

Ana Sofia Machado da Silva

# **Microbioma Oral**

## **O seu papel na saúde e na doença**

**UNIVERSIDADE LUSÓFONA DE HUMANIDADES E  
TECNOLOGIAS**

**Escola de Ciências e Tecnologias da Saúde**

**Dissertação orientada pela Professora Doutora Maria João Simões**

**Lisboa**

**2016**

**Ana Sofia Machado da Silva**

**Microbioma Oral**  
**O seu papel na saúde e na doença**

Dissertação apresentada na Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias para  
obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas

Dissertação defendida em provas públicas, para  
a obtenção do grau de Mestre em ciências  
farmacêuticas, na Universidade Lusófona de  
Humanidades e Tecnologias, no dia 12 de  
Dezembro de 2016, perante o Júri com a  
seguinte composição:

Presidente: Professora Doutora Dulce Várzea

Arguente: Professora Doutora Mónica Oleastro

Orientadora: Professora Doutora Maria João  
Simões

Professora Doutora Ana Micro

**UNIVERSIDADE LUSÓFONA DE HUMANIDADES E  
TECNOLOGIAS**

**Escola de Ciências e Tecnologias da Saúde**

**Lisboa**

**2016**

*“The states of health or disease are the expressions of the success or failure experienced by the organism in its efforts to respond adaptively to environmental challenges”*

*(Rene Dubos, 1965)*

## **Agradecimentos**

À Professora Doutora Maria João Simões, professora orientadora deste trabalho, pela sua ajuda e disponibilidade.

À Universidade Lusófona e a todos os Professores que contribuíram para chegar até ao fim desta etapa.

A Todos os colegas de curso que se disponibilizaram para me ajudar, em particular a Rita e a Joana que foram sem dúvida incansáveis comigo.

À Raquel uma colega que se tornou amiga e me ajudou em todas as fases do curso.

À Farmácia Silveira Birre e todos os colaboradores por me receberem tão bem e por estarem sempre disponíveis a ensinar.

Às minhas Patroas e colegas de trabalho que me facilitaram os horários de modo a conseguir frequentar as aulas.

As minhas amigas Andreia, Vanessa e Susana que estes anos quase não tive tempo para elas e elas estiveram sempre para mim.

Ao meu pai e à minha mãe por terem orgulho e fé em mim, por acreditarem que eu sou capaz de realizar os meus sonhos.

Ao meu irmão por me compreender e estar sempre do meu lado.

Ao Renato, o meu marido, por ter paciência para mim, por me apoiar em todos os momentos e por me incentivar a nunca desistir.

A todos aqueles que podem não estar aqui referidos, mas que de alguma forma, contribuíram para a realização deste sonho.

A todos o meu muito obrigada.

## **Resumo**

O Microbioma humano refere-se a uma enorme comunidade de microrganismos que ocupam os diversos locais do corpo humano e desempenham papéis fundamentais na saúde e doença humanas.

Foi criado o projecto microbioma humano para ser possível conhecer todos os microrganismos existentes no nosso organismo e a partir deste prevenir e tratar melhor as doenças.

O microbioma da cavidade oral é constituído por centenas de espécies bacterianas mas também fúngicas.

A boca humana é composta por várias estruturas como dentes, lábios, gengivas, sendo que cada uma delas contém o seu próprio microbioma, pois cada uma tem um ambiente diferente o que leva a um desenvolvimento diferente de microrganismos.

O microbioma oral é de extrema importância na saúde do indivíduo pois uma pequena alteração pode levar a diversas condições patológicas.

Para evitar doenças como periodontites, cáries ou até mesmo doenças cardíacas e respiratórias é necessário que o microbioma oral esteja em sintonia e equilíbrio com o hospedeiro.

Isto é, a higiene oral é fundamental para a manutenção de um microbioma oral equilibrado, assim como a redução da ingestão de açúcares e uma alimentação equilibrada de modo a manter o sistema imunitário íntegro.

**Palavras-chave:** Microbioma oral, Microrganismos, Hospedeiro, Sistema imunitário, Saúde, Doença, Periodontite.

## **Abstract**

The human microbiome refers to a large community of microorganisms which occupy several places of the human body and play a key role in health and diseases.

The human microbiome project was created to achieve knowledge about all microorganisms that exist in our body with an ultimate goal to easily prevent and treat diseases.

Oral cavity's microbiome is a large number of bacterial species, but also fungal species.

The human mouth is constituted by several structures such as teeth, lips, gums, and each one has its own microbiome since they have different environments, which leads to a different growth of microorganisms.

The oral microbiome takes an important role in individual's health, once a little change occurs it can lead to many pathological conditions.

To prevent diseases such as periodontitis, caries or even cardiac and respiratory diseases it is necessary that oral microbiome is in healthy equilibrium with the host.

That is, oral hygiene is essential for maintaining a balanced oral microbiome, as well as reducing sugar intake and a balanced diet in order to keep the immune system intact.

**Keywords:** Oral Microbiome, Microorganisms, Host, Immunity system, Health, Disease, Periodontitis

## **Abreviaturas, siglas e símbolos**

**ACPA-** Anticorpos anti proteínas citrulinadas

**AVC-** Acidente vascular cerebral

**CMV** – Citomegalovírus

**HIV** - Vírus da Imunodeficiência Humana

**HPV** - Papiloma Vírus Humano

**HSV-** Vírus Herpes Simplex

**IgA-** Imunoglobulina A

**IgG** -Imunoglobulinas G

**IMC** - Índice de massa corporal

**PMH-** Projecto Microbioma Humano

## Índice

Agradecimentos .....	i
Resumo .....	ii
Abstract.....	iii
Abreviaturas, siglas e símbolos .....	iv
Índice .....	v
Índice de figuras .....	vii
Introdução.....	1
1. Microbioma Humano.....	3
1.1 Microbioma Oral.....	6
1.1.1. Composição do microbioma oral.....	8
1.1.1.1 Bactérias.....	8
1.1.1.1.1 Biofilmes.....	9
1.1.1.2 Fungos.....	9
2. Microbioma oral o seu papel na saúde .....	11
2.1 Colonização do hospedeiro .....	11
2.1.1 Moléculas importantes na relação microrganismo/hospedeiro.....	12
3. Microbioma oral o seu papel na doença .....	14
3.1 Modificações do microbioma .....	14
3.1.1 Gestação e parto – o microbioma no recém-nascido .....	14
3.1.2 Diabetes .....	15
3.2 Vírus.....	16
3.2.1 Infec�o por HIV .....	16
3.3 Bactérias patog�nicas.....	17
3.3.1 Placa dentária.....	17
3.3.2 Cáries .....	18
3.3.3 Gengivites .....	19
3.3.4 Periodontite.....	20
3.3.5 Candidíase.....	21
3.3.6 Doença cardiovascular .....	22

3.3.7 Artrite reumatóide .....	23
3.3.8 Pneumonia .....	23
3.3.9 Sepsis .....	24
3.3.10 Cancro .....	24
3.4 Mecanismos de defesa do hospedeiro .....	26
Conclusão .....	28
Bibliografia .....	30

## Índice de figuras

Figura 1 - Microbioma Humano Comensal (Adaptado de (2)) .....	4
Figura 2 - Cavidade Oral (Adapatado de Moutsopoulos <i>et al.</i> , 2016)(18).....	6
Figura 3 - Frequência dos fungos presentes numa amostra de lavagem bucal recolhida de 20 indivíduos saudáveis (22) .....	10
Figura 4 - Modelo espaço-temporal da colonização bacteriana na superfície do dente (33) .....	12
Figura 5 - Evolução de uma periodontite (18).....	20

## Introdução

O sistema digestivo do ser humano começa na cavidade oral e é por esta cavidade que entram no organismo os alimentos e os microrganismos. Estes são misturados com proteínas salivares e enzimas digestivas e seguem o seu caminho até ao reto (1).

A cavidade oral é o local anatómico humano com maior diversidade de microrganismos, compreendendo fungos, vírus e principalmente bactérias, sendo o género *Streptococcus* o mais comum. Estes microrganismos vivem num ecossistema que, quando está em equilíbrio, mantém a saúde oral (2).

A cavidade oral é constituída por várias estruturas e cada uma delas é um nicho ecológico que promove o desenvolvimento de microrganismos, sendo que cada nicho tem um ambiente distinto. Tanto a cavidade oral como o microbioma oral sofrem alterações constantemente durante todas as fases da vida. Durante os dois primeiros meses de vida do bebé, as bactérias colonizam apenas superfícies das mucosas e com a erupção dos dentes já colonizam os tecidos duros, começam a aparecer as superfícies duras que também são colonizadas por microrganismos. Os factores de mudança, como os dentes permanentes, as extracções dentárias, a existência de cáries, próteses e até a perda de dentes, podem afectar o ecossistema do microbioma oral. As condições ambientais, tais como temperatura, quantidade de oxigénio e nutrientes, condições de pH e o potencial redox, têm impacto sobre o ecossistema e contribuem para a composição das espécies presentes no biofilme em cada local. A dieta do indivíduo, a variabilidade do fluxo de saliva ou até mesmo a toma de antibióticos causam alterações no ecossistema (3).

Bactérias como as do género *Streptococcus*, entre outras, colonizam locais da cavidade oral com recurso à formação de biofilmes mantendo o equilíbrio do ecossistema. Quando deixa de haver este equilíbrio a saúde oral fica comprometida e ocorre doença, as duas doenças mais comuns no ser humano, as tão conhecidas cáries dentárias e as doenças periodontais. Este desequilíbrio do ecossistema pode também desencadear outras doenças como pericardite, pneumonias, úlceras gástricas entre outras (4), (5).

Hoje em dia é possível reduzir o número destas doenças, nos países mais desenvolvidos o ser humano ganhou hábitos e rotinas de uso de elixires e escovagem dos dentes, fazendo uma higiene oral adequada e reduzindo a ingestão de açúcares (5).

Hoje, com a ajuda da tecnologia, mais precisamente com a ajuda do Projecto Microbioma Humano (PMH) e a metagenómica, sabemos que cada indivíduo tem um microbioma próprio e por isso é de extrema importância o desenvolvimento de medicinas personalizadas e o conhecimento do completo microbioma (6). Sabemos também que a composição do microbioma oral é semelhante tanto na saúde como na doença e existem bactérias em comum. Então qual é o papel do microbioma na saúde e na doença? Qual a “regra” para haver saúde ou doença?

## 1. Microbioma Humano

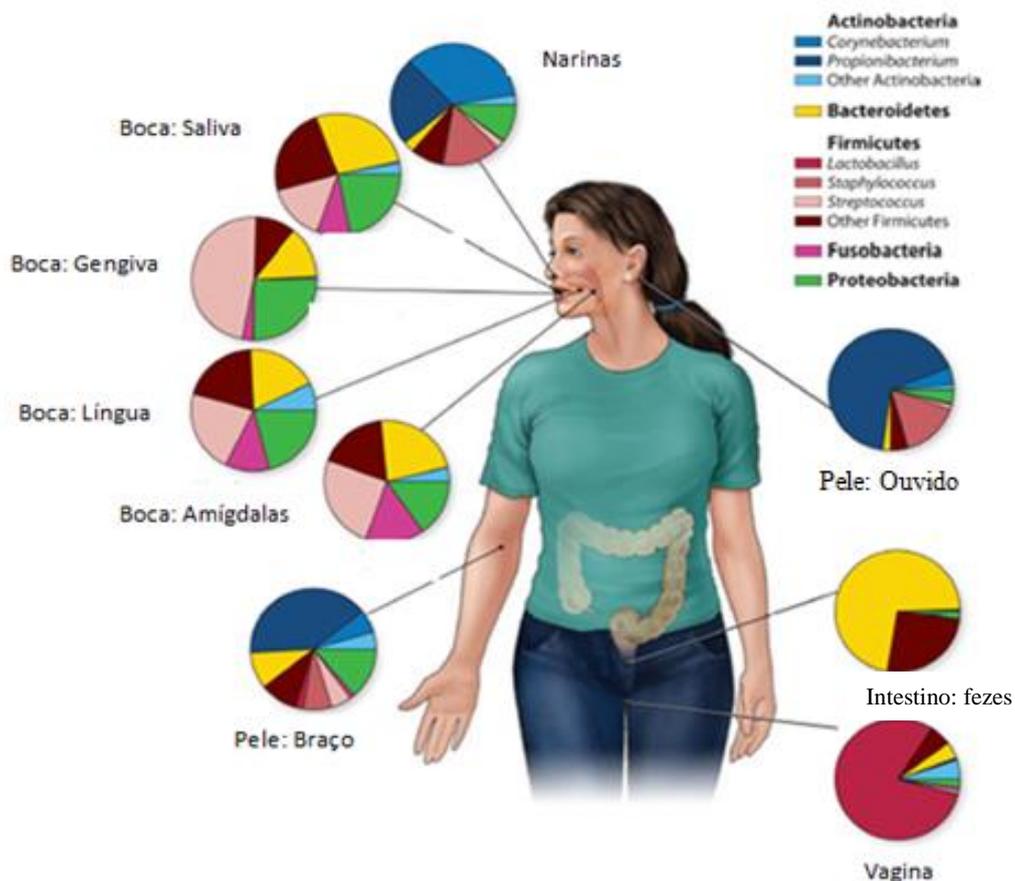
O termo Microbioma foi criado por Joshua Lederberg, geneticista e Nobel da medicina em 1958, refere-se à comunidade de microrganismos que coloniza o organismo (7), (8).

Desde a década passada que o Microbioma humano tem vindo a ser estudado por um número cada vez maior de cientistas. Estes acreditam que a nossa saúde, além das condicionantes genéticas, depende dos microrganismos que vivem connosco (7).

Em 2008 foi criado o Projecto Microbioma Humano (PMH) com o intuito de gerar bases de pesquisa que permitam a caracterização abrangente do Microbioma humano e a análise do seu papel na saúde humana e doenças. É um projecto de vários anos e que envolve vários centros de pesquisa, usa amostras biológicas para fazer sequenciação e obter assim a caracterização do microbioma, sendo possível através das técnicas de metagenómica distinguir cada microrganismo pelo seu filo e espécie (9), (10).

Com a ajuda deste projecto (PMH) tornou-se claro que cada região do corpo humano é um abrigo altamente especializado de associações microbianas comensais, tendo estas interacções com o hospedeiro (11).

O Microbioma humano refere-se a uma enorme comunidade de microrganismos que ocupam os diversos locais do corpo humano e desempenham papéis fundamentais na saúde humana e nas doenças. Consoante o local do organismo humano, existe uma diversidade dos microrganismos como podemos ver na Figura 1. Nesta imagem estão referidos os 5 filios mais predominantes de bactérias (*Actinobacteria*, *Bacteroidetes*, *Firmicutes*, *Fusobacteria* e *Proteobacteria*) e alguns géneros representantes de cada filo (2).



**Figura 1 - Microbioma Humano Comensal (Adaptado de (2))**

A diversidade de microrganismos deve-se às características do local anatômico que estes colonizam, como humidade, pH, temperatura e nutrientes, dado que locais mais quentes tem maior número de microrganismos que os locais mais frios (10).

O microbioma é considerado variável, contudo, é mais semelhante o microbioma do mesmo local anatômico de diferentes indivíduos do que o microbioma de locais anatômicos distintos do mesmo indivíduo. Em condições saudáveis todos os indivíduos compartilham espécies microbianas, mas devido a factores genótipos e fenótipos do hospedeiro as quantidades destas são distintas. Por este motivo a medicina personalizada é de extrema importância para a saúde, pois a doença manifesta-se de formas e processos diferentes consoante o indivíduo (12).

Estudos microscópicos do corpo humano saudável demonstram que as células microbianas são muito mais que as células humanas eucariotas numa proporção de dez para um (13).

Até há pouco tempo esta enorme comunidade de microrganismos associados aos humanos permaneceu em grande parte pouco estudada, deixando a sua influência sobre o desenvolvimento humano, a fisiologia, a imunidade e a nutrição quase inteiramente desconhecida (13).

Durante muito tempo os cientistas só conseguiam estudar e conhecer os microrganismos que cultivavam em laboratório, com os estudos avançados descobriram que grande parte dos microrganismos não são possíveis de cultivar e não são possíveis de isolar com sucesso, isto porque o seu crescimento é dependente das condições específicas e de substâncias que não são possíveis ter em laboratório. Os avanços das tecnologias levaram ao desenvolvimento de técnicas moleculares como por exemplo a sequenciação do gene 16S rRNA que tornaram possível identificar mais espécies, em vez da análise genómica de apenas microrganismos cultivados em laboratório. Esta abordagem metagenómica permite a análise do material directamente a partir de amostras biológicas sem a necessidade de realizar culturas (14), (15), (13), (16).

Com estes estudos os cientistas demonstram que normalmente todo o ser humano transporta microrganismos capazes de causar doença, microrganismos patogénicos e potencialmente patogénicos, mas que em indivíduos saudáveis é possível eles coexistirem com o hospedeiro e com o restante microbioma sem causar doença. Começa-se agora a descobrir a razão pela qual alguns microrganismos causam a doença ou a morte e em que situações isto acontece (11).

Com o desenvolvimento do Projecto Microbioma Humano (PMH) foram desenvolvidos novos procedimentos laboratoriais que permitem então identificar novas espécies que não estão presentes em indivíduos saudáveis e também detectar características que justificaram alterações na taxonomia microbiana (10).

## 1.1 Microbioma Oral

Para compreendermos o papel do microbioma oral é importante analisar as suas características dinâmicas e essenciais. A cavidade oral é um habitat com mais de 700 espécies bacterianas que contribuem para a saúde oral e global do indivíduo (12).

A cavidade oral dos indivíduos saudáveis contém então centenas de espécies bacterianas e também algumas fúngicas. Muitos destes microrganismos podem associar-se para formar biofilmes, que são resistentes à tensão mecânica ou tratamento antibiótico. A maioria são também espécies comensais, mas podem tornar-se patogénicas em respostas às alterações do ambiente, como por exemplo a qualidade de higiene pessoal (17).

A nossa boca contém diferentes habitats que albergam vários microrganismos, como podemos ver na figura 2 - os dentes, a língua, as bochechas, o palato duro e mole, as amígdalas, as glândulas salivares, entre outros, estando todos estes locais em contacto com a saliva e todos colonizados por bactérias. Vários estudos demonstram que nos diferentes tecidos existem comunidades distintas de bactérias (8).

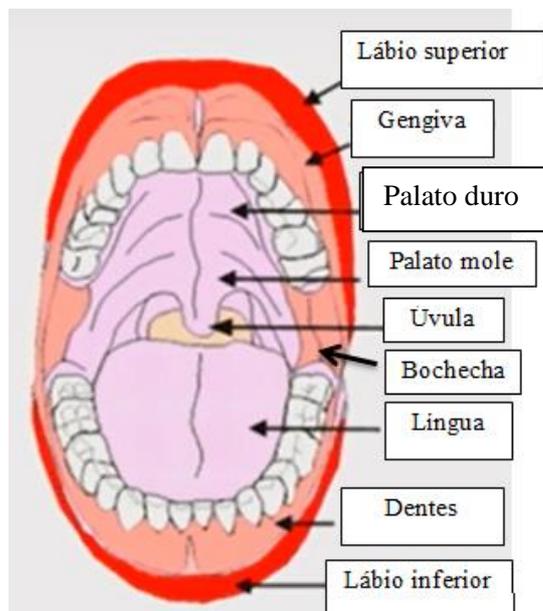


Figura 2 - Cavidade Oral (Adaptado de Moutsopoulos *et al.*, 2016)(18)

A explicação para a existência de comunidades distintas nos diferentes tecidos é o facto de que cada superfície ou estrutura oferecer condições diferentes aos microrganismos que têm, eles próprios, exigências diferentes para a sua multiplicação. No entanto, a cavidade oral tem várias funções que afectam a multiplicação e a actividade dos microrganismos, tal como comer, falar ou a activação do sistema imunitário do hospedeiro através da libertação de mediadores inflamatórios (12).

Todas as espécies presentes no microbioma oral desempenham um papel importante na manutenção do bem-estar oral, no entanto, caso as condições não sejam adequadas, estes microrganismos podem-se tornar prejudiciais e causar doença. Alterações do ecossistema, como por exemplo a alteração do seu pH, as reacções redução-oxidação ou a presença de antibióticos podem desencadear doenças (19).

A cavidade oral é a principal porta de entrada de microrganismos no organismo humano. Estes entram pela boca através dos alimentos e do ar que ingerimos, os alimentos são mastigados e misturam-se com a saliva dirigindo-se para o tracto gastrointestinal. Através do nariz e da boca, enquanto respiramos, também inalamos microrganismos que seguem a trajectória do sistema respiratório passando pela traqueia e pulmões, em todos estes passos estão presentes microrganismos que se vão dispersando pelos diferentes locais vizinhos (8).

As comunidades polimicrobianas na cavidade oral existem principalmente como biofilmes sobre as superfícies dos dentes, das próteses, das gengivas e da língua. Isto deve-se à interdependência metabólica necessária para o desenvolvimento desses microrganismos. Esta é a principal razão de não ser possível cultivar todos os microrganismos em laboratório e ser difícil a sua caracterização (20).

A composição do microbioma oral tem sido estudada com recurso a ferramentas recém-desenvolvidas de metagenómica. Como o microbioma da cavidade oral contribui para a saúde e para a doença está a atrair o interesse de um número crescente de biólogos celulares, microbiologistas, e imunologistas (17).

Para ser possível o estudo filogenético e taxonómico do microbioma foi usado como marcador genético bacteriano o gene 16S rRNA (21) e como marcador fúngico 18S rDNA (22). Chegou-se então à conclusão que o microbioma oral é uma comunidade

complexa de microrganismos, cerca de 700, e que este é capaz de criar um impacto significativo na saúde humana e é de extrema importância o conhecimento da sua composição no estado saudável para ajudar na tratamento e prevenção de doenças(23),(24).

### **1.1.1. Composição do microbioma oral**

Nos últimos anos têm sido feitos muitos estudos dedicados ao conhecimento do microbioma oral, pois antes de se estudar qualquer doença, é necessário decifrar e conhecer a composição do microbioma em indivíduos saudáveis. Estudos revelam que os microrganismos mais abundantes no microbioma oral saudável pertencem aos filo *Firmicutes*, *Proteobacteria*, *Fusobactérias* e *Actinobacteria*. O género *Streptococcus* é o mais predominante, seguido por *Prevotella*, *Veillonella*, *Neisseria*, e *Haemophilus* (25).

Foi também demonstrado que esta composição (diversidade e quantidade de espécies) é diferente de indivíduo para indivíduo e que no próprio indivíduo a composição do microbioma é diferente nos vários locais na cavidade oral, por exemplo, na gengiva o microbioma é diferente daquele que está presente nos dentes. Vários estudos demonstram que a quantidade de *Actinobacterias* na gengiva é muito diferente da quantidade presente no dente, assim como a quantidade de *Firmicutes* (25),(24).

#### **1.1.1.1 Bactérias**

A boca contém muitas superfícies e cada superfície contém uma enorme quantidade de bactérias, muitas delas agregadas num biofilme. Algumas destas bactérias são as responsáveis pelas doenças orais bacterianas mais comuns no ser humano, como a cárie e periodontite. Para além destas doenças da boca as bactérias podem ainda ser responsáveis por doenças sistémicas como endocardite bacteriana e pneumonia (26), (27).

As bactérias presentes na cavidade oral são cerca de 700 filotipos, sendo que cerca de metade pode estar presente em qualquer altura da vida e em qualquer indivíduo (28).

### **1.1.1.1 Biofilmes**

Na boca, os microrganismos existem maioritariamente em biofilmes sobre as superfícies dos dentes, das gengivas, da língua e até em próteses quando estas existem. Os biofilmes consistem numa comunidade microbiana organizada numa matriz complexa, constituída por produtos extracelulares microbianos e compostos salivares, mais precisamente são constituídos por bactérias envolvidas em polímeros orgânicos ligados a superfícies. Os biofilmes são matrizes onde os microrganismos se depositam e ficam aderidos às superfícies por meio de proteínas ou polissacáridos produzidos por eles próprios. Estas proteínas ligam-se à membrana externa das bactérias Gram negativo e ao peptidoglicano das bactérias Gram positivo. Estes biofilmes mantêm-se sempre hidratados com cerca de 98% de água e protegem os microrganismos da desidratação (29), (20), (30).

Estes biofilmes orais podem ser descritos como um ciclo, pois o seu desenvolvimento dá-se em várias fases, estas fases são determinadas por factores físicos, factores ambientais e factores biológicos. Os biofilmes são bastante resistentes, alguns contêm materiais de polímeros extracelulares para serem mais resistentes e muitas vezes são mesmo resistentes até à penetração de antibióticos (30).

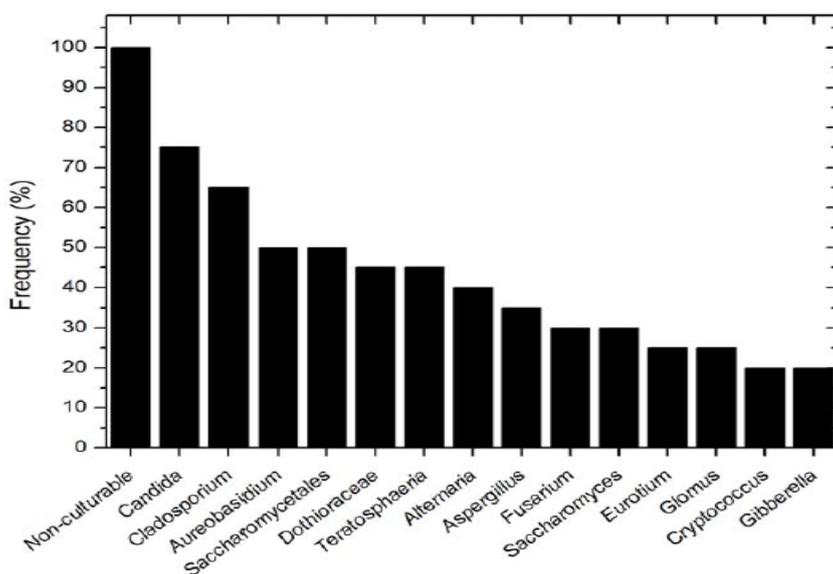
### **1.1.1.2 Fungos**

Os fungos são organismos capazes de colonizar e permanecer em vários ambientes naturais, como o solo. São também capazes de colonizar vários locais anatómicos humanos como a boca. Os fungos que estão no ambiente (em partículas de poeira, por exemplo) podem penetrar na cavidade oral por inalação de partículas ou por ingestão de água ou alimentos contaminados (31).

Existem alguns fungos, principalmente do género *Cândida*, que têm um papel importante no microbioma oral. Esta levedura pode estar presente sem causar nenhum sintoma, no entanto pode causar várias infecções agudas ou crónicas. Estes são influenciados pelo estado do sistema imunitário e por medicação, como é o caso de pessoas com infecção por HIV ou que tomem medicação com corticóides. Já existem

alguns estudos sobre o microbioma oral no que toca a bactérias mas relativamente a fungos ainda existem muito pouco (5),(22).

Foi feito um estudo com o intuito de caracterizar os fungos existentes no microbioma oral de 20 indivíduos saudáveis. As amostras foram recolhidas uma hora depois de os indivíduos terem comido, bochechado e gargarejado com uma solução de lavagem, sendo esta a solução amostra. Neste estudo foram identificadas 101 espécies de fungos, sendo que 11 não foram cultiváveis e 74 foram cultiváveis. O género presente em 75% dos participantes foi *Candida*, seguido de *Cladosporium* em 65% como podemos ver na figura 3. *Aureobasidium* foi encontrado em 50% dos indivíduos. *Aspergillus* em 35%, *Fusarium* em 30% e *Cryptococcus* em 20% (22).



**Figura 3 - Frequência dos fungos presentes numa amostra de lavagem bucal recolhida de 20 indivíduos saudáveis (22)**

Os fungos são um dos responsáveis pelas alergias respiratórias, a exposição aos esporos ou aos metabolitos dos fungos podem ter efeitos potencialmente negativos na saúde, tanto pública como ambiental. No entanto a cavidade oral é um habitat de fungos e estes desempenham um papel importante na nutrição, carcinogénese e resistência à colonização por microrganismos oportunistas, muitos dos fungos presentes na cavidade oral são fungos saprófitas, mas existem alguns patogénicos e oportunistas sendo responsáveis por grande parte das doenças orais (31).

## 2. Microbioma oral o seu papel na saúde

### 2.1 Colonização do hospedeiro

O indivíduo humano é um ecossistema complexo formado por uma microflora, em que cada microorganismo vive numa interacção contínua com o seu ambiente neste ecossistema. Esta interacção entre microrganismos e hospedeiro é de extrema importância para ambos se manterem saudáveis mas ao mesmo tempo pode ser fatal. Existem bactérias que colonizam e interagem com o hospedeiro e mantem uma colonização benéfica e harmoniosa, a isto chama-se comensalismo. Como este ecossistema complexo é aberto não estão só presentes os microrganismos residentes, existem uns que podem estar presentes transitoriamente e que vão interagir com os endógenos e estes podem tornar-se prejudiciais para o hospedeiro e serem causa de infecções oportunistas, e a isto é chamado o parasitismo. Esta microflora pode interagir com o hospedeiro no local mas também sistemicamente. Todas estas interacções são caracterizadas pela participação activa tanto do hospedeiro como dos microrganismos colonizadores e a estratégia de ambos é muito parecida. Esta coexistência evolutiva munuiu tanto os microrganismos como o sistema imunitário do hospedeiro com mecanismos semelhantes para que esta colonização seja possível (32).

Para que seja possível ocorrer colonização de modo a manter a saúde da cavidade oral é importante fornecer nutrientes essenciais ao hospedeiro, manter o sistema imunitário competente de modo a ficar em alerta caso haja infecção por agentes patogénicos e principalmente prevenir a invasão dos microrganismos patogénicos (24).

Kolenbrander demonstra-nos com o modelo espaço-temporal na Figura 4 a colonização bacteriana oral. Temos o reconhecimento da saliva pelas bactérias que colonizam inicialmente, *Streptococcus gordonii*, *Streptococcus mitis*, *Streptococcus oralis* e *Streptococcus sanguinis* e as seguintes co-agregações entre as bactérias colonizadoras iniciais e as tardias. Este modelo diz-nos também que as associações iniciais são as responsáveis por o estado saudável e as associações tardias são as responsáveis pela doença (33).

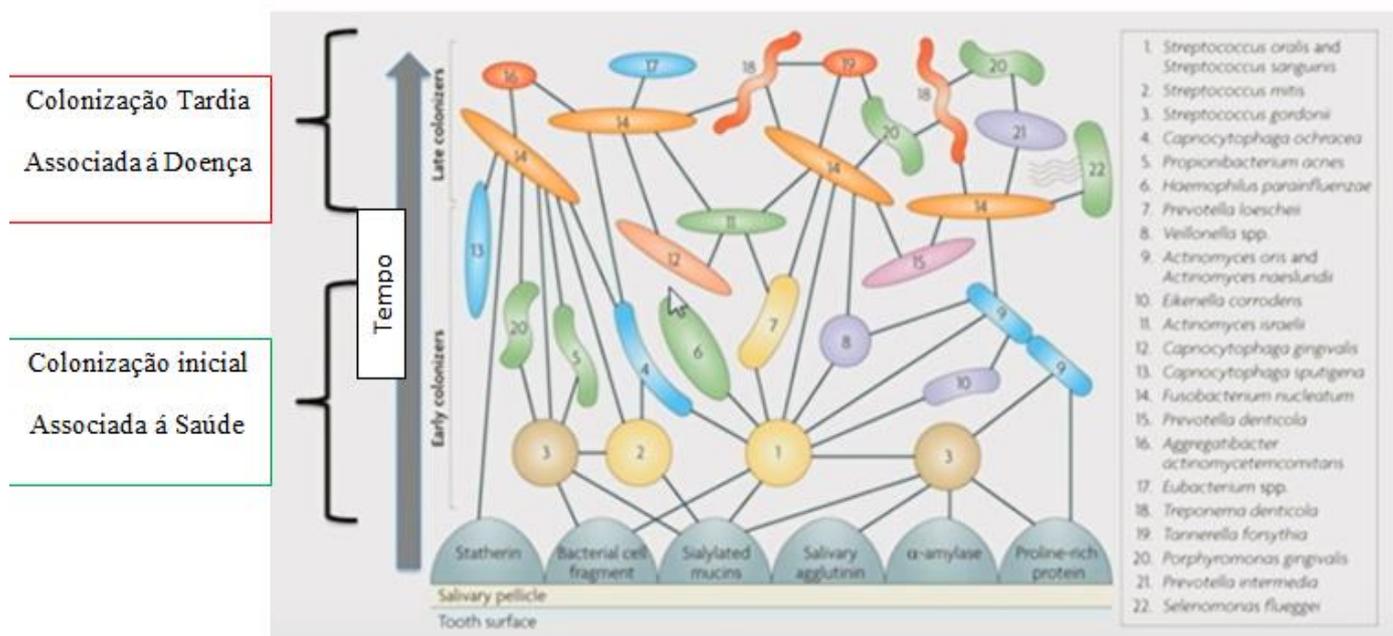


Figura 4 - Modelo espaço-temporal da colonização bacteriana na superfície do dente (33)

### 2.1.1 Moléculas importantes na relação microrganismo/hospedeiro

O conceito de adesão bacteriana às células do hospedeiro foi avaliado pela primeira vez em 1908, e desde aí tem vindo a ser estudado bem como a resposta do hospedeiro a esta interacção. As moléculas responsáveis nesta relação podem ser de várias origens, como proteica, lipídica ou de hidratos de carbono e podem ser classificadas segundo a fase da colonização em que estão envolvidas. Na adesão e no reconhecimento inicial estão envolvidas estruturas celulares chamadas adesinas, estas são estruturas externas das bactérias. Estas adesinas são associadas a uma interacção funcional com o hospedeiro onde se podem inserir as toxinas, as proteases bacterianas e efetores bacterianos que interferem com os mecanismos de sinalização intracelular do hospedeiro e pressupõem um sistema de injeção no espaço intracelular. A maioria dos microrganismos comensais e dos organismos patogénicos quando interagem com hospedeiros eucarióticos expressam uma molécula à sua superfície que promove esta interacção com os receptores da célula hospedeira ou com macromoléculas solúveis. Apesar de esta interacção poder ser benéfica, a adesão pode vir a ser um custo, porque esta adesão pode estimular a infiltração de células do sistema imunitário e ocorre a activação da

fagocitose, eliminando-as. No entanto, as bacterianas patogénicas resolveram este problema produzindo uma camada superficial que impede o reconhecimento do sistema imunitário e da fagocitose, esta camada exprime as adesinas em estruturas poliméricas que se estendem para fora a partir da superfície da célula, permitindo a relação microrganismo/hospedeiro mais segura (34), (35), (36).

### **3. Microbioma oral o seu papel na doença**

#### **3.1 Modificações do microbioma**

##### **3.1.1 Gestação e parto – o microbioma no recém-nascido**

A comunidade médica assume que, em condições normais, o desenvolvimento fetal intra-uterino ocorre num ambiente asséptico. No entanto, os estudos recentes revelam que o ambiente intra-uterino, mais especificamente o fluido amniótico, é colonizado por microrganismos orais em cerca de 70% das grávidas. O microrganismo encontrado na maioria dos estudos foi *Fusobacterium nucleatum*, uma espécie associada a doença periodontal (37).

Hoje em dia ocorre um número cada vez maior de partos prematuros e sabe-se que o nascimento prematuro é a principal causa de morbilidade e até mortalidade neonatal. Os estudos recentes demonstram que estão presentes no líquido amniótico das pacientes em trabalho de parto prematuro bactérias da cavidade oral (38).

Estes dados apoiam a tese de que as mulheres grávidas com doenças periodontais correm um risco de parto prematuro e ainda de ter bebés com baixo peso à nascença. Durante a gravidez, as bactérias encontradas na cavidade oral podem alcançar o líquido amniótico através bacteriemia transitória, especialmente na presença de doenças orais como a gengivite ou periodontite (37).

A principal causa dos partos prematuros são as infecções intra-uterinas e vários estudos demonstram que estas infecções podem ser causadas por espécies de bactérias que são componentes da flora comensal oral. Assim, o rastreio oral, o tratamento oral e a manutenção da saúde bucal deve ser uma preocupação durante a gravidez (39).

Durante o parto e nos momentos seguintes, o recém-nascido entra em contacto com uma grande variedade de microrganismos através da respiração, amamentação e até mesmo o contacto com as pessoas. Contudo, apenas uma parte destes microrganismos é capaz de colonizar permanentemente. Os microrganismos que conseguem colonizar o recém-nascido vão condicionar a colonização subsequente de outros microrganismos, o que vai levar à formação dos ecossistemas estáveis na idade adulta. São por isso as primeiras

comunidades microbianas que desempenham um papel importante no desenvolvimento do indivíduo até a idade adulta (37).

O tipo de parto vai influenciar quais os microrganismos a que o recém-nascido é exposto em primeiro lugar, influenciando a composição do ecossistema inicial. Se for parto vaginal, o recém-nascido tem comunidades bacterianas semelhantes às bactérias da vagina da mãe, como *Lactobacillus*, *Prevotella*, e *Sneathia* spp. Os que nascem por cesariana tem comunidades semelhantes às presentes na pele da mãe, como *Staphylococcus*, *Corynebacterium*, e *Propionibacterium* spp. Imediatamente após o nascimento as comunidades presentes nos diferentes locais anatómicos do recém-nascido, como boca, nasofaringe, pele, e intestinos são muito semelhantes, só mais tarde começam a diferenciar-se, pois os microrganismos pioneiros vão promover uma mudança do ambiente, usando a excreção dos produtos do seu metabolismo e potenciar o crescimento de outras espécies. Nas primeiras 24 horas os microrganismos mais comuns são bactérias Gram positivo como *Streptococcus* e *Staphylococcus*, À medida que o recém-nascido vai crescendo as comunidades microbianas vão evoluindo e vão tornando-se distintas (37).

### 3.1.2 Diabetes

*Diabetes Melitos* é considerada uma doença crónica em que não ocorre produção de insulina ou a produção desta é insuficiente, podendo ainda ocorrer uma resistência à sua acção. Quando ocorre alguma destas situações temos como resultado uma hiperglicemia levando a muitas alterações sistémicas. Estas alterações levam a complicações também elas crónicas, como é o exemplo da retinopatia e nefropatia, no entanto, a *Diabetes Melitos* pode também causar complicações orais. A doença perioral é uma das complicações mais comuns da *Diabetes Melitos* (40).

Segundo alguns estudos, a *Diabetes Melitus* é responsável por alterar o microbioma oral, por exemplo, com o aumento do nível de glucose, esta pode proporcionar uma fonte de nutrientes que afecta positivamente a multiplicação de certas espécies bacterianas, o que leva a que os indivíduos com diabetes tenham uma comunidade bacteriana diferente dos não diabéticos. No entanto, estes efeitos ainda são mal conhecidos (41).

## **3.2 Vírus**

Os vírus não são tão comuns como as bactérias e os fungos não trazem nenhum benefício, apenas doença, no entanto na cavidade oral podem ser encontrados alguns vírus, como é exemplo o vírus do herpes, Herpes Simplex Vírus (HSV), na forma latente após uma infecção primária. Este é responsável pelas infecções virais mais frequentes da cavidade oral, ele está presente em praticamente todas as pessoas mas pode ficar num estado latente durante algum tempo ou até toda a vida. Torna-se reactivado na presença de alguns factores externos como o frio, o calor e até o *stress*. Causa normalmente úlceras no lábio (5).

Outro vírus que pode estar presente na cavidade oral é o vírus do papiloma humano (HPV) este causa lesões únicas ou múltiplas na mucosa e localiza-se frequentemente nas regiões dos lábios e do palato (42).

Também podem estar na saliva vírus transmitidos pelo sangue como é o caso do vírus da hepatite B e do vírus da imunodeficiência humana (HIV). Os vírus respiratórios podem ter na boca a sua porta de entrada e infectar o trato respiratório superior (5).

Podemos ainda ter o vírus Epstein-Barr (EBV), mais conhecido como mononucleose infecciosa ou ainda vulgarmente conhecida como doença do “beijo”, pois este vírus transmite-se através da saliva. Tem um período de incubação de quatro a seis semanas, a seguir ao qual ocorre o desenvolvimento dos primeiros sintomas acompanhados de febre baixa e mal-estar generalizado, a infecção caracteriza-se pelo aparecimento de petéquias no palato, pus na zona das amígdalas, gengivite e eritema difuso bucal, como é da família do vírus do herpes não é eliminado, fica apenas latente (43).

### **3.2.1 Infecção por HIV**

Estima-se que em todo o mundo existam 35,3 milhões de pessoas que vivem com o vírus da imunodeficiência humana (HIV) e no prazo de um ano, entre 2012 e 2013, foram detectados mais de 2 milhões de novos casos. Cada vez existem mais evidências que indiciam que o microbioma desempenha um papel crucial na transmissão do HIV (44).

Nos pacientes seropositivos para HIV é muito frequente o aparecimento de lesões orais. Estas lesões são normalmente a primeira manifestação da infecção, e isto deve-se ao facto da infecção por este vírus conduzir a uma perda progressiva das células T CD4 + e da sua função, fazendo com que o sistema imunitário do indivíduo fique comprometido o que leva a que este fique susceptível a infecções oportunistas. As infecções oportunistas da mucosa oral em portadores de HIV estão presentes em cerca de 80% dos casos e causa frequentemente lesões debilitantes que contribuem para a degradação da saúde nutricional. O microbioma oral destes indivíduos tem maior quantidade de *Cândida* e *Lactobacillus* do que os indivíduos não infectados (44),(45),(46).

### **3.3 Bactérias patogénicas**

As principais doenças orais, como as cáries e as periodontites, são causadas por bactérias, provenientes do microbioma comensal. A dieta, o tabaco, a higiene e até os factores ambientais são alguns dos factores responsáveis por estas bactérias comensais causarem doença. Além destas doenças podem resultar amigdalites, pneumonias, doenças cardiovasculares e doenças sistémicas entre outras (8),(5).

Griffen fez um estudo que provou que as bactérias que causam a doença são as mesmas que se encontram num microbioma saudável, o que difere são as proporções, umas são mais predominantes na doença e outras são mais predominantes no estado saudável. No entanto as espécies consideradas patogénicas são *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Tannerella forsythia*, *Treponema denticola* e *Fusobacterium nucleatum*, pois são espécies sempre associadas à doença (47).

#### **3.3.1 Placa dentária**

A placa dentária que se acumula na superfície dos dentes começa com a precipitação das bactérias, formando uma película orgânica composta por inúmeros microrganismos, o conjunto destes microrganismos vai levar à formação do biofilme. A saliva é composta por cerca de 95% de água e 5% de matéria orgânica, no entanto contém também elementos celulares, incluindo bactérias, células epiteliais, e até células

associadas a inflamação gengival como eritrócitos. A densidade bacteriana na saliva corresponde a, aproximadamente,  $2 \times 10^8$  bactérias / ml. No início a película que se forma contém poucas bactérias, no entanto, poucas horas depois de sua deposição, mais bactérias vão aderir e completar o biofilme, formando a base para a acumulação de placa. Estudos microbiológicos sobre a formação de placa em desenvolvimento demonstraram que a adesão bacteriana à película é extremamente rápida (48). A placa é um biofilme constituído por bactérias, proteínas salivares e células epiteliais de descamação (40).

### **3.3.2 Cáries**

A cárie dentária é uma das doenças crónicas mais comuns em todo o mundo afectando toda a população humana e todas as idades. É a causa mais comum de perda de dentes e dor na cavidade oral. Apesar desta doença estar presente em todo o mundo, estudos indicam que os países desenvolvidos tem uma menor incidência da doença. Isto deve-se a vários factores incluindo a presença de fluor na água, o uso de pasta de dentes com flúor, uma dieta saudável contendo substitutos de sacarose, educação para a saúde oral e principalmente a higiene adequada. Nos países em desenvolvimento, a incidência de cárie dentária ainda permanece a um nível elevado (3).

O aparecimento de uma cárie é determinado pela coexistência de três factores principais, sendo eles a presença de microrganismos acidogénicos e acidófilos, de hidratos de carbono derivados da alimentação e dos factores do hospedeiro, como por exemplo o sistema imunitário. Os factores socioeconómicos e os comportamentais também desempenham um papel importante na etiologia da doença, pois a cárie dentária é uma doença inflamatória que tem um processo determinado pelo estilo de vida do indivíduo e pode estar sujeito a activação em qualquer período da vida humana se higiene e dieta forem negligenciadas, mesmo por pequenos períodos, por exemplo, apenas por poucas semanas. Em condições extremas até os dentes mais saudáveis podem ser afectados por esta doença, se a cárie for detectada a tempo e tratada logo no início é possível ser interrompida ou revertida, mas se não for tratada, a doença pode causar disfunções do aparelho mastigatório e infecções sistémicas (3).

As cáries desenvolvem-se devido a desequilíbrio ecológico do microbioma oral estável. Os microrganismos orais que formam a placa dentária nas superfícies dos dentes são a causa do processo de desenvolvimento da cárie. A formação do biofilme demonstra ser influenciada por mudanças de grande escala na expressão de proteínas ao longo do tempo e pela genética. Os microrganismos patogénicos presentes neste biofilme produzem ácido láctico, fórmico, acético e propiónico, que são um produto do metabolismo dos hidratos de carbono. A sua presença vai causar uma diminuição no nível de pH abaixo de 5,5, o que resulta na desmineralização dos cristais do esmalte e quebra proteolítica da estrutura dos tecidos duros do dente. *Streptococcus mutans*, *Actinomyces* e *Lactobacillus* desempenham um papel importante neste processo. O biofilme dental é uma estrutura metabolicamente dinâmica sempre activo. Quando ocorrem os processos alternados de diminuição do pH e aumento do biofilme, estes vão dar origem à desmineralização da superfície do dente. Em condições saudáveis, estes processos estão em equilíbrio e não causam estragos permanentes à superfície do esmalte do dente (3).

### **3.3.3 Gengivites**

O biofilme, mais conhecido como placa bacteriana, é conhecido como o factor que leva ao início do desenvolvimento da gengivite. Quando a placa dentária fica algum tempo em contacto com os tecidos gengivais causa edema, vermelhidão e sangramento destes. A gengivite é uma forma leve da doença das gengivas, é o início de uma inflamação que normalmente pode ser revertida com a escovagem, higiene diária e frequência de ida ao dentista ou higienista para uma limpeza mais profunda. Na gengivite não ocorre qualquer perda de ossos ou tecidos que suportam os dentes (49), (40), (50).

### 3.3.4 Periodontite

A periodontite é uma doença inflamatória que afecta as gengivas. É mais precisamente o agravamento de uma gengivite. Quando a gengivite não é tratada e se agrava ocorre uma resposta inflamatória devido à acumulação da placa dentária bacteriana que se localiza na margem gengival e dá origem a uma periodontite, como podemos ver na Figura 5. Com o tempo a placa bacteriana estende-se para dentro da margem gengival e as toxinas produzidas pelas bactérias irritam a gengiva e estimulam uma resposta inflamatória que leva à destruição do osso que suporta os dentes. Ocorre uma recessão da gengiva que se afasta dos dentes, formando bolsas, espaços entre os dentes e a gengiva. À medida que a doença progride estas bolsas aumentam destruindo cada vez mais osso. Os sinais e sintomas desta doença incluem a hemorragia, a formação de bolsas, a recessão gengival com as raízes do dente visíveis e mau-hálito. A doença periodontal grave afecta estruturas mais profundas, causando reabsorção das fibras de colagénio do ligamento periodontal, reabsorção do osso alveolar, abscessos, aumento da profundidade das bolsas, maior instabilidade dentária e até mesmo pode levar à perda de dentes (40).

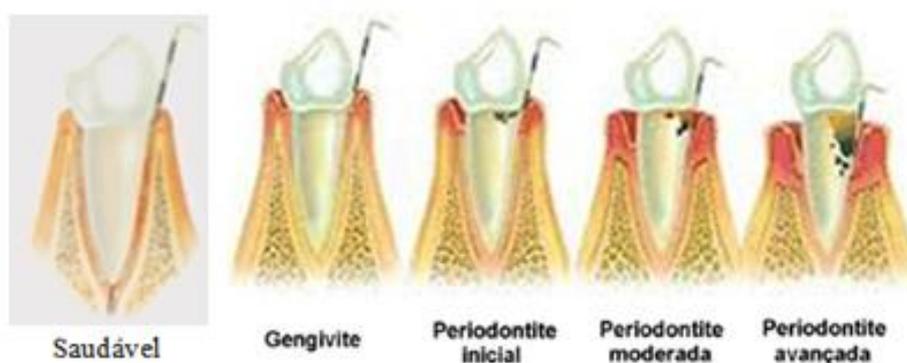


Figura 5 - Evolução de uma periodontite (18)

### 3.3.5 Candidíase

O fungo mais prevalente na cavidade oral e agente etiológico primário da candidíase oral é *Cândida albicans*. A candidíase oral é uma infecção oportunista comum, principalmente em indivíduos portadores de HIV ou com alguma outra imunodeficiência adquirida, que raramente ocorre em indivíduos saudáveis. Embora menos frequentes, outras espécies de *Cândida*, como *Cândida krusei*, *Cândida glabrata* e *Cândida dubliniensis*, também têm sido detectadas na candidíase oral. A candidíase oral é uma das mais comuns, ou até mesmo a mais comum infecção fúngica tratável da mucosa oral. É mais comum ser observada em indivíduos seropositivos para HIV, em diabéticos, em mulheres no período neonatal ou a tomar a pílula contraceptiva, pois ocorre um desequilíbrio hormonal, em indivíduos que têm um pH extremamente ácido da cavidade oral ou má higiene oral, neutropenia prolongada ou que estão a receber alimentação parenteral (51),(5).

Na cavidade oral existem múltiplas interações entre as espécies bacterianas e *Cândida albicans*, esta integra-se numa rede intermicrobiana por co-agregação com bactérias orais, pois é capaz de aderir às bactérias que colonizam primeiramente as superfícies de tecidos moles e duros, como *Streptococcus* e *Actinomyces*, bem como as que colonizam tardiamente, chamados colonizadores secundários como *Fusobacterium*. *Cândida albicans* é então capaz de crescer e sobreviver dentro destas comunidades bacterianas, mantendo um papel inofensivo até ao momento em que o sistema imunitário do hospedeiro fica comprometido de alguma forma para que esta tenha oportunidade de causar doença (52),(53).

As manifestações clínicas que normalmente caracterizam a candidíase oral são um exsudado branco e cremoso com uma base avermelhada que cobre a membrana mucosa da língua, bochechas, palato e faringe. A candidíase pode ser responsável pelo desenvolvimento de problemas mais graves, tais como a anorexia, pois as lesões causam dor e o indivíduo pode mesmo não conseguir ingerir alimentos, ou pequenas hemorragias após a higiene oral. No tratamento da candidíase oral o primeiro objectivo é o alívio da dor (51).

### 3.3.6 Doença cardiovascular

Vários estudos que têm sido feitos sugerem que existe uma associação entre a periodontite, inflamação na gengiva e as doenças cardiovasculares como a arteriosclerose, independentemente dos factores de risco para estas doenças, como a obesidade, os hábitos tabágicos, hipercolesterolémia, hipertensão e até mesmo uma dieta rica em gorduras. Num estudo recente observou-se que de uma melhoria na saúde da cavidade oral decorre um decréscimo na progressão da doença cardiovascular em humanos, logo, a periodontite é considerado também um factor de risco para as doenças cardiovasculares (54).

A arteriosclerose é uma doença que resulta da acumulação de placas que são compostas, na sua maioria, por lipoproteínas de baixa densidade (LDL), células musculares lisas, tecido fibroso e, por vezes, cálcio. Na aterosclerose ocorre então um estreitamento das artérias devido a essas placas, estreitamento esse que pode reduzir significativamente o fornecimento de sangue e conseqüentemente de oxigénio a órgãos vitais como o coração, o cérebro e os intestinos. Normalmente as paredes das artérias são lisas mas, à medida que vão aumentando estas placas, a artéria torna-se rugosa e isto pode levar à formação de um coágulo de sangue dentro da artéria, o qual pode bloquear completamente o fluxo de sangue. Conseqüentemente, o órgão abastecido pela artéria bloqueada fica sem receber sangue nem oxigénio e as células desse órgão podem morrer ou sofrer uma lesão grave. Arteriosclerose pode levar a enfarte do miocárdio, a acidente vascular cerebral (AVC), ou até mesmo à morte (55).

Na presença de uma periodontite, são produzidos localmente citocinas pró-inflamatórias que podem entrar na circulação sistémica e induzem uma resposta de fase aguda no fígado, a qual é caracterizada pelo aumento dos níveis de proteína C reactiva, fibrinogénio e soro amilóide, contribuindo por sua vez para a aterosclerose. Além disso, as úlceras gengivais e as bolsas periodontais que se formam na periodontite permitem a difusão sistémica de bactérias como *Porphyromonas gingivalis*. Estas foram detectadas em leucócitos circulantes e em lesões ateroscleróticas, onde podem actuar como estímulos para formar as lesões ateroscleróticas (54).

### **3.3.7 Artrite reumatóide**

A artrite reumatóide (AR) é uma doença reumática de etiologia desconhecida. Manifesta-se clinicamente através duma poliartrite crónica, bilateral e simétrica das pequenas articulações. Esta doença tem origem na membrana sinovial da articulação, com proliferação e hiperplasia da mesma. Este processo, por intermédio de vários factores como as citocinas pró-inflamatórias, leva à destruição da cartilagem e, subsequentemente, do osso sub-condral. É por isso uma doença erosiva com repercussões funcionais graves. Normalmente afecta as pequenas articulações das extremidades superiores e inferiores, como as mãos e os pés, originando tumefacção, edema e dor, podendo levar à destruição definitiva da articulação (56)

Estudos indicam que existe uma associação epidemiológica entre periodontite e artrite reumatóide, mesmo não sendo um factor de risco comum. Os marcadores serológicos para artrite reumatóide são, entre outros, auto-anticorpos, mais especificamente os anticorpos anti proteínas citrulinadas (ACPA), que servem como marcadores de diagnóstico. Estes são detectados no soro antes do aparecimento da doença e os seus níveis de soro correlacionam fortemente com a gravidade da doença. Um estudo recente mostrou que nos pacientes com artrite reumatóide, a periodontite é mais frequente do que em pacientes de controlo com osteoartrite. Além disso, nestes doentes, a detecção de *P. gingivalis* em amostras da placa bacteriana foi associada ao aumento dos níveis de ACPA (54).

### **3.3.8 Pneumonia**

O biofilme oral é um reservatório de bactérias e muitas delas responsáveis por infecções respiratórias, tais como as bactérias anaeróbias orais normalmente isoladas na pneumonia de aspiração e em abscessos do pulmão. A aspiração de secreções de bactérias das secreções orofaríngeas é a principal causa de pneumonia em idosos ou em

indivíduos imunocomprometidos e a periodontite está epidemiologicamente implicada como um factor de risco para a mortalidade por pneumonia de aspiração (54). Foram feitos estudos em modelo animal com ratos com pneumonia aspirativa, com infecção mista por *P. gingivalis* e *T. denticola*, e observou-se que no caso de infecção mista a resposta inflamatória é consideravelmente mais elevada do que com uma infecção simples por qualquer um dos agentes. É importante salientar que o controle da carga microbiana oral diminui significativamente a incidência de pneumonia aspirativa em idosos frágeis, pessoas acamadas ou com o sistema imunitário debilitado, o que sugere uma associação directa entre bactérias orais e patologia pulmonar em indivíduos susceptíveis (54).

### **3.3.9 Sépsis**

Um estudo recente propôs que a periodontite pode ser responsável pela susceptibilidade do hospedeiro a doença sistémica por três formas – (1) pelo facto de as duas patologias compartilharem os mesmos factores de risco, (2) os biofilmes orais são um reservatório de bactérias Gram negativo (3) e a periodontite actua como um reservatório de mediadores inflamatórios (57).

Recentemente foi proposto um mecanismo que explica a associação da periodontite à infecção sistémica. Este mecanismo pressupõe que *P. gingivalis* causa alterações na microflora intestinal levando a um aumento da permeabilidade do epitélio intestinal e endotoxemia que causa inflamação sistémica (54).

### **3.3.10 Cancro**

O microbioma humano, neste caso o oral, pode desempenhar um papel na carcinogénese. Têm vindo a ser realizados inúmeros estudos que tendem a demonstrar a associação entre o microbioma humano, a inflamação e o cancro, sendo que cada vez existem mais provas que comprovam esta relação (58).

Estudos epidemiológicos demonstram que pacientes com cancro oral apresentam má higiene oral e que esta associação pode ser causal, pois sabe-se que o microbioma oral abriga bactérias patogénicas, como *Porphyromonas gingivalis*. Este anaeróbio Gram negativo existe em grande quantidade na doença periodontal, e que estas bactérias são capazes de causar inflamação, muitas destas inflamações podem-se tornar crónicas. Estas inflamações derivam de biofilmes orais relacionados com as doenças periodontais, que por sua vez podem derivar de uma má higiene oral. Quando estas doenças inflamatórias se tornam crónicas podem levar ao desenvolvimento de cancro (59),(60).

Existe portanto uma associação entre a má higiene e, conseqüentemente, a má saúde oral, e perda de dentes com o aumento de risco de cancro gastrointestinal, isto é, pode não só ocorrer cancro na cavidade oral como no restante tracto gastrointestinal incluindo o cancro no pâncreas e colon (59),(60).

A inflamação é a característica principal na maior parte das doenças crónicas, incluindo o cancro. As doenças malignas têm mostrado que a grande quantidade de citocinas e de factores de crescimento libertos durante a inflamação pelas células podem influenciar a carcinogénese, daí a inflamação resultante de infecções pode ser uma das mais importantes causas evitáveis de cancro (59).

Um estudo demonstrou que pessoas com doença periodontal têm duas vezes mais probabilidade de vir a desenvolver cancro no pâncreas, sendo também factores de risco o tabagismo a diabetes e o IMC (índice de massa corporal) elevado. Foi também observado que as comunidades microbianas salivares de pessoas com cancro é diferente de pessoas não portadoras de cancro (61).

Outro estudo diz-nos que amostras de saliva de pacientes com cancro no esófago estão altamente correlacionadas com a infecção da cavidade oral por vários agentes patogénicos, incluindo *Treponema denticola*, *Streptococcus mitis*, e *Streptococcus angino*. *Fusobacterium nucleatum* foi outro microrganismo encontrado na cavidade oral que está também associado ao cancro colo-rectal(58).

### 3.4 Mecanismos de defesa do hospedeiro

É no momento do nascimento que o sistema imunitário do indivíduo é exposto a microrganismos e começa a desenvolver mecanismos de defesa que perduram na vida adulta. Os tecidos neonatais adaptam-se facilmente à colonização por microrganismos e é através do colostro e leite materno que o recém-nascido vai recebendo microrganismos vivos, metabolitos e células do sistema imunitário, como citocinas e anticorpos (62),(1). Estes factores vão ajudar a criança a conseguir ser hospedeira dos microrganismos e a criar o seu próprio microbioma. Por exemplo, os anticorpos maternos, mais especificamente as imunoglobulina A (IgA) e os oligossacáridos presentes no leite materno ajudam a promover a expansão dos constituintes do microbioma (62),(1).

Apesar da existência de um sistema imunitário que contribui para manter um microbioma em equilíbrio existem doenças que são cada vez mais prevalentes, como as doenças auto-imunes, alergias e doenças inflamatórias como o caso da periodontite. Estas surgem a partir de uma falha do controle da resposta do sistema imunitário que afecta o próprio microbioma. Além disso, a alteração da composição e função do microbioma também pode ser resultado do uso de antibióticos, da própria dieta (62).

Uma enorme parte do sistema imunitário é destinado a controlar a nossa relação com o microbioma. Como tal, o maior número de células do sistema imunitário do nosso organismo são residentes em locais colonizados por bactérias comensais, como a pele ou do trato gastrointestinal. Uma estratégia central utilizada pelo hospedeiro para manter a sua relação homeostática com o microbioma é o de minimizar o contacto entre microrganismos e as células epiteliais (62).

É na infância que a criança começa a sintetizar imunoglobulinas G (IgG) anti os antigénios de *Streptococcus mutans* e mais tarde começam a produzir IgA. Os níveis séricos de anticorpos IgG aumentam durante o crescimento da criança e permanecem detectáveis durante toda a vida. Em adultos jovens, a taxa de IgG anti *Streptococcus mutans* estão inversamente relacionados com os níveis de doença. Em adultos mais velhos, os anticorpos séricos da classe IgG anti *Streptococcus* cariogénicos estão directamente relacionados com o acumular de cáries e os níveis de IgA estão

inversamente relacionados com a doença. Esta relação recíproca entre a IgA e respostas de IgG ao longo da vida indica que as respostas imunes adaptativas iniciais para os antígenos de *Streptococcus mutans* podem influenciar o tempo e a taxa à qual estas bactérias aderem aos biofilmes e são detectados pelo organismo. A especificidade da resposta imunitária pode também afectar a capacidade de *Streptococcus mutans* colonizarem os dentes e tecidos (1).

Relativamente ao papel do microbioma no sistema imunitário, também é de extrema importância pois um dado microrganismo do microbioma tem a capacidade de desencadear ou promover a doença, e isto dependente do estado do hospedeiro, da predisposição genética do hospedeiro e da localização do microrganismo. Como tal, os mecanismos utilizados pelo sistema imunitário para manter a sua relação com o microbioma são altamente análogos aos que são usados para restringir os organismos com potencial patogénico (62)

## **Conclusão**

A cavidade oral é um local anatómico com grande diversidade de microrganismos. É um habitat com mais de 700 espécies bacterianas que contribuem para a saúde oral e global do indivíduo.

Os microrganismos do microbioma, maioritariamente bactérias, existem maioritariamente como biofilmes sobre as superfícies das estruturas da cavidade oral.

A composição do microbioma difere entre estruturas da cavidade oral mas, no que se refere a saúde ou doença podemos concluir que apenas se alteram as proporções relativas dos microrganismos uma vez que estes são os mesmos.

Qual é então o papel do microbioma na saúde e na doença? O papel do microbioma é extremamente importante pois tem que haver o equilíbrio na concentração certa de determinada espécie bacteriana. A regra para haver saúde ou doença é termos a proporção certa de microrganismos. Assim, se não houver higiene vão-se multiplicando espécies que levam à doença, ficando em maior quantidade e remetendo as espécies protectoras para níveis insuficientes. Este desequilíbrio pode também ser causado pela ingestão de grande quantidade de açúcar e pela consequente acidificação do meio que resulta do desenvolvimento excessivo de bactérias, ou pode resultar da toma de antibióticos.

Não só a higiene ajuda a manter o equilíbrio e o indivíduo saudável, mas também factores como o sistema imunitário, factores genéticos individuais e a dieta podem influenciar este equilíbrio.

Quando deixa de haver o equilíbrio na composição do microbioma com excesso de espécies patogénicas ou potencialmente patogénicas estamos perante a doença. Esta pode ser uma condição sem gravidade, como uma gengivite ou cárie, ou pode ser grave e dar origem a infecções afastadas da porta de entrada de microrganismos do microbioma oral, como doenças respiratórias, articulares, cardíacas ou até mesmo cancro quando uma infecção se torna crónica.

É então de extrema importância a manutenção de um microbioma oral equilibrado, fazendo uma limpeza adequada da cavidade oral, reduzindo a ingestão da quantidade de açúcares, fazendo uma alimentação equilibrada de modo a manter o sistema imunitário íntegro e evitar a toma de antibióticos.

## Bibliografia

1. Costalonga M, Herzberg MC. The oral microbiome and the immunobiology of periodontal disease and caries. *Immunol Lett* [Internet]. Elsevier B.V.; 2014;162(2):22–38. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.imlet.2014.08.017>
2. Elizabeth A. Grice and Julia A. Segre. The Human Microbiome: Our Second Genome. *Annu Rev Genomics Hum Genet.* 2013;151–70.
3. Struzycka I. The oral microbiome in dental caries. *Polish J Microbiol.* 2014;63(2):127–35.
4. Jenkinson HF. Minireview Beyond the oral microbiome. *Environmental Microbiology* 2011;13:3077–87.
5. Wade WG. The oral microbiome in health and disease. *Pharmacol Res* [Internet]. Elsevier Ltd; 2012;1–7. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.phrs.2012.11.006>
6. Zarco MF, Vess TJ, Ginsburg GS. The oral microbiome in health and disease and the potential impact on personalized dental medicine. *Oral Dis.* 2012;18(2):109–20.
7. Zhu B, Wang X, Li L. Human gut microbiome: The second genome of human body. *Protein Cell.* 2010;1(8):718–25.
8. Dewhirst FE, Chen T, Izard J, Paster BJ, Tanner ACR, Yu W, et al. The Human Oral Microbiome □ † ‡. 2010;192(19):5002–17.
9. Human Microbiome Project - Overview [Internet]. [cited 2016 Mar 28]. Available from: <https://commonfund.nih.gov/hmp/overview>
10. Ribeiro AA, Langbehn JK, Diamante NA, Rhoden SA, Pamphile JA. Microbioma humano: Uma interação predominantemente positiva? 2014;19:38–43.
11. NIH Human Microbiome Project defines normal bacterial makeup of the body | National Institutes of Health (NIH) [Internet]. [cited 2016 May 18]. Available from: <https://www.nih.gov/news-events/news-releases/nih-human-microbiome-project-defines-normal-bacterial-makeup-body>
12. Zarco MF, Vess TJ, Ginsburg GS. The oral microbiome in health and disease and the potential impact on personalized dental medicine. *Oral Dis* [Internet]. Blackwell Publishing Ltd; 2012 Mar 1 [cited 2016 Jun 6];18(2):109–20. Available from: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1601-0825.2011.01851.x/full>
13. NIH (Nacional institutes of Health). Human Microbiome Project - Overview [Internet]. 2016 [cited 2016 Jul 13]. Available from: <http://commonfund.nih.gov/hmp/overview>

14. Gevers D, Knight R, Petrosino JF, Huang K, Mcguire AL, Birren BW, et al. The Human Microbiome Project : A Community Resource for the Healthy Human Microbiome. 2012;10(8):6–10.
15. Dewhirst FE, Chen T, Izard J, Paster BJ, Tanner ACR, Yu W-H, et al. The human oral microbiome. *J Bacteriol.* 2010;192(19):5002–17.
16. Huse SM, Ye Y, Zhou Y, Fodor AA. A core human microbiome as viewed through 16S rRNA sequence clusters. *PLoS One* [Internet]. Public Library of Science; 2012 Jan [cited 2016 Jan 24];7(6):e34242. Available from: <http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0034242>
17. Avila M, Ojcius DM, Yilmaz O. The oral microbiota: living with a permanent guest. *DNA Cell Biol* [Internet]. Mary Ann Liebert, Inc. 140 Huguenot Street, 3rd Floor New Rochelle, NY 10801 USA; 2009 Aug 21 [cited 2016 Jan 11];28(8):405–11. Available from: <http://online.liebertpub.com/doi/abs/10.1089/dna.2009.0874>
18. Moutsopoulos N, Palmer RJ, Valm A, National Institutes of Health (U.S.). The Oral Microbiome Meets Cell Biology and Periodontal Diseaseo Title [Internet]. Demystifying Medicine 2016: The Oral Microbiome Meets Cell Biology and Periodontal Disease. Washington DC; 2016. Available from: <https://videocast.nih.gov/launch.asp?19580>
19. Faran Ali SM, Tanwir F. Oral microbial habitat a dynamic entity. *J Oral Biol Craniofacial Res* [Internet]. Elsevier Inc; 2012;2(3):181–7. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jobcr.2012.07.001>
20. Jenkinson HF, Lamont RJ. Oral microbial communities in sickness and in health. 2005;13(12).
21. Chen T, Yu W, Izard J, Baranova O V, Lakshmanan A, Dewhirst FE. Original article The Human Oral Microbiome Database : a web accessible resource for investigating oral microbe taxonomic and genomic information. 2010;2010:1–10.
22. Ghannoum MA, Jurevic RJ, Mukherjee PK, Cui F, Sikaroodi M, Naqvi A, et al. Characterization of the Oral Fungal Microbiome ( Mycobiome ) in Healthy Individuals. 2010;6(1).
23. Clemente JC, Ursell LK, Parfrey LW, Knight R. Review The Impact of the Gut Microbiota on Human Health : An Integrative View. *Cell* [Internet]. Elsevier Inc.; 2012;148(6):1258–70. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cell.2012.01.035>
24. Moutsopoulos N, Palmer RJ, Valm A. NIH VideoCast - Demystifying Medicine 2016: The Oral Microbiome Meets Cell Biology and Periodontal Disease [Internet]. The Oral Microbiome Meets Cell Biology and Periodontal Disease. 2016 [cited 2016 Sep 19]. Available from: <https://videocast.nih.gov/summary.asp?live=17872&bhcp=1>
25. Wang L, Ganly I. The oral microbiome and oral cancer. *Clin Lab Med* [Internet]. Elsevier Inc; 2014;34(4):711–9. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cll.2014.08.004>

26. Aas J a, Paster BJ, Stokes LN, Olsen I, Dewhirst FE. Defining the Normal Bacterial Flora of the Oral Cavity Defining the Normal Bacterial Flora of the Oral Cavity. *J Clin Microbiol.* 2005;43(11):5721–32.
27. Wade WG. Characterisation of the human oral microbiome. *J Oral Biosci.* 2013;55(3):143–8.
28. Palmer RJ. Composition and development of oral bacterial communities. *Periodontol 2000.* 2014;64(1):20–39.
29. Marques SC, Rezende JDGOS, Alves LADF, Silva BC, Alves E, De Abreu LR, et al. Formation of biofilms by *Staphylococcus aureus* on stainless steel and glass surfaces and its resistance to some selected chemical sanitizers. *Brazilian J Microbiol.* 2007;38(3):538–43.
30. Tobergte DR, Curtis S. No Title No Title. Vol. 53, *Journal of Chemical Information and Modeling.* 2013. 1689-1699 p.
31. Oral fungal diversity ( mycobiome ) in healthy individuals from rural and urban areas from the neovolcanic axis in Puebla , Mexico. 2012;3(5):2173–80.
32. Tlaskalová-Hogenová H, Stepánková R, Hudcovic T, Tucková L, Cukrowska B, Lodinová-Zádníková R, et al. Commensal bacteria (normal microflora), mucosal immunity and chronic inflammatory and autoimmune diseases. *Immunol Lett [Internet].* 2004 May 15 [cited 2016 Jun 26];93(2–3):97–108. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0165247804000379>
33. Kolenbrander PE, Palmer RJ, Periasamy S, Jakubovics NS. Oral multispecies biofilm development and the key role of cell-cell distance. *Nat Rev Microbiol [Internet].* Nature Publishing Group; 2010;8(7):471–80. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/nrmicro2381>
34. Kline KA, F?lker S, Dahlberg S, Normark S, Henriques-Normark B. Bacterial Adhesins in Host-Microbe Interactions. *Cell Host Microbe.* 2009;5(6):580–92.
35. Shames SR, Finlay BB. Bacterial effector interplay: A new way to view effector function. *Trends Microbiol [Internet].* Elsevier Ltd; 2012;20(5):214–9. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.tim.2012.02.007>
36. Lantz MS. Are bacterial proteases important virulence factors? Vol. 32, *Journal of periodontal research.* 1997. p. 126–32.
37. Sampaio-Maia B, Monteiro-Silva F. Acquisition and maturation of oral microbiome throughout childhood: An update. *Dent Res J (Isfahan) [Internet].* 2014;11(3):291–301. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25097637>
38. Prince AL, Antony KM, Chu DM, Aagaard KM. The microbiome, parturition, and timing of birth: more questions than answers. *J Reprod Immunol [Internet].* Elsevier Ireland Ltd; 2014;104–105:12–9. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=4157949&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>

39. Mysorekar IU, Cao B. Microbiome in parturition and preterm birth. *Semin Reprod Med.* 2014;32(1):50–5.
40. Alves C, Andion J, Brandão M, Menezes R. Mecanismos patogênicos da doença periodontal associada ao diabetes melito. *Arq Bras Endocrinol Metabol.* 2007;51:1050–7.
41. Zhou M, Rong R, Munro D, Zhu C, Gao X, Zhang Q, et al. Investigation of the Effect of Type 2 Diabetes Mellitus on Subgingival Plaque Microbiota by High-Throughput 16S rDNA Pyrosequencing. *PLoS One.* 2013;8(4).
42. The L, Virology F. Oral viral infections of adults. 2009;49:60–86.
43. Oliveira JL De, Freitas RT, Arcuri LJ, Gomes AP, Vitorino RR, Rodrigues DC, et al. O vírus Epstein-Barr e a mononucleose infecciosa \* Epstein-Barr virus and infectious mononucleosis. 2012;10(6):535–43.
44. Salas JT, Chang TL. Microbiome in human immunodeficiency virus infection. *Clin Lab Med [Internet]. Elsevier Inc;* 2014;34(4):733–45. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cll.2014.08.005>
45. Monaco CL, Gootenberg DB, Zhao G, Handley SA, Ghebremichael MS, Lim ES, et al. Altered Virome and Bacterial Microbiome in Human Immunodeficiency Virus-Associated Acquired Immunodeficiency Syndrome. *Cell Host Microbe.* 2016;19(3):311–22.
46. Dang AT, Cotton S, Sankaran-Walters S, Li C-S, Lee C-Y, Dandekar S, et al. Evidence of an increased pathogenic footprint in the lingual microbiome of untreated HIV infected patients. *BMC Microbiol [Internet].* 2012;12(1):153. Available from: <http://www.biomedcentral.com/1471-2180/12/153>
47. Griffen AL, Beall CJ, Campbell JH, Firestone ND, Kumar PS, Yang ZK, et al. Distinct and complex bacterial profiles in human periodontitis and health revealed by 16S pyrosequencing. *ISME J [Internet]. Nature Publishing Group;* 2012;6(6):1176–85. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3358035&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
48. Christersson LA, Joseph J, Genco RJ. Dental bacterial plaques. 1991;441–7.
49. Grundemann LJ, Timmerman MF, Ijzerman Y, van der Weijden G a. Stain, plaque and gingivitis reduction by combining chlorhexidine and peroxyborate. *J Clin Periodontol [Internet].* 2000;27:9–15. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10674956>
50. NIH (Nacional institutes of Health). Periodontal ( Gum ) Disease. Periodontal Dis Causes, Symptoms, Treat. 2013;3.
51. Reis CP, Roque LV, Baptista M, Rijo P. Innovative formulation of nystatin particulate systems in toothpaste for candidiasis treatment. *Pharm Dev Technol [Internet].* 2015;7450(April):1–6. Available from: <http://informahealthcare.com/doi/abs/10.3109/10837450.2014.999783>

52. Southern P, Horbul J, Maher D, Davis DA. *C. albicans* colonization of human mucosal surfaces. *PLoS One*. 2008;3(4).
53. Dutton LC, Nobbs AH, Jepson K. O-Mannosylation in *Candida albicans* Enables Development of. *MBio*. 2014;5(2):1–15.
54. Hajishengallis G. Periodontitis: from microbial immune subversion to systemic inflammation. *Nat Rev Immunol* 2016;15(1):30–44.
55. National Institutes of Health. What Is Atherosclerosis [Internet]. 2016. Available from: <http://www.nhlbi.nih.gov/health/health-topics/topics/atherosclerosis/>
56. Grover HS, Gaba N, Gupta a, Marya CM. Rheumatoid arthritis: a review and dental care considerations. *Nepal Med Coll J [Internet]*. 2011;13(May 1999):74–6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22364085>
57. Li X, Kolltveit KM, Tronstad L, Olsen I. Systemic diseases caused by oral infection. *Clin Microbiol Rev [Internet]*. 2000;13(4):547–58. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11023956>
58. Galv??o-Moreira LV, Da Cruz MCFN. Oral microbiome, periodontitis and risk of head and neck cancer. *Oral Oncol*. 2016;53:17–9.
59. Meurman JH. Oral microbiota and cancer. *J Oral Microbiol*. 2010;2(2010):1–10.
60. Gao S, Li S, Ma Z, Liang S, Shan T, Zhang M, et al. Presence of *Porphyromonas gingivalis* in esophagus and its association with the clinicopathological characteristics and survival in patients with esophageal cancer. *Infect Agent Cancer [Internet]*. *Infectious Agents and Cancer*; 2016;11:3. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=4717526&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
61. Torres PJ, Fletcher EM, Gibbons SM, Bouvet M, Doran KS, Kelley ST. Characterization of the salivary microbiome in patients with pancreatic cancer. *PeerJ [Internet]*. 2015;3:e1373. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=4647550&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
62. Belkaid Y, Hand TW. Role of the microbiota in immunity and inflammation. *Cell*. 2014;157(1):121–41.