisms - Shared Strategies of Pathogenesis* (Vol. 4). Taylor & Francis.
- Costa, A. V. (2014). Resposta imunológica a agentes infecciosos. In *Microbiologia Médica - Volume 1* (pp. 129–143). Lisboa: Lidel
- Costeron, J. W., Gessey, G. G., & Cheng, K. J. (1978). How the bacteria stick. *Scientific American*, 238(1), 86–95.
- Cruvinel, W. de M., Júnior, D. M., Araújo, J. A. P., Catelan, T. T. T., Souza, A. W. S. de, Silva, N. P. da S., & Andrade, L. E. C. (2010). Fundamentos da imunidade inata com ênfase nos mecanismos moleculares e celulares da resposta inflamatória. *Rev Bras Reumatol*, 50(4), 434–461.
- Da Fonseca, E. R., De Almeida Rangel, J., Da Silva Gottardi, M., Lyrio, M. N., & Bombarda Nunes, F. F. (2018). Dental Management of Cardiac Patients for Prevention of Infective Endocarditis: A Case Report. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology and Oral Radiology*, 126(3), e125. <https://doi.org/10.1016/j.oooo.2018.02.466>
- Devine, D. A., Marsh, P. D., & Meade, J. (2015). Modulation of host responses by oral commensal bacteria. *Journal of Oral Microbiology*, 7(1), 1–4. <https://doi.org/10.3402/jom.v7.26941>
- Dewhirst, F. E., Chen, T., Izard, J., Paster, B. J., Tanner, A. C. R., Yu, W. H., ... Wade, W. G. (2010). The human oral microbiome. *Journal of Bacteriology*, 192(19), 5002–5017. <https://doi.org/10.1128/JB.00542-10>

- Dhamgaye, S., Qu, Y., & Peleg, A. Y. (2016). Polymicrobial infections involving clinically relevant Gram-negative bacteria and fungi. *Cellular Microbiology*, 1–7. <http://doi.org/10.1111/cmi.12674>
- Doern, C. D., & Burnham, C. A. D. (2010). It's not easy being green: The viridans group streptococci, with a focus on pediatric clinical manifestations. *Journal of Clinical Microbiology*, 48(11), 3829–3835. <https://doi.org/10.1128/JCM.01563-10>
- Donnell, L. E. O., Robertson, D., Nile, C. J., Cross, L. J., Riggio, M., Sherriff, A., ... Brandt, B. W. (2015). The Oral Microbiome of Denture Wearers Is Influenced by Levels of Natural Dentition, 1–22. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0137717>
- Driscoll, C. F., Freilich, M. A., Guckes, A. D., Knoernschild, K. L., McGarry, T. J., Goldstein, G., ... Vanblarcom, C. (2017). The Glossary of Prosthodontic Terms. *The Journal of Prosthetic Dentistry*, 117(5), C1-e105. 93 <https://doi.org/10.1016/j.prosdent.2016.12.001>
- Endocarditis, I. (2018). Chapter 46 Infective Endocarditis, 252–257.
- Endocarditis, P. M., Matteo, B., Lario, C., Luciano, A., Nangeroni, G., Carignola, R., ... Rivoli, O. (2019). Pericarditis - Myocarditis - Endocarditis. *European Heart Journal Supplements*, 21(Supplement_E), E36–E39. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/suz127>
- Facklam, R. (2002). What happened to the streptococci: Overview of taxonomic and nomenclature changes. *Clinical Microbiology Reviews*, 15(4), 613–630. <https://doi.org/10.1128/CMR.15.4.613-630.2002>
- Feller, L., Khammissa, R. A. G., Chandran, R., Altini, M., & Lemmer, J. (2014). Oral candidosis in relation to oral immunity. *Journal of Oral Pathology & Medicine*, 43, 563–569. <http://doi.org/10.1111/jop.12120>
- Fernández, E., Reyes, C., Benavides, C., Irrarázaval, T., & Padilla, P. (2018). Relevancia de profilaxis antibiótica ante procedimientos dentales generadores de bacteriemias transitorias. *Revista Médica de Chile*, 146(7), 899–906. <https://doi.org/10.4067/s0034-98872018000700899>
- Filoche, S., Wong, L., & Sissons, C. . H. (2010). Oral Biofilms: Emerging Concepts in Microbial Ecology. *Journal of Dental Research*, 89(1), 8–18.

<http://doi.org/10.1177/0022034509351812>

- Finkel, J. S., & Mitchell, A. P. (2011). Genetic Control of *Candida Albicans* Biofilm Development. *National Review of Microbiology*, 9(2), 109–118.
<http://doi.org/10.1038/nrmicro2475>
- Flemming, H. C., Wingender, J., Szewzyk, U., Steinberg, P., Rice, S. A., & Kjelleberg, S. (2016). Biofilms: An emergent form of bacterial life. *Nature Reviews Microbiology*, 14(9), 563–575. <https://doi.org/10.1038/nrmicro.2016.94>
- Forgie, S. (2016). Pediatric Infective Endocarditis and Congenital Heart Disease. *Endocarditis: Diagnosis and Management: Second Edition*, 1–412.
<https://doi.org/10.1007/978-3-319-27784-4>
- Fowler, V. G., Jr, Miro, J. M., Hoen, B., Cabell, C. H., Abrutyn, E., Rubinstein, E., Corey, G. R., Spelman, D., Bradley, S. F., Barsic, B., Pappas, P. A., Anstrom, K. J., Wray, D., Fortes, C. Q., Anguera, I., Athan, E., Jones, P., van der Meer, J. T., Elliott, T. S., Levine, D. P., ... ICE Investigators (2005). *Staphylococcus aureus* endocarditis: a consequence of medical progress. *JAMA*, 293(24), 3012–3021.
<https://doi.org/10.1001/jama.293.24.3012>
- Francolini, I., & Donelli, G. (2010). Prevention and control of biofilm-based medicaldevice-related infections. *FEMS Immunology and Medical Microbiology*, 59(3), 227– 238. <https://doi.org/10.1111/j.1574-695X.2010.00665.x>
- Freitas, G. (2010). Fungos. In *Microbiologia* (pp. 146–165). Lisboa: Lidel.
- Freitas, G., & Frade, J. P. (2014). Agentes Antifúngicos. In *Microbiologia médica - Volume 2* (pp. 291–308). Lisboa: Lidel.
- Fulford, Martin R.; Stankiewicz, N. R. (2020). *Infection Control in Primary Dental Care*.
- Garcia-Cuesta, C., Sarrion-Perez, M., & Bagan, J. (2014). Current treatment of oral candidiasis: A literature review. *Journal of Clinical and Experimental Dentistry*, 6(5), e576–e582. <http://doi.org/10.4317/jced.51798>
- Gonçalves, T. (2014). Princípios gerais de micologia: Estrutura e multiplicação dos fungos. In *Microbiologia Médica - Volume 1* (pp. 47–51). Lisboa: Lidel.

- Gulati, M., & Nobile, C. J. (2016). *Candida albicans* biofilms: development, regulation, and molecular mechanisms. *Microbes and Infection*, 18, 310–321. <http://doi.org/10.1016/j.micinf.2016.01.002>
- Gursoy, H., Ozcakil-Tomruk, C., Tanalp, J., & Yılmaz, S. (2013). Photodynamic therapy in dentistry: a literature review. *Clinical Oral Investigations*, 17(4), 1113–1125. <http://doi.org/10.1007/s00784-012-0845-7>
- Han, T.-L., Cannon, R. D., & Villas-Bôas, S. G. (2011). The metabolic basis of *Candida albicans* morphogenesis and quorum sensing. *Fungal Genetics and Biology*, 48(8), 747–763. <http://doi.org/10.1016/j.fgb.2011.04.002>
- Harriott, M. M., & Noverr, M. C. (2011). Importance of *Candida*–bacterial polymicrobial biofilms in disease. *Trends in Microbiology*, 19(11), 557–563. <http://doi.org/10.1016/j.tim.2011.07.004>
- Hafner, S., Albittar, M., Abdel-Kahaar, E., & Zolk, O. (2020). Antibiotic prophylaxis of infective endocarditis in oral and maxillofacial surgery: incomplete implementation of guidelines in everyday clinical practice. *International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 49(4), 522–528. <https://doi.org/10.1016/j.ijom.2019.09.007>
- Hollins, C. (2015). *Basic guide to Dental Procedures* (2nd ed.). West Sussex: Wiley Blackwell.
- Ion, I. R., & Chetruş, V. (2013). Dental Plaque-Classification, Formation, and Identification. *International Journal of Medical Dentistry*, 3(2), 139–144.
- Lung, B., & Duval, X. (2019). Infective endocarditis: innovations in the management of an old disease. *Nature Reviews Cardiology*, 16(10), 623–635. <https://doi.org/10.1038/s41569-019-0215-0>
- Janeway, C. A., Travers, P., Walport, M., & Shlomchik, M. J. (2005). Imunidade mediada por células T. In *Imunobiologia - O sistema imune na saúde e na doença* (6ª edição, pp. 319–366). Santana: Artmed
- Jamal, M., Ahmad, W., Andleeb, S., Jalil, F., Imran, M., Nawaz, M. A., ... Kamil, M. A. (2018). Bacterial biofilm and associated infections. *Journal of the Chinese Medical Association*, 81(1), 7–11. <https://doi.org/10.1016/j.jcma.2017.07.012>
- Jameson, J. L., Fauci, A. S., Kasper, D. L., Hauser, S. L., Longo, D. L., & Loscalzo, J.

- (2018). *Harrison's Principles of Internal Medicine*. McGraw-Hill Education (20th ed., Vol. 0). New York; Chicago; San Francisco; Athens; London; Madrid; Mexico City; Milan; New Delhi; Singapore; Sydney; Toronto: McGraw-Hill Education.
Retrieved from
<https://ejournal.poltektegal.ac.id/index.php/siklus/article/view/298%0Ahttp://repositorio.unan.edu.ni/2986/1/5624.pdf%0Ahttp://dx.doi.org/10.1016/j.jana.2015.10.005%0Ahttp://www.biomedcentral.com/1471-2458/12/58%0Ahttp://ovidsp.ovid.com/ovidweb.cgi?T=JS&P>
- Jenkinson, H. F., Lamont, R. J., Hajishengallis, G. N., & Koo, H. M. (2016). *Oral Microbiology and Immunology*. *Oral Microbiology and Immunology* (3rd ed.). ASM Press. https://doi.org/10.5005/jp/books/12807_7
- Jesus, S. P. de. (2016). *CANDIDA E BIOFILMES ORAIS: IMPACTO E TERAPÊUTICA*. INSTITUTO SUPERIOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE EGAS MONIZ.
- Kang, J., He, Y., Hetzl, D., Jiang, H. Q., Jun, M. K., Jun, M. S., ... Cirillo, N. (2016). A Candid Assessment of the Link between Oral Candida Containing Biofilms and Oral Cancer. *Advances in Microbiology*, 6, 115–123.
- Kauffman, C. (2016). Candidiasis. In L. Goldman & A. Shacfer (Eds.), *Goldman-cecil medicine* (25th ed., pp. 2079–2083). Philadelphia: Copyright.
- Keynan, Y., & Rubinstein, E. (2016). Changing populations: The elderly injection drug users, health-care associated endocarditis and immunocompromised patients. *Endocarditis: Diagnosis and Management: Second Edition*.
https://doi.org/10.1007/978-3-319-27784-4_3
- Kilian, M., Chapple, I. L. C., Hannig, M., Marsh, P. D., Meuric, V., Pedersen, A. M. L., ... Zaura, E. (2016). The oral microbiome – an update for oral healthcare professionals, 657–666. <https://doi.org/10.1038/sj.bdj.2016.865>
- Koch, C., Burgers, R., & Hahnel, S. (2013). Candida albicans adherence and proliferation on the surface of denture base materials. *Gerodontology*, 30(4), 309–313. 95 <https://doi.org/10.1111/ger.12056>
- Kolenbrander, P. E., Palmer, R. J., Periasamy, S., & Jakubovics, N. S. (2010). Oral multispecies biofilm development and the key role of cell-cell distance. *Nature*

- Reviews Microbiology, 8(7), 471–480. <https://doi.org/10.1038/nrmicro2381>
- Krom, B. P., Kidwai, S., & Cate, J. M. ten. (2014). Candida and Other Fungal Species: Forgotten Players of Healthy Oral Microbiota. *Journal of Dental Research*, 93(5), 445–451. <http://doi.org/10.1177/0022034514521814>
- Krom, B. P., Levy, N., Meijler, M. M., & Jabra-Rizk, M. A. (2016). Farnesol and Candida albicans : Quorum Sensing or Not Quorum Sensing? *Israel Journal of Chemistry*, 56, 295–301. <http://doi.org/10.1002/ijch.201500025>
- Kumar, S., Chandra, N., Singh, L., Hashmi, M. Z., & Varma, A. (2019). *Biofilms in human diseases: Treatment and control. Biofilms in Human Diseases: Treatment and Control*. <https://doi.org/10.1007/978-3-030-30757-8>
- Kullberg, B.-J., Veerdonk, F. van de, & Netea, M. G. (2014). Immunotherapy: a potential adjunctive treatment for fungal infection. *Current Opinion in Infectious Diseases*, 27(6), 511–516. <http://doi.org/10.1097/QCO.000000000000105>
- Lastauskienė, E., Čepulytė, J., Girkontaitė, I., & Zinkevičienė, A. (2015). Phenotypic Switching of Candida guilliermondii is Associated with Pseudohyphae Formation and Antifungal Resistance. *Mycopathologia*, 179, 205–211. <http://doi.org/10.1007/s11046-014-9844-3>
- Le, B. T., Adams, J. R. J., Yu, M., Sykes, M. J., & Wang, S. (2015). Medicinal Chemistry, 7, 35–53. <https://doi.org/10.4155/fmc-2016-0197>
- Lederberg, B. J., & McCray, A. T. (2001). ' Ome Sweet ' Omics-- A Genealogical Treasury of Words. *The Scientist*, 15(7), 8.
- Lemon, S. M., & Walker, C. M. (2019). 乳鼠心肌提取 HHS Public Access. *Physiology & Behavior*, 284(4), 332–345. <https://doi.org/10.1111/joim.12782>. Biofilm
- López-Martínez, R. (2010). Candidosis, a new challenge. *Clinics in Dermatology*, 28(2), 178–184. <http://doi.org/10.1016/j.clindermatol.2009.12.014>
- Lukes, A. S., & Durack, D. T. (1993). *Infective endocarditis. Current Opinion in Cardiology* (Vol. 8). <https://doi.org/10.1097/00001573-199305000-00018>
- Maddi, A., & Scannapieco, F. A. (2013). Oral biofilms , oral and periodontal infections, and systemic disease. *American Journal of Dentistry*, 26(5), 249–254.

- Mancl, K. A., Kirsner, R. S., & Ajdic, D. (2013). Wound biofilms: Lessons learned from oral biofilms. *Wound Repair and Regeneration*, 21(3), 352–362. <https://doi.org/10.1111/wrr.12034>
- Marie, A., & Pedersen, L. (2016). *Oral Infections and General Health. Oral Infections and General Health*. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-25091-5>
- Martinez, L. R., & Fries, B. C. (2010). Fungal Biofilms: Relevance in the Setting of Human Disease. *Current Fungal Infection Reports*, 4(4), 266–275. <http://doi.org/10.1007/s12281-010-0035-5>
- Marsh & Bradshaw. (1995). Dental plaque as a biofilm. *Journal of Industrial Microbiology*, 15(3), 169–175. <https://doi.org/10.1007/BF01569822>
- Marsh, P. D. (2000). Role of the oral microflora in health. *Microbial Ecology in Health and Disease*, 12(3), 130–137. <https://doi.org/10.1080/089106000750051800>
- Marsh, P. D., & Nyvad, B. (2005). A microbiota oral e biofilmes formados sobre os dentes. In *Cárie Dentária - A Doença e o seu Tratamento Clínico* (pp. 29–49). São Paulo: Livraria Santos.
- Marsh, P., & Martin, M. V. (2005a). A microflora oral na saúde e na doença. In *Microbiologia Oral* (4a edição, pp. 1–4). São Paulo: Livraria Santos. Bibliografia 65
- Marsh, P., & Martin, M. V. (2005b). Aquisição, aderência, distribuição e metabolismo da microflora oral. In *Microbiologia Oral* (4a edição, pp. 36–57). São Paulo: Livraria Santos.
- Marsh, P., & Martin, M. V. (2005c). Infecções orais fúngicas. In *Microbiologia Oral* (4a edição, pp. 153–162). São Paulo: Livraria Santos.
- Marsh, P., & Martin, M. V. (2005d). Placa dentária. In *Microbiologia Oral* (4a edição, pp. 55–81). São Paulo: Livraria Santos.
- Marsh, Martin, Lewis & Williams (2009). *Oral Microbiology*. (C. L. Elsevier, Ed.) (5th edition). Edinburgh London New York Oxford Philadelphia St Louis Sydney Toronto.
- Marsh, P. D., Moter, A., & Devine, D. A. (2011). Dental plaque biofilms: communities,

- conflict and control. *Periodontology* 2000, 55(1), 16–35.
<http://doi.org/10.1111/j.1600-0757.2009.00339.x>
- Marsh, P. D., Head, D. A., & Devine, D. A. (2014). Prospects of oral disease control in the future -an opinion. *Journal of Oral Microbiology*, 6(1), 1–4.
<https://doi.org/10.3402/jom.v6.26176>
- Metwalli, K. H., Khan, S. A., Krom, B. P., & Jabra-Rizk, M. A. (2013). *Streptococcus mutans*, *Candida albicans*, and the Human Mouth: A Sticky Situation. *PLoS Pathogens*, 9(10), 1–5. <http://doi.org/10.1371/journal.ppat.1003616>
- Miettinen, S. L. (1986). *Infection control in the dental office. Suomen hammaslaakarilehti = Finlands tandlakartidning / [HT]* (Vol. 33).
- Miranda, T. T., Vianna, C. R., Rodrigues, L., Rosa, C. A., & Corrêa, A. (2015). Differential Proteinase Patterns among *Candida albicans* Strains Isolated from Root Canal and Lingual Dorsum: Possible Roles in Periapical Disease. *Journal of Endodontics*, 41(6), 841–845. <http://doi.org/10.1016/j.joen.2015.01.012>
- Millsop, J. W., & Fazel, N. (2016). Oral candidiasis. *Clinics in Dermatology*, 34, 487–494. <http://doi.org/10.1016/j.clindermatol.2016.02.022>
- Morales, A. T. P., França, E. J. G., Furlaneto-Maia, L., Quesada, R. M. B., & Furlaneto, M. C. (2014). Phenotypic switching in *Candida tropicalis* : association with modification of putative virulence attributes and antifungal drug sensitivity. *Medical Mycology*, 52(1), 1–9. <http://doi.org/10.3109/13693786.2013.825822>
- Modrzewska, B., Kurnatowski, P., & Khalid, K. (2016). Comparison of proteolytic activity of *Candida* sp. strains depending on their origin. *Journal de Mycologie Medicale*, 26, 138–147. <http://doi.org/10.1016/j.mycmed.2016.01.005>
- Morse, D. J., Wilson, M. J., Wei, X., Lewis, M. A. O., Bradshaw, D. J., Murdoch, C., & Williams, D. W. (2018). Denture-associated biofilm infection in three-dimensional oral mucosal tissue models, 364–375. <https://doi.org/10.1099/jmm.0.000677>
- Mukherjee, P. K., & Chandra, J. (2015). *Candida* Biofilms: Development, Architecture, and Resistance. *Microbiology Spectrum*, 3(4), 1–24.
<http://doi.org/10.1128/microbiolspec.MB-0020-2015>
- Musher, D. M., & Verkaik, N. J. (2019). Targeting Huntingtin in Patients with

- Huntington's Disease. *New England Journal of Medicine*, 381(12), 1181–1182.
<https://doi.org/10.1056/nejmc1910544>
- National Center for Biotechnology Information (US). (1998). The p53 tumor suppressor protein, (Md), 346–355. Retrieved from
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK22268/>
- Ng, K. P., Kuan, C. S., Kaur, H., Na, S. L., Atiya, N., & Velayuthan, R. D. (2015). Candida species epidemiology 2000-2013: a laboratory-based report. *Tropical Medicine & International Health*, 20(11), 1447–1453.
<http://doi.org/10.1111/tmi.12577>
- Nobile, C. J., & Johnson, A. D. (2015). Candida albicans Biofilms and Human Disease. *Annual Review of Microbiology*, 69, 71–92. <http://doi.org/10.1146/annurev-micro091014-104330>
- 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), fov077. <http://doi.org/10.1093/femsyr/fov077>
- Øilo, M., & Bakken, V. (2015). Biofilm and dental biomaterials. *Materials*, 8(6), 2887–2900. <https://doi.org/10.3390/ma8062887>
- Olms, C., Yahiaoui-doktor, M., Remmerbach, T. W., & Stingu, C. S. (2018). Bacterial Colonization and Tissue Compatibility of Denture Base Resins. *Dentistry Journal*.
<https://doi.org/10.3390/dj6020020>
- Olms, C., Yahiaoui-doktor, M., Remmerbach, T. W., & Stingu, C. S. (2018). Bacterial Colonization and Tissue Compatibility of Denture Base Resins. *Dentistry Journal*.
<https://doi.org/10.3390/dj6020020>
- Ong, K. S., Mawang, C. I., Daniel-Jambun, D., Lim, Y. Y., & Lee, S. M. (2018). Current anti-biofilm strategies and potential of antioxidants in biofilm control. *Expert Review of Anti-Infective Therapy*, 16(11), 855–864.
<https://doi.org/10.1080/14787210.2018.1535898>
- Parfrey, L. W., & Knight, R. (2012). Spatial and temporal variability of the human microbiota. *Clinical Microbiology and Infection*, 18(4), 5–7.
<http://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2012.03861.x>

- Parslow, T. G., & Bainston, D. F. (2004). Imunidade Inata. In *Imunologia Médica* (10ª edição, pp. 18–31). Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S.A
- Peters, B. M., Jabra-Rizk, M. A., O'May, G. A., Costerton, J. W., & Shirtliff, M. E. (2012). Polymicrobial Interactions: Impact on Pathogenesis and Human Disease. *Clinical Microbiology Reviews*, 25(1), 193–213.
<http://doi.org/10.1128/CMR.00013-11>
- Pierce, C. G., Srinivasan, A., Uppuluri, P., Ramasubramanian, A. K., & López-Ribot, J. L. (2013). Antifungal therapy with an emphasis on biofilms. *Current Opinion in Pharmacology*, 13(5), 726–730. <http://doi.org/10.1016/j.coph.2013.08.008>
- Rabin, N., Zheng, Y., Opoku-Temeng, C., Du, Y., Bonsu, E., & O'Sintin, H. (2015). Biofilm formation mechanisms and targets for developing antibiofilm agents. *Future Medicinal Chemistry*, 7(10), 643. <https://doi.org/10.2307/j.ctvnwc0d0.18>
- Ragab, G., Atkinson, T. P., & Stoll, M. L. (2018). The microbiome in rheumatic diseases and infection. *The Microbiome in Rheumatic Diseases and Infection*, 1–490. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-79026-8>
- Rautemaa, R., & Ramage, G. (2011). Oral candidosis – Clinical challenges of a biofilm disease. *Critical Reviews in Microbiology*, 37(4), 328–336.
<http://doi.org/10.3109/1040841X.2011.585606>
- Richardson, J. P., & Moyes, D. L. (2015). Adaptive immune responses to *Candida albicans* infection. *Virulence*, 6(4), 327–337.
<http://doi.org/10.1080/21505594.2015.1004977>
- Roy, R., Tiwari, M., Donelli, G., & Tiwari, V. (2018). Strategies for combating bacterial biofilms: A focus on anti-biofilm agents and their mechanisms of action. *Virulence*, 9(1), 522–554. <https://doi.org/10.1080/21505594.2017.1313372>
- Santana, D. P., Ribeiro, E. L., Menezes, A. C. S., & Naves, P. L. F. (2013). Novas abordagens sobre os fatores de virulência de *Candida albicans*. *Revista De Ciências Médicas E Biológicas*, 12(2), 229–233.
- Scorzoni, L., Bernardi, T., Fusco-Almeida, A. M., & Giannini, M. M. J. S. (2013). *Candida* species: current epidemiology, pathogenicity, biofilm formation, natural antifungal products and new therapeutic options. *Journal of Medical Microbiology*,

- 62, 10–24. <http://doi.org/10.1099/jmm.0.045054-0>
- Sciences, M. (2019). *The Interplay of Microbiome and Immune Response in Health and Diseases. The Interplay of Microbiome and Immune Response in Health and Diseases*. <https://doi.org/10.3390/books978-3-03921-647-5>
- Scully, C. (2014). Mucosal candidiasis. Disponível em 14 de agosto 2016, consultado em <http://emedicine.medscape.com/article/1075227-overview#showall>
- Shi, B., Chang, M., Martin, J., Mitreva, M., Lux, R., Klokkevold, P., ... Li, H. (2015). Dynamic Changes in the Subgingival Microbiome and Their Potential for Diagnosis and Prognosis of Periodontitis. *mBio*, 6(1), e01926-14. <http://doi.org/10.1128/mBio.01926-14>
- Shi, B., Wu, T., Mclean, J., Edlund, A., & Young, Y. (2016). The Denture-Associated Oral Microbiome, 1(6), 1–13. <https://doi.org/10.1128/mSphere.00215-16>. Editor
- Silva, N. C., Nery, J. M., & Dias, A. L. T. (2014). Aspartic proteinases of *Candida* spp.: role in pathogenicity and antifungal resistance. *Mycoses*, 57(1), 1–11. <http://doi.org/10.1111/myc.12095>
- Silva, P. C. (2014). Flora microbiana comensal humana. In *Microbiologia Médica - Volume 1* (pp. 60–65). Lisboa: Lidel.
- Simões, R. J., Fonseca, P., & Figueiral, M. H. (2013). Infecções por *Candida* spp na Cavidade Oral. *Odontologia Clínico-Ciêntífica*, 12(4), 19–22.
- Singh, S., Sharma, P., & Shreehari, A. K. (2015). Dental Plaque Biofilm: An Invisible Terror in the Oral Cavity. In *The Battle Against Microbial Pathogens: Basic Science, Technological Advances and Educational Programs* (pp. 422–428). Formatex.
- Soll, D. R. (2014). The role of phenotypic switching in the basic biology and pathogenesis of *Candida albicans*. *Journal of Oral Microbiology*, 6, 1–13. <http://doi.org/10.3402/jom.v6.22993>
- Subramani, K., Jung, R. E., Molenberg, A., & Hammerle, C. H. F. (2009). Biofilm on dental implants: a review of the literature. *The International Journal of Oral & Maxillofacial Implants*, 24(4), 616–626. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0501.2007.01341.x>

- Susewind, S., Lang, R., & Hahnel, S. (2015). Biofilm formation and *Candida albicans* morphology on the surface of denture base materials. *Mycoses*, 58(12), 719–727. <https://doi.org/10.1111/myc.12420>
- Technique, A. D. M. (1932). *Living* 277, 277–287.
- Teughels, W., Assche, N., Sliepen, I., & Quirynen, M. (2006). Effect of Material Characteristics and/or Surface Topography on Biofilm Development. *Clinical Oral Implants Research*, 17 Suppl 2, 68–81. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0501.2006.01353.x>
- Thajuddin, N. (2016). *Microbial Biofilms - Importance and Applications. Microbial Biofilms - Importance and Applications*. <https://doi.org/10.5772/61499>
- Ureña, J. L., García, P. B., & López-Dóriga, C. R.-A. (2002). Microbiología de las placas dentales. In *Microbiología Oral* (2a edición, pp. 541–559). Madrid: McGRAW- Bibliografía 71 HILL. Ureña, J., Mondelo, J., Cubillos, S., & Estévez, M. (2002). Determinantes ecológicos orales. In *Microbiología Oral* (2a edición, pp. 527–539). Madrid: McGRAW-HILL. Ureña, J., Rodríguez, M., Cabanillas, M., & Alonso, L. (2002). Composición y ecología de la microbiota oral. In *Microbiología Oral* (2a edición, pp. 515–525). Madrid: McGRAW-HILL.
- van 't Hof, W., Veerman, E. C. I., Nieuw Amerongen, A. V., & Ligtenberg, A. J. M. 99 (2014). Antimicrobial defense systems in saliva. *Saliva: Secretion and Functions*, 24, 40– 51. <https://doi.org/10.1159/000358783>
- Velasco, C. Ú. A. M. d'Orey. (2018). *O BIOFILME NA PRÓTESE DENTÁRIA: PATOGÉNESE E CONTROLO*. INSTITUTO UNIVERSITÁRIO EGAS MONIZ.
- Vickery, K. (2020). *Microbial Biofilms in Healthcare. Microbial Biofilms in Healthcare*. <https://doi.org/10.3390/books978-3-03928-411-5>
- Vojdani, M., & Giti, R. (2015). Polyamide as a Denture Base Material: A Literature Review. *Journal of Dentistry (Shiraz, Iran)*, 16(1 Suppl), 1–9. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26106628><http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=PMC4476124>
- Wade, W. G. (2013). The oral microbiome in health and disease. *Pharmacological Research*, 69, 137–143. <http://doi.org/10.1016/j.phrs.2012.11.006>

- Wang, Z., Shen, Y., & Haapasalo, M. (2014). Dental materials with antibiofilm properties. *Dental Materials*, 30(2), 1–16.
<https://doi.org/10.1016/j.dental.2013.12.001>
- Williams, D. W., Kuriyama, T., Silva, S., Malic, S., & Lewis, M. A. O. (2011). Candida biofilms and oral candidosis: treatment and prevention. *Periodontology 2000*, 55, 250–265. <http://doi.org/10.1111/j.1600-0757.2009.00338.x>
- Wilson, W. R., Gewitz, M., Lockhart, P. B., Bolger, A. F., Desimone, D. C., Kazi, D. S., ... Baddour, L. M. (2021). Prevention of Viridans Group Streptococcal Infective Endocarditis: A Scientific Statement from the American Heart Association. *Circulation*, 143(20), E963–E978.
<https://doi.org/10.1161/CIR.0000000000000969>
- Wongsuk, T., Pumeesat, P., & Luplertlop, N. (2016). Fungal quorum sensing molecules: Role in fungal morphogenesis and pathogenicity. *Journal of Basic Microbiology*, 56(5), 440–447. <http://doi.org/10.1002/jobm.201500759>
- Wüthrich, M., Deepe, G. S., & Klein, B. (2012). Adaptive Immunity to Fungi. *Annual Review of Immunology*, 30, 115–148. <http://doi.org/10.1146/annurev-immunol-020711-074958>
- Wray, D., Keenan, D., Franklin, D., Gibbs, J., Sandoe, J., Orr, K., ... Keatley-Clarke, A. (2008). Prophylaxis against infective endocarditis: Antimicrobial prophylaxis against infective endocarditis in adults and children undergoing interventional procedures. *Drug and Therapeutics Bulletin*, 53(12), 135.
- Xavier Duval, Sarah Millot, Catherine Chirouze, Christine Selton-Suty, Vanessa Moby, Pierre Tattevin, Christophe Strady, Edouard Euvrard, Nelly Agrinier, Daniel Thomas, Bruno Hoen, F. A. (2017). Oral streptococcal endocarditis, oral hygiene habits and recent dental procedures: a case-control study. *Oxford University Press for the Infectious Diseases Society of America.*, 53(9), 1689–1699.
- Xu, X., He, J., Xue, J., Wang, Y., Li, K., Zhang, K., ... Zhou, X. (2015). Oral cavity contains distinct niches with dynamic microbial communities. *Environmental Microbiology*, 17(3), 699–710. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.12502>
- Yumoto, H., Hirota, K., Hirao, K., Ninomiya, M., Murakami, K., Fujii, H., & Miyake, Y. (2019). The pathogenic factors from oral streptococci for systemic diseases.

International Journal of Molecular Sciences, 20(18).

<https://doi.org/10.3390/ijms20184571>

Zarco, M. F., Vess, T. J., & Ginsburg, G. S. (2012). The oral microbiome in health and disease and the potential impact on personalized dental medicine. *Oral Diseases*, 18, 109–120. <http://doi.org/10.1111/j.1601-0825.2011.01851.x>

Zipes, D. P. (2019). Braunwald's Heart Disease. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 53(9), 1689–1699.

Zhang, K., Ren, B., Zhou, X., Xu, H. H. K., Chen, Y., Han, Q., ... Cheng, L. (2016). Effect of antimicrobial denture base resin on multi-species biofilm formation. *International Journal of Molecular Sciences*, 17(7), 1–13. <https://doi.org/10.3390/ijms17071033>

