

Marsh & Martin

Microbiologia Oral



Philip D. Marsh • Michael A.O. Lewis • Helen Rogers
David W. Williams • Melanie Wilson

ELSEVIER

Tradução da 6ª Edição

Marsh & Martin

Microbiologia Oral

Dedicatória

Para: Jane, Katherine, Thomas, Jonathan,
Heather, Christopher e Andrew
Mike, Ben e Sam
Lorna, Daniel, Ailish, Calum e Sioned
Andrew, Coren, Arran e Elinor

Marsh & Martin Microbiologia Oral

Professor Philip D. Marsh BSc, PhD

Chief Scientific Leader, Public Health England, Salisbury, UK. Professor of Oral Microbiology, School of Dentistry, University of Leeds, UK

Professor Michael A. O. Lewis PhD, BDS, FDSRCPS, FDSRCS (Ed e Eng), FRCPATH, FHEA, FFGDP (UK)

Professor of Oral Medicine and Dean, School of Dentistry, College of Biomedical and Life Sciences, Cardiff University, Heath Park, Cardiff, UK

Dr. Helen Rogers, MB ChB BDS BSc MFDS FDS (OMed) RCS Eng

Consultant and Honorary Senior Lecturer in Oral Medicine, University of Bristol Dental Hospital, Bristol, UK

Professor David W. Williams BSc (Hons), PhD

Professor of Oral Microbiology, School of Dentistry, College of Biomedical and Life Sciences, Cardiff University, Heath Park, Cardiff, UK

Dr. Melanie Wilson BSc (Hons), BDS, PhD, FDSRCS, FRCPATH

Senior Lecturer and Honorary Consultant in Oral Microbiology, School of Dentistry, College of Biomedical and Life Sciences, Cardiff University, Heath Park, Cardiff, UK

Ilustrações de MacPS

ELSEVIER

© 2018 Elsevier Editora Ltda.

Todos os direitos reservados e protegidos pela Lei 9.610 de 19/02/1998.

Nenhuma parte deste livro, sem autorização prévia por escrito da editora, poderá ser reproduzida ou transmitida sejam quais forem os meios empregados: eletrônicos, mecânicos, fotográficos, gravação ou quaisquer outros.

ISBN: 978-85-352-8837-7

ISBN versão eletrônica: 978-85-352-8877-3

MARSH & MARTIN'S ORAL MICROBIOLOGY, 6th EDITION

Copyright © 2016 Elsevier Ltd. All rights reserved.

This translation of Marsh & Martin's Oral Microbiology, 6th Edition, by Phillip D. Marsh, Michael A.O. Lewis, Helen Rogers, David W Williams, Melanie Wilson was undertaken by Elsevier Editora Ltda. and is published by arrangement with Elsevier Ltd.

Esta tradução de Marsh & Martin's Oral Microbiology, 6th Edition, de Phillip D. Marsh, Michael A.O. Lewis, Helen Rogers, David W Williams, Melanie Wilson foi produzida por Elsevier Editora Ltda. e publicada em conjunto com Elsevier Ltd.

ISBN: 978-0-7020-6106-6

Capa

Studio Creamcrackers

Editoração Eletrônica

Thomson Digital

Elsevier Editora Ltda.

Conhecimento sem Fronteiras

Edifício City Tower

Rua da Assembleia, 100 – 6º andar – Sala 601

20011-904 – Centro – Rio de Janeiro – RJ

Rua Quintana, nº 753 – 8º andar

04569-011 – Brooklin – São Paulo – SP

Serviço de Atendimento ao Cliente

0800 026 53 40

atendimento1@elsevier.com

Consulte nosso catálogo completo, os últimos lançamentos e os serviços exclusivos no site www.elsevier.com.br

Nota

Esta tradução foi produzida por Elsevier Brasil Ltda. sob sua exclusiva responsabilidade. Médicos e pesquisadores devem sempre fundamentar-se em sua experiência e no próprio conhecimento para avaliar e empregar quaisquer informações, métodos, substâncias ou experimentos descritos nesta publicação. Devido ao rápido avanço nas ciências médicas, particularmente, os diagnósticos e a posologia de medicamentos precisam ser verificados de maneira independente. Para todos os efeitos legais, a Editora, os autores, os editores ou colaboradores relacionados a esta tradução não assumem responsabilidade por qualquer dano/ou prejuízo causado a pessoas ou propriedades envolvendo responsabilidade pelo produto, negligência ou outros, ou advindos de qualquer uso ou aplicação de quaisquer métodos, produtos, instruções ou ideias contidos no conteúdo aqui publicado.

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

M327

6.ed.

Marsh & Martin, microbiologia oral / Philip D. Marsh ... [et. al.] ; tradução Tatiana Robaina. - 6. ed. - Rio de Janeiro : Elsevier, 2018.

il. ; 25 cm.

Tradução de: Marsh and Martin's oral microbiology

Inclui índice

ISBN 978-85-352-8837-7

1. Ciências Biológicas (Microbiologia). I. Marsh, Philip D. II. Robaina, Tatiana.

17-43319

CDD: 616.01

CDU: 579.61



Revisão Científica e Tradução

REVISÃO CIENTÍFICA

Ana Paula Campanelli

Professora Associada do Departamento de Ciências Biológicas da Faculdade de Odontologia de Bauru - Universidade de São Paulo (FOB/USP)

Pós-Doutora em Imunologia Básica e Aplicada pela Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto - Universidade de São Paulo (FMRP/USP)

Doutorado em Imunologia Básica e Aplicada pela Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto - Universidade de São Paulo (FMRP/USP)

Mestre em Imunologia Básica e Aplicada pela Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto - Universidade de São Paulo (FMRP/USP)

Bacharel e Licenciado em Ciências Biológicas pela Faculdade de Filosofia Ciências e Letras de Ribeirão Preto - Universidade de São Paulo (FFCLRP/USP)

TRADUÇÃO

Tatiana Ferreira Robaina

Doutora em Ciências pela Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ)

Mestre em Patologia pela Universidade Federal Fluminense (UFF)

Especialista em Estomatologia pela Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ)

Cirurgiã-dentista pela Universidade Federal de Pelotas (UFPel)

Sumário

Prefácio	viii
Agradecimentos	ix
1 Introdução	1
2 A Cavidade Bucal como um <i>Habitat</i> Microbiano	10
3 A Microbiota Residente da Cavidade Bucal	26
4 Distribuição, Desenvolvimento e Benefícios da Microbiota Bucal	51
5 Biofilme Dental	81
6 Doenças Mediadas pelo Biofilme: Cárie Dentária e Doenças Periodontais	112
7 Infecções Bacterianas Orofaciais	159
8 Infecções Fúngicas Bucais	175
9 Infecções Virais Orofaciais	190
10 Agentes Antimicrobianos	202
11 Microbiota Bucal e Doença Sistêmica	217
12 Controle de Infecção	237
Respostas das questões de múltipla escolha	249
Índice	251

Prefácio

O objetivo da última edição deste livro de sucesso continua sendo descrever a complexa relação entre a microbiota residente na cavidade bucal e o hospedeiro, na saúde e na doença. Esta 6ª edição foi completamente reescrita e atualizada, mas mantém sua filosofia de explicar essa relação por meio de princípios ecológicos. Essa abordagem é benéfica para o leitor, pois propicia um conjunto claro de princípios para explicar as questões subjacentes que determinam se a microbiota terá ou não uma relação benéfica ou adversa com o hospedeiro em determinado local. Essa informação fornece uma fundamentação que pode ser explorada por pesquisadores ou profissionais da área de saúde para compreender, prevenir ou controlar a doença.

Esta edição reflete o impacto que a era da genômica teve sobre a microbiologia. A aplicação das técnicas de Biologia Molecular revolucionou o nosso conhecimento em relação à riqueza e à diversidade dos microrganismos que podem ser encontrados na cavidade bucal e destacou que, mesmo com as mais sofisticadas técnicas, apenas cerca de 50 a 70% da microbiota pode ser cultivada em laboratório. Essas abordagens moleculares também descreveram o envolvimento de complexas relações entre microrganismos na etiologia

das doenças bucais. Esta edição inclui novas seções sobre os benefícios da microbiota bucal residente para o hospedeiro e sobre os atuais conceitos de fatores que impulsionam a disbiose na doença periodontal. Há um novo capítulo sobre o papel emergente dos microrganismos bucais nas doenças sistêmicas e uma abordagem contemporânea sobre o uso de antibióticos na terapia e profilaxia. Além disso, o capítulo sobre controle de infecções foi ampliado.

Esta nova edição se baseia no sucesso das anteriores e fornece uma cobertura ainda mais abrangente da área de microbiologia bucal. O projeto gráfico do livro foi renovado, com *Pontos-chave* destacados para facilitar a aprendizagem, e cada capítulo agora tem um conjunto de questões de múltipla escolha para ajudar com a autoaprendizagem. O livro está indicado para estudantes de graduação e pós-graduação, pesquisadores e uma ampla gama de profissionais da área de Odontologia.

Phil Marsh
Mike Lewis
Helen Rogers
David Williams
Melanie Wilson

Agradecimentos

Agradecemos aos muitos colegas que permitiram a reprodução de imagens usadas nas edições anteriores e também a Mike Curtis, Deirdre Devine, Thuy Do, Josephine Meade, Wendy Rowe, Kirsty Sands, Owain Dafydd Thomas, Adam Jones e William Wade, que contribuíram com novas informações ou imagens para

esta edição. Agradecemos também ao Dr. Mike Martin, pelas contribuições nas edições anteriores. Um agradecimento especial às nossas famílias, que nos apoiaram durante a preparação desta edição, e aos editores por suas valiosas contribuições.

A Microbiota Residente da Cavidade Bucal

A microbiota residente da cavidade bucal é diversa e consiste em uma ampla gama de vírus, micoplasmas, bactérias, fungos e até mesmo, em algumas ocasiões, protozoários e arqueias. Estes últimos são microrganismos procariontes, distintos das bactérias e incluem as metanogênicas. Esta diversidade microbiana é um reflexo dos inúmeros e variados *habitats* presentes na cavidade bucal, que são providos por uma gama de nutrientes endógenos e exógenos. Além disso, em biofilmes como a placa dental, gradientes desenvolvem-se em parâmetros de significado ecológico, como tensão de oxigênio e pH, proporcionando condições adequadas para o crescimento e a sobrevivência de microrganismos com amplo espectro de necessidades. Sob tais condições, nenhuma população bacteriana individual apresenta uma vantagem particular e numerosas espécies podem coexistir. O biofilme também funciona como uma verdadeira comunidade microbiana e numerosos exemplos de inter-relações metabólicas sinérgicas ocorrem. Isso permitirá que algumas bactérias exigentes sobrevivam e cresçam quando fazem parte de uma comunidade em condições que não seriam capazes de tolerar se estivessem em uma cultura ou em um ambiente mais homogêneo. Existem mais de 700 espécies bacterianas que foram isoladas da cavidade bucal humana. Aproximadamente 49% delas estão oficialmente nomeadas, 17% não foram nomeadas (mas são cultiváveis) e 34% são conhecidas apenas como filotipos não cultiváveis.

Antes da comunidade microbiana em áreas individuais na cavidade bucal ser discutida em detalhes (Capítulos 4 e 5), serão descritos os tipos e propriedades dos microrganismos encontrados comumente na saúde e na doença. No entanto, em primeiro lugar, será relevante discutir os princípios de classificação e de identificação microbianas e descrever brevemente alguns dos métodos utilizados. A **classificação** é a organização dos microrganismos em grupos (táxon) com base nas suas similaridades e diferenças. Em contraste, a **identificação** é o processo de determinar se um novo isolado pertence a um determinado táxon (categoria). O objetivo da classificação é definir essas categorias em nível de

Princípios da classificação microbiana

Princípios da identificação microbiana

Impacto da metagenômica

Dificuldades decorrentes dos recentes avanços na classificação microbiana

Cocos Gram-positivos

Streptococcus

Outros cocos Gram-positivos

Bacilos e filamentosos Gram-positivos

Actinomyces

Eubacterium e gêneros relacionados

Lactobacillus

Outros gêneros

Cocos Gram-negativos

Bacilos Gram-negativos

Anaeróbios facultativos e gênero capnofílico

Gênero anaeróbio estrito

Mycoplasma

Fungos

Domínio Archaea

Vírus

Protozoários

Resumo do capítulo

Leitura adicional

gênero ou **espécie**. Tradicionalmente, um sistema hierárquico é usado para nomear bactérias, de modo que grupos de organismos relacionados intimamente formam uma espécie, espécies relacionadas são alocadas em um gênero e assim por diante (Tabela 3.1). As espécies são designadas por nomenclatura binomial, o primeiro termo (palavra) para designar o **gênero** e o segundo, para a **espécie** (p. ex., em *Streptococcus mutans*, o gênero é *Streptococcus* e a espécie é *mutans*, Tabela 3.1), e todos os nomes devem ser escritos em latim ou latinizados. Caso um isolado não pertença a algum táxon existente, uma nova espécie pode ser proposta. A nomeação das bactérias reflete essa classificação (**nomenclatura**) e é regulamentada por comitês internacionais. Uma vez que um microrganismo tenha sido categorizado em uma espécie, pode ser possível subtipar cepas individuais; esta abordagem pode ser valiosa em estudos epidemiológicos que investigam a transmissão de cepas entre os indivíduos. As inter-relações entre essas abordagens (classificação, identificação, tipagem de cepas) são mostradas na Figura 3.1. O processo de classificação, nomenclatura e identificação de microrganismos é denominado **taxonomia**, embora, às vezes, os termos classificação e taxonomia sejam usados de forma trocada.

PONTOS-CHAVE

A cavidade bucal pode sustentar o crescimento de diversas comunidades de microrganismos.

Mais de 700 espécies de bactérias foram isoladas a partir da cavidade bucal humana. Destas, aproximadamente 49% são nomeadas oficialmente, 17% não foram nomeadas (mas são cultiváveis) e 34% são conhecidas apenas como filotipos não cultiváveis. Além disso, também estão presentes vírus, micoplasmas, leveduras, protozoários e representantes do domínio *Archaea*.

PRINCÍPIOS DA CLASSIFICAÇÃO MICROBIANA

Conforme exposto anteriormente, o propósito dos esquemas de classificação é desenvolver um arranjo lógico dos microrganismos baseado em suas similaridades e relações. Isto requer a determinação e a comparação de tantas características quanto possível, embora em esquemas de identificação, apenas alguns testes discriminatórios fundamentais possam ser necessários para fazer distinção entre os microrganismos. Os esquemas de classificação iniciais baseavam-se fortemente em critérios morfológicos e fisiológicos simples, como a forma de uma célula e o

TABELA 3.1 Hierarquia da classificação microbiana.

Alocação taxonômica	Exemplo
Reino	<i>Procaryotae</i>
Divisão	<i>Firmicutes</i>
Subdivisão	Conteúdo de DNA G + C baixo
Ordem	—
Família	<i>Streptococcaceae</i>
Gênero	<i>Streptococcus</i>
Espécies	<i>Streptococcus mutans</i>
Sorotipo*	<i>Streptococcus mutans</i> sorotipo c
Cepa*	<i>Streptococcus mutans</i> NCTC 10449**

*Essa classificação não é formalmente reconhecida na taxonomia, mas é de grande importância prática. DNA, ácido desoxirribonucleico; **NCTC = *National Collection of Type Cultures*.

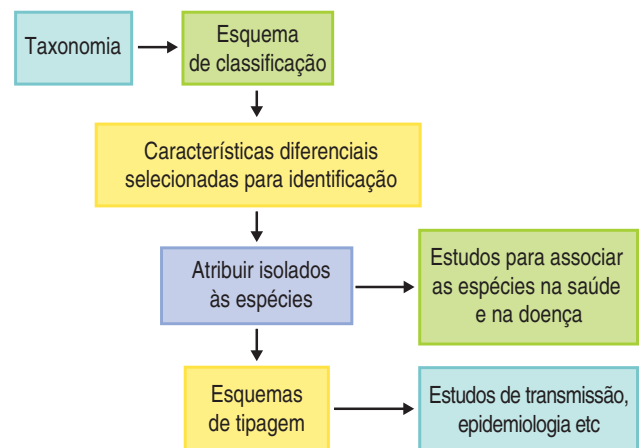


FIGURA 3.1 Representação esquemática para distinguir classificação, identificação e tipagem de cepas bacterianas.

padrão de fermentação dos açúcares (Tabela 3.2). Na verdade, estas abordagens analisavam apenas uma fração do material genético da célula (**genoma**). A **quimiota-xonomia** analisa e compara a composição molecular de componentes mais complexos da célula (p. ex., a composição química da parede celular ou dos lipídios de membrana, perfis de proteína de células inteiras etc.), o que desencadeou grandes melhorias nos esquemas de classificação. As características antigênicas dos microrganismos também podem ser comparadas com a utilização de técnicas imunológicas (**sorologia**), nas quais são utilizados

TABELA 3.2 Algumas características utilizadas nos esquemas de classificação e identificação microbiana.

Característica	Exemplos
Morfologia celular	Forma; reação na coloração de Gram (morfologia e estrutura celular); flagelos; esporos; tamanho
Aparência da colônia	Pigmento; hemólise; forma; tamanho
Fermentação de carboidrato	Produção de ácido ou gás
Hidrólise de aminoácidos	Produção de amônia
Padrão de produtos da fermentação	Butirato; lactato; acetato
Enzimas pré-formadas	Glicosidases (p. ex., α -glicosidase)
Antígeno	Anticorpos monoclonais/policlonais para proteínas de superfície
Lipídios	Menaquinonas, ácidos graxos de cadeia longa
DNA	Proporção de guanina + citosina (G + C); sequência do gene 16S rRNA; sequência do genoma total
Perfil enzimático	Presença/ausência; mobilidade eletroforética
Peptidoglicano	Composição dos aminoácidos (p. ex., lisina)

DNA, ácido desoxirribonucleico; rRNA, ácido ribonucleico ribossômico.

anticorpos específicos (policlonais ou monoclonais) para detectar antígenos da superfície celular.

Os recentes estudos de filogenia baseiam-se na determinação da relação genética entre as cepas, por exemplo, comparando a sequência do **ácido ribonucleico ribossômico 16S (16S rRNA)**. Dentro dos genes de bactérias e fungos, algumas regiões da sequência do ácido desoxirribonucleico (DNA) são conservadas, enquanto outras são altamente variáveis e refletem a diversidade. O rRNA ribossômico bacteriano (16S rRNA) apresenta cerca de 1.500 pares de bases de comprimento, sendo curto o suficiente para um sequenciamento rápido, empregando equipamentos de sequenciamento de DNA automatizados e de tamanho apropriado para

fornecer uma diversidade de informações necessárias para evidenciar semelhanças e diferenças entre as cepas. As regiões conservadas podem ser utilizadas como molde para a confecção de sondas de oligonucleotídeos (*primers*). Com a utilização da reação em cadeia da polimerase (PCR), fragmentos de genes 16S rRNA podem ser amplificados e, então, sequenciados para identificar as diferenças nas regiões variáveis. As sequências podem ser comparadas com as de outros microrganismos e mantidas em base de dados, de modo que a relação de um isolado com uma espécie conhecida pode ser determinada e **árvores evolutivas (filogenéticas)** podem ser desenvolvidas. A técnica é relativamente rápida e tem facilitado a análise de uma gama muito mais ampla de bactérias do que era possível anteriormente. A comparação das sequências de genes de 16S rRNA revolucionou o campo da taxonomia microbiana e tem esclarecido a classificação de muitos grupos de bactérias bucais previamente heterogêneos, como os estreptococos (Tabela 3.3) e os bastonetes Gram-positivos anaeróbios anteriormente agrupados como espécies de *Eubacterium* (Fig. 3.6). Além de classificar cepas desconhecidas, esta abordagem também pode ser usada para identificar isolados e apresenta muitas vantagens sobre as abordagens convencionais de cultura (ver mais adiante, Fig. 3.2). Da mesma forma, o recente desenvolvimento de sequenciadores de DNA de última geração possibilitou que grupos de pesquisa sequenciassem rapidamente, com baixo custo, todo o genoma de bactérias isoladas (sequenciamento completo do genoma [WGS, *whole genome sequencing*] e sequenciamento de nova geração [NGS, *next generation sequencing*]). As sequências do genoma podem, então, ser alinhadas com as de espécies conhecidas em bases de dados internacionais de microrganismos de referência. Esta abordagem também pode ser aplicada a amostras coletadas diretamente do meio ambiente ou a partir de espécimes clínicos, embora a análise de genomas múltiplos (metagenômica) em uma amostra complexa, como o biofilme dental, exija suporte sofisticado de bioinformática. A metagenômica é uma abordagem poderosa recente para determinar a composição das comunidades microbianas e é especialmente vantajosa quando algumas das espécies que as compõem ainda não podem ser cultivadas em cultura pura em laboratório. A metagenômica está transformando a nossa compreensão sobre as comunidades microbianas e terá, sem dúvida, um grande impacto no futuro, não só na melhoria da classificação dos microrganismos, mas também na análise mais precisa das amostras clínicas.

TABELA 3.3 Espécies de estreptococos bucais isolados em seres humanos.

Grupo	Espécies
Grupo <i>mutans</i> *	<i>S. mutans</i> sorotipos <i>c, e, f, k</i> <i>S. sobrinus</i> sorotipos <i>d, g</i> <i>S. criceti</i> sorotipo <i>a</i> <i>S. ratti</i> sorotipo <i>b</i>
Grupo <i>salivarius</i>	<i>S. salivarius</i> <i>S. vestibularis</i>
Grupo <i>anginosus</i>	<i>S. constellatus</i> <i>S. intermedius</i> <i>S. anginosus</i>
Grupo <i>mitis</i>	<i>S. sanguinis</i> <i>S. gordonii</i> <i>S. parasanguinis</i> <i>S. oralis</i> <i>S. mitis</i> <i>S. cristatus</i> <i>S. oligofermentans</i> <i>S. sinensis</i> <i>S. australis</i> <i>S. peroris</i> <i>S. infantis</i> <i>S. dentisani</i> <i>S. tigurinus</i>

*O grupo *mutans* também inclui *S. ferus* (isolado de ratos), *S. macacae* e *S. downei* (sorotipo *h*) (isolado de macacos).

Uma consequência da classificação é a proposição de novas espécies. Uma espécie representa uma coleção de cepas que compartilham muitas características em comum e que diferem, consideravelmente, de outras cepas. Uma vez que uma espécie foi reconhecida, então uma **cepa-tipo**, que tem propriedades representativas da espécie, é nominada. Estas são mantidas em coleções, como a *American Type Culture Collection* (ATCC) ou a *National Collection of Type Cultures* (NCTC), que está localizada no Reino Unido.

Uma espécie pode ser dividida em subespécies caso variações fenotípicas menores, mas consistentes, forem reconhecidas. Da mesma forma, grupos de cepas dentro de uma espécie, às vezes, podem ser distinguidos por uma característica especial. Por exemplo, as cepas com uma propriedade bioquímica ou fisiológica especial são denominadas **biovars** ou **biotipos**, enquanto as cepas com uma composição antigênica diferente são descritas como **sorovars** ou **sorotipos** e podem ser reconhecidas por meio da utilização de anticorpos apropriados. As abordagens moleculares também podem ser adaptadas para subtipar cepas dentro de uma espécie. Com exceção do sequenciamento direto,

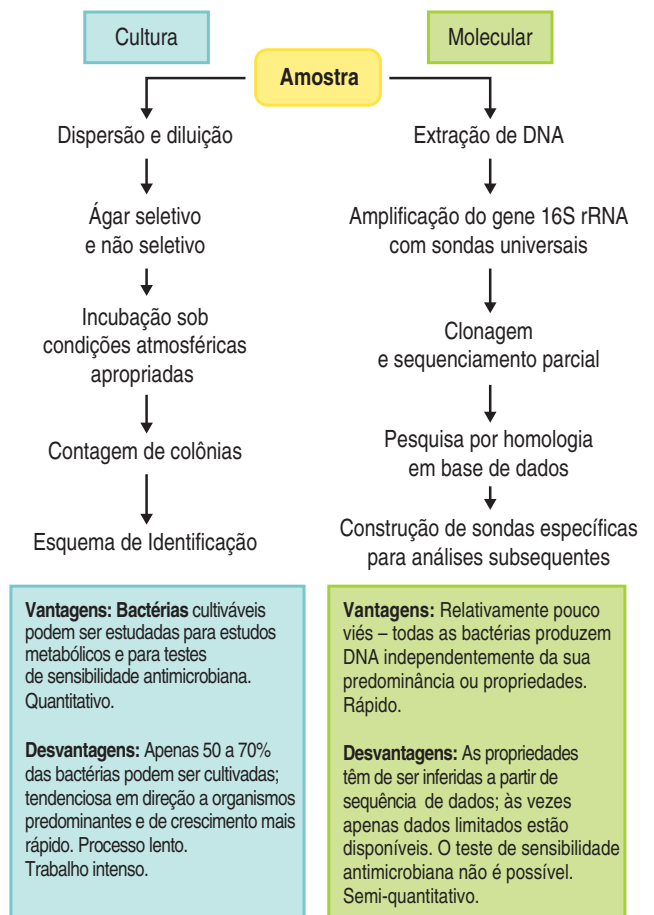


FIGURA 3.2 Os principais estágios na determinação da composição microbiana da microbiota de amostras da cavidade bucal por cultura ou por abordagens moleculares. DNA = ácido desoxirribonucleico; 16S rRNA = ácido ribonucleico ribossômico 16S.

a maioria dos métodos envolve amplificação por PCR e perfis eletroforéticos dos amplicons ou fragmentos digeridos destes. Além disso, o DNA genômico completo pode sofrer digestão por diferentes enzimas de restrição (**endonucleases**), que cortam o ácido nucleico em locais específicos. Estes produtos da digestão são submetidos à eletroforese em um gel de agarose para gerar uma “impressão digital” cromossômica. Diferentes cepas gerarão padrões diferentes (**polimorfismos de comprimento de fragmentos de restrição [RFLP]**), embora cepas que parecem apresentar padrões semelhantes precisem ser comparadas após a digestão com mais de uma enzima. Um *software* está disponível comercialmente para análise dos perfis de eletroforese. Para perfis altamente complexos, os fragmentos de restrição podem ser transferidos para membranas de nitrocelulose ou de náilon e hibridizados com uma sonda adequadamente marcada para fornecer um perfil mais simples.

PRINCÍPIOS DA IDENTIFICAÇÃO MICROBIANA

Uma vez que os organismos tenham sido corretamente classificados por meio de técnicas rigorosas, então esquemas de identificação mais simples podem ser desenvolvidos, nos quais apenas um número limitado de propriedades discriminatórias principais é comparado (Fig. 3.1, Tabela 3.2). A primeira fase na identificação das bactérias pode envolver a reação do microrganismo com um corante, por exemplo, a coloração de Gram, e a determinação da morfologia celular. As bactérias são, então, descritas como sendo, por exemplo, cocos Gram-positivos ou bacilos Gram-negativos e assim por diante. Dependendo do resultado dessa divisão, podem ser realizados testes fisiológicos simples, como a determinação de padrões de fermentação do açúcar, perfis de produtos de fermentação ácida após o metabolismo da glicose ou atividade enzimática. A rápida detecção (cerca de 4 h) de enzimas expressas constitutivamente por suspensões concentradas de bactérias simplificou a identificação de alguns grupos de bactérias. Os substratos ecologicamente relevantes que detectam enzimas, como as glicosidases que clivam resíduos de açúcar das mucinas salivares, atualmente são mais comumente utilizados para diferenciar grupos de bactérias que antes eram difíceis de se separar, por exemplo, estreptococos bucais. Alguns destes testes foram incorporados em *kits* e estão disponíveis comercialmente, juntamente com bases de dados computadorizadas, para facilitar a identificação.

Anticorpos monoclonais e *primers* universais (sondas de oligonucleotídeos) foram desenvolvidos para a identificação rápida de algumas espécies e, principalmente, daquelas associadas a doenças. Esses anticorpos e sondas podem ser marcados com uma molécula de sinalização para ajudar na detecção. Exemplos destas moléculas incluem corantes fluorescentes (Fig. 3.3), radiomarcadores ou enzimas sinalizadoras, como a peroxidase. Estas técnicas apresentam a vantagem de que os microrganismos podem ser detectados diretamente em uma amostra clínica, como o biofilme dental, sem a necessidade de cultura prolongada. No entanto, uma desvantagem potencial é que estas abordagens podem detectar tanto células mortas como viáveis e são apenas aplicáveis a espécies para as quais os reagentes já estão disponíveis.

Os esquemas de identificação microbiana convencionais podem ser utilizados somente quando os microrganismos já foram isolados e cultivados em cultura pura.

Inevitavelmente, o procedimento para a obtenção de cultura pura (dispersão e diluição da amostra, crescimento em placas de ágar seletivas e não seletivas, condições de incubação etc.) leva à introdução de viés, pelo fato de os microrganismos crescerem rápida e facilmente em condições laboratoriais (Fig. 3.2). Técnicas alternativas e independentes de cultura evoluíram a partir de abordagens moleculares modernas, que proporcionam uma imagem mais precisa da diversidade (riqueza) da microbiota em uma vasta gama de *habitats*. Muitas bactérias bucais são difíceis de crescer e atualmente cerca de 30-50% não são cultiváveis em cultura (sendo descritas como espécies **não cultiváveis**). *Kits* moleculares estão comercialmente disponíveis para identificar bactérias selecionadas que estão associadas a doenças, especialmente à doença periodontal. Atualmente, existe um serviço disponível no The Forsyth Institute, Estados Unidos (EUA), denominado *HOMINGS* (do inglês, *The Human Oral Microbe Identification using Next Generation Sequencing*), que oferece identificação em nível de espécie de cerca de 600 táxons, com mais de 100 alvos para gênero, usando DNA isolado a partir de amostras clínicas da cavidade bucal.

IMPACTO DA METAGENÔMICA

Conforme anteriormente mencionado, atualmente a relação genética dos microrganismos é determinada principalmente por meio de comparações de sequências de **16S rRNA** ou por **sequenciamento de genoma completo** (WGS ou NGS). O maior impacto destas abordagens tem sido na análise de diversas comunidades de microrganismos a partir de inúmeros nichos (**ecologia molecular** ou **metagenômica**), incluindo a cavidade bucal. Comparações entre o número de células em amostras que podem ser observadas por microscopia *versus* aquelas que podem ser cultivadas em laboratório, mesmo utilizando as técnicas mais avançadas, demonstraram que somente uma proporção da microbiota de uma área pode ser cultivada. A fração cultivável pode variar de menos de 1% da contagem total de células em alguns *habitats* marinhos até cerca de 50 a 70% da microbiota bucal. Como mencionado anteriormente, essas bactérias são denominadas **não cultiváveis** e as razões para isso podem ser o desconhecimento de um nutriente essencial ou outro fator para o crescimento ou porque as bactérias evoluíram para crescer como parte de uma comunidade de células e não em cultura pura isolada.

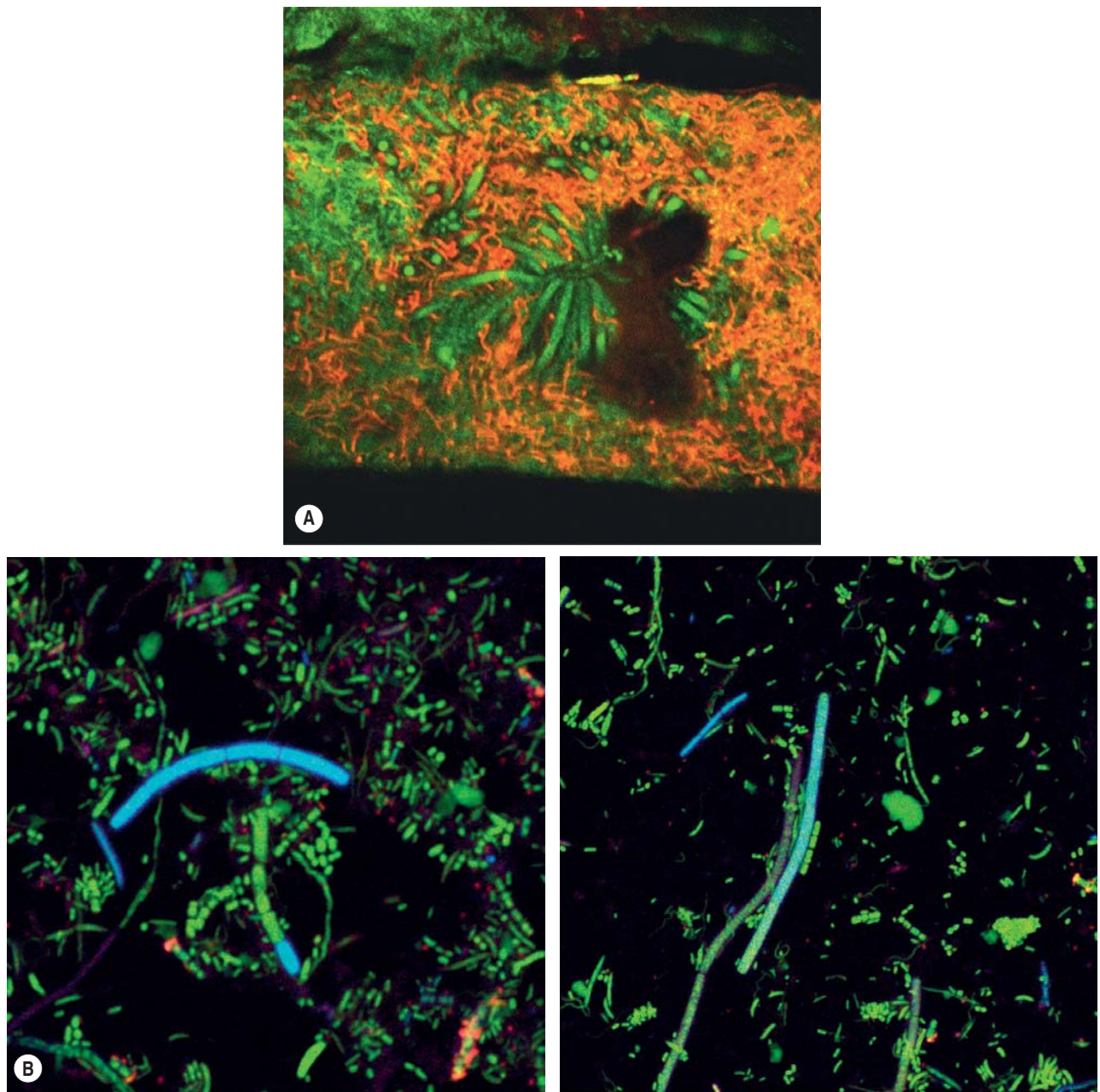


FIGURA 3.3 Exemplos de bactérias atualmente não cultiváveis do biofilme subgengival visualizadas usando técnicas de hibridização *in situ* fluorescente (FISH). (A) Sondas de oligonucleotídeos para 16S rRNA foram usadas para detectar bactérias (verde) e espécies de *Treponema* (vermelho). Cortesia da Dra. Annette Moter e produzido com permissão de Springer-Verlag GmbH & Co. (Norris SJ, Paster BJ, Moter A and Gobel UB, The genus *Treponema*, in The Prokaryotes, Third Edition; Berlin: Springer, 2007). (B) Sondas de oligonucleotídeos para ácido ribonucleico ribossômico 16S (16S rRNA) foram usadas para detectar bactérias (verde) e membros do filo TM7 (azul). Cortesia do Dr. Cleber Ouverney e da American Society for Microbiology (ver Ouverney et al. *Appl Environ Microbiol* 2003 69:6294–6298).

A análise de sequências de 16S rRNA bacteriano tem sido crucial para a melhora da taxonomia bacteriana. Embora tais abordagens moleculares tenham permitido a construção de árvores filogenéticas que incluem microrganismos atualmente não cultiváveis, em muitos casos, o gênero e o nome da espécie ainda não podem ser atribuídos, dada a incapacidade de se caracterizar fenotipicamente o microrganismo. No caso do microbioma bucal uma base de dados baseada em filogenia, a *Human Oral Microbiome Database* (HOMD), foi disponibilizada na internet em 2008 e fornece um esquema taxonômico provisório para bactérias bucais humanas não identificadas. Atualmente, a HOMD indica que existem 707 espécies bacterianas na cavidade bucal humana, sendo 49% delas oficialmente nomeadas, 17% não nomeadas (mas podendo ser cultivadas) e 34% permanecendo como filotipos não cultiváveis. A HOMD agrupa estas espécies (táxons, nível de espécie neste caso) em 16 filós (a principal divisão taxonômica das bactérias). A Figura 3.4 ilustra os gêneros predominantes atualmente aceitos (e os respectivos filós) da microbiota bucal baseados no sequenciamento do gene 16S rRNA. Até 96% dos táxons bucais pertencem a *Firmicutes*, *Bacteroides*, *Proteobacteria*, *Actinobacteria*, *Spirochaetes* e *Fusobacteria*. Os 4% restantes dos táxons são pertencentes aos filós de *Euryarchaeota*, *Chlamydiae*, *Chloroflexi*, SR1, *Synergistetes*, *Tenericutes*, *Chlorobi*, *Gracilibacteria* (GN02), WPS-2 e *Saccharibacteria* (TM7).

Sondas de oligonucleotídeos também podem ser utilizadas para que a presença destes microrganismos possa ser determinada de forma relativamente simples em amostras clínicas utilizando testes rápidos, como PCR ou hibridização *in situ*, normalmente com um marcador fluorescente (FISH) (Fig. 3.3). Um benefício importante destas abordagens moleculares baseadas em PCR é o seu potencial para detectar microrganismos que estão presentes em baixa quantidade. Embora as propriedades destes microrganismos não cultiváveis não possam ser determinadas utilizando testes convencionais (tais como padrões de fermentação do açúcar ou perfil de sensibilidade aos antibióticos), existem bases de dados genéticas que podem ser consultadas para procurar sequências homólogas com funções conhecidas. Isto pode fornecer ideias sobre as propriedades importantes desses microrganismos não cultiváveis, como sua estrutura de parede celular, suas características de virulência, as vias metabólicas que podem empregar e até mesmo sua possível resistência aos agentes antimicrobianos.

Duas grandes famílias de novas bactérias que são não cultiváveis em cultura pura foram identificadas na cavidade bucal (Fig. 3.3) e são comumente detectadas em bolsas periodontais profundas; detalhes serão apresentados mais adiante neste capítulo. Além disso, alguns gêneros contêm exemplos de espécies cultiváveis e não cultiváveis. Existem cerca de 50 espécies de *Treponema* que, embora observadas microscopicamente e detectadas por abordagens moleculares, não podem ser cultivadas (Fig. 3.3, A). De forma semelhante, a análise molecular da microbiota associada a abscessos dentoalveolares e infecções endodônticas tem identificado novos grupos de bactérias que não eram reconhecidas ou eram subestimadas em estudos de cultura (Fig. 3.2). A existência de bactérias não cultiváveis não pode ser ignorada porque essas podem formar uma grande proporção da microbiota e a sua presença em uma área pode ser clinicamente relevante. Vale lembrar que o agente etiológico da sífilis é um espiroqueta, *Treponema pallidum*, que ainda não pode ser cultivado em laboratório.

Abordagens moleculares também foram desenvolvidas para comparar a diversidade de comunidades microbianas bucais de diferentes locais na saúde e na doença. Essas incluíram, inicialmente, a caracterização de comunidades microbianas utilizando a eletroforese em gel de gradiente desnaturante (DGGE). Neste método, o DNA genômico total é extraído de amostras clínicas, amplificado por PCR utilizando *primers* para genes do 16S rRNA bacteriano e os produtos aplicados em géis de poliácridamida em gradiente de desnaturação. Os perfis do DGGE podem ser analisados por meio de um *software* apropriado e bandas novas ou discriminatórias podem ser excisadas do gel, clonadas e sequenciadas, permitindo uma identificação presumtiva. Uma técnica alternativa empregou a hibridização DNA-DNA utilizando sondas genômicas inteiras marcadas e membranas de náilon para simultaneamente examinar múltiplas amostras clínicas para cerca de 40 espécies microbianas diferentes pré-selecionadas. Subsequentemente, a tecnologia de *microarrays*, ou microarranjos, de DNA foi desenvolvida para detectar 300 das bactérias bucais mais prevalentes. Denominado como *Human Oral Microbe Identification Microarray* (HOMIM), foi baseado em hibridizações da sequência do gene 16S rRNA em uma lâmina e permitiu uma triagem muito mais ampla da microbiota em amostras clínicas. Novas ferramentas de sequenciamento baseadas em PCR para a criação de perfis de comunidades substituíram muitas destas

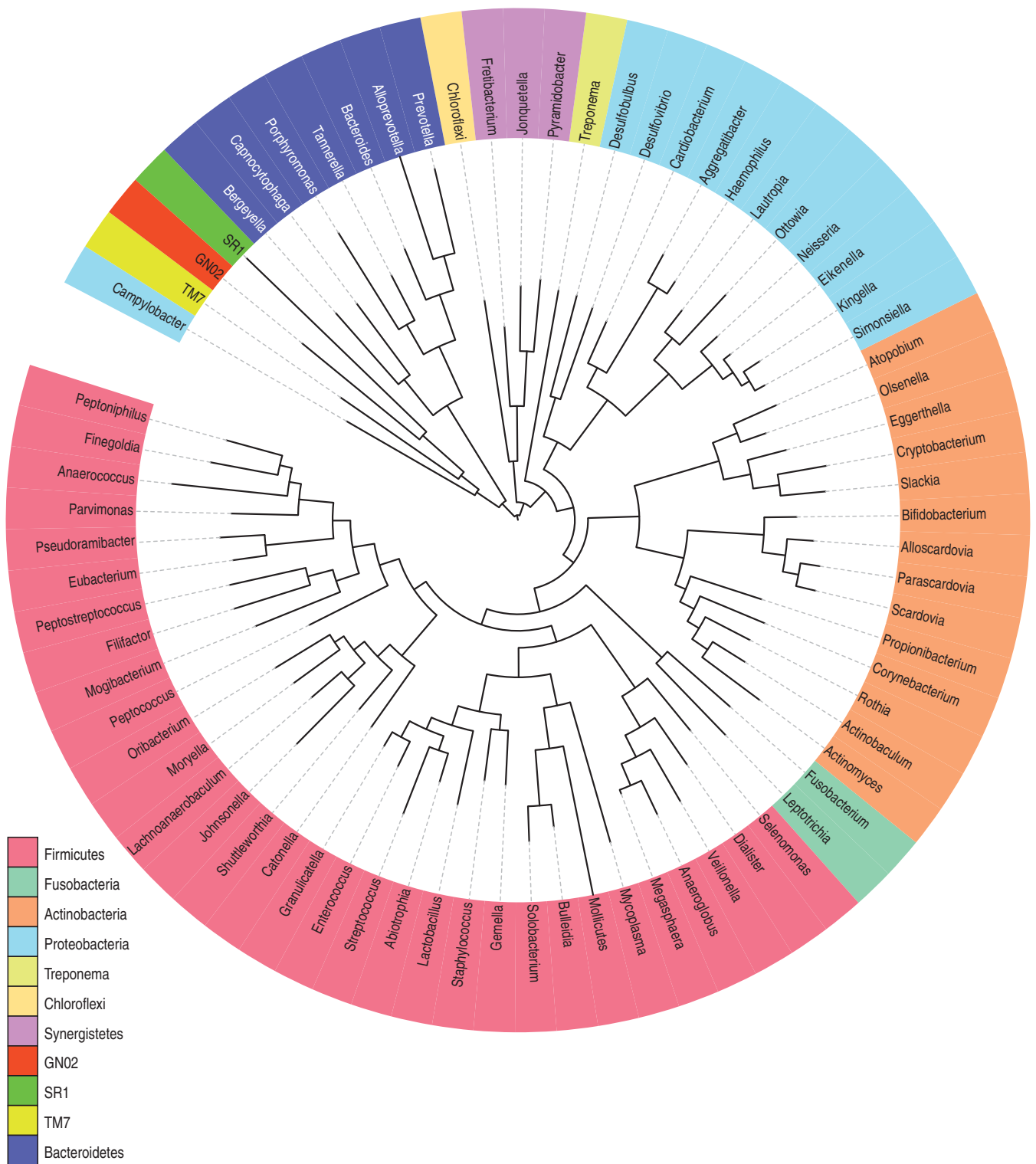


FIGURA 3.4 Árvore filogenética com base na comparação de genes do ácido ribonucleico ribossômico 16S (rRNA) de representantes de gêneros de bactérias bucais predominantes em seres humanos, construídos por estimativa de máxima verossimilhança. Os autores expressam seus agradecimentos ao Professor William Wade (Queen Mary University of London) pela produção desta figura, que foi construída usando a *Interactive Tree of Life* (Letunic and Bork. *Bioinformatics* 2006;23:127-8; Letunic and Bork. *Nucleic Acids Res.* 2011;39:W475-W478).

abordagens, incluindo as de sequenciamento genômico (**metagenômica**). Estão disponíveis várias plataformas para realizar a análise metagenômica e a chave para o sucesso de todas é a capacidade de compartimentar os amplicons de PCR individuais, permitindo, assim, que sejam sequenciados sem a necessidade de etapas de clonagem prévias (Capítulo 4).

Abordagens independentes de cultura estão mudando radicalmente nossa percepção da diversidade da microbiota residente na cavidade bucal na saúde e na doença. Estão em andamento trabalhos para identificar as sequências de DNA de todos os microrganismos da cavidade bucal (cultiváveis e não cultiváveis) e para desenvolver *kits* ou meios que permitam aos profissionais detectar rapidamente a presença ou ausência de centenas de espécies, levando assim à promessa de melhorias no diagnóstico e no tratamento.

PONTOS-CHAVE

O conhecimento da microbiota bucal depende de sistemas de classificação precisos e robustos a partir dos quais se possam desenvolver esquemas de identificação mais simples. O advento das abordagens moleculares, especialmente aquelas com base no gene 16S rRNA e na análise da sequência do genoma completo, revolucionou ambos os processos. Comparações de dados de culturas e abordagens moleculares sugerem que cerca de 30 a 50% da microbiota bucal atualmente é classificada como não cultivável.

DIFICULDADES DECORRENTES DOS RECENTES AVANÇOS NA CLASSIFICAÇÃO MICROBIANA

Apesar de os recentes avanços terem desencadeado melhorias na classificação das bactérias bucais, também criaram uma série de problemas na interpretação ou comparação de dados antigos, quando uma nomenclatura anterior (e, por vezes, falha) estava em uso. A classificação de muitos grupos de bactérias bucais sofreu uma alteração muito grande em um período de tempo relativamente curto, com a descrição de muitos gêneros e espécies novos. Uma espécie destacada em um estudo inicial pode ter sido posteriormente reclassificada e, portanto, renomeada e, assim, novas e antigas terminologias coexistem na literatura científica. Por exemplo, o *Streptococcus sanguis* foi descrito em trabalhos científicos por muitas décadas, mas, desde 1989, a sua descrição tornou-se mais limitada e foi

observado que microrganismos que foram previamente identificados como sendo desta espécie são agora reconhecidos por serem suficientemente diferentes para garantir sua inclusão como espécies distintas, o que levou a receberem novos epítetos (nome de espécie), por exemplo, o *S. gordonii*. Consequentemente, algumas cepas descritas em estudos anteriores, como *S. sanguis*, podem não ter as mesmas propriedades das mais recentemente identificadas, como *S. sanguis sensu stricto*. Além disso, os nomes latinos dados originalmente para alguns dos estreptococos bucais estavam errados e, assim, *S. sanguis* é agora denominado *S. sanguinis*. Por razões semelhantes, *S. parasanguis*, *S. rattus*, *S. cricetus* e *S. crista* foram renomeados como *S. parasanguinis*, *S. rattii*, *S. criceti* e *S. cristatus*, respectivamente. Assim, um grande cuidado deve ser tomado ao se interpretar a literatura científica mais antiga (e até a não tão antiga).

A taxonomia microbiana é uma área dinâmica com espécies existentes que estão sendo reclassificadas em virtude da aplicação de testes mais rigorosos e com o reconhecimento de espécies genuinamente recém-descobertas a partir de áreas como as bolsas periodontais e os canais radiculares infectados. A ênfase dada à classificação e à identificação da microbiota bucal é necessária porque sem uma subdivisão válida e uma identificação precisa dos isolados, a associação específica de espécies a doenças específicas (**etiologia microbiana**) não pode ser estabelecida. Do mesmo modo, deve-se admitir que novas alterações nos esquemas de classificação microbiana ocorrerão no futuro, com a identificação de novos gêneros e espécies.

As propriedades dos principais grupos de microrganismos encontrados na boca (a microbiota bucal) serão descritas a seguir.

COCOS GRAM-POSITIVOS

STREPTOCOCCUS

Os estreptococos foram isolados de todas as áreas da cavidade bucal e compreendem uma grande proporção da microbiota residente nessa cavidade que é cultivável. Os estreptococos bucais geralmente são alfa-hemolíticos (hemólise parcial) em ágar sangue e os primeiros profissionais os chamaram de *Streptococcus viridans*. No entanto, a hemólise não é uma propriedade diferencial confiável destes estreptococos e muitas espécies bucais contêm cepas que mostram todos os três tipos de hemólise (alfa, beta e gama). Os estreptococos podem ser distinguidos dos estafilococos e micrococcos pela falta da

enzima catalase. Os estreptococos bucais são agrupados em quatro grupos (Tabela 3.3) e serão descritos a seguir.

Grupo *mutans* (estreptococos do grupo *mutans*)

Existe um grande interesse por este grupo devido ao seu papel na etiologia da cárie dentária. *Streptococcus mutans* foi originalmente isolado a partir de dentes humanos cariados por Clarke (1924) e, pouco tempo depois, foi recuperado de um caso de endocardite infecciosa (crescimento de bactérias em valvas cardíacas danificadas, Capítulo 11). Pouca atenção foi dada a esta espécie até 1960, quando foi demonstrado que a cárie poderia ser induzida experimentalmente e transmitida artificialmente em animais infectados com cepas semelhantes a *S. mutans*. O nome desta espécie deriva do fato de que as células podem perder sua morfologia em forma de cocos e, muitas vezes, aparecem como bacilos curtos ou como cocobacilos. Nove sorotipos foram reconhecidos (*a-h* e *k*) com base na especificidade sorológica de antígenos de carboidratos localizados na parede celular, embora alguns sejam encontrados apenas em animais. Trabalhos subsequentes mostraram que existiam diferenças suficientes entre grupamentos desses sorotipos para justificar a subdivisão em sete espécies distintas (Tabela 3.3); estas são descritas coletivamente como **estreptococos do grupo *mutans***. Estes são recuperados quase que exclusivamente a partir de superfícies duras e não descamativas na cavidade bucal, como dentes ou próteses, podendo atuar como patógenos oportunistas, sendo isolados a partir de casos de endocardite infecciosa (Capítulo 11). Os estreptococos do grupo *mutans* são regularmente isolados do biofilme dental em áreas de cárie, mas sua prevalência é baixa no esmalte saudável.

O epíteto (nome) específico, *S. mutans*, atualmente está limitado a isolados humanos pertencentes originalmente aos sorotipos *c*, *e*, *f* e *k*. Esta é a espécie mais comumente isolada do grupo *mutans* e estudos epidemiológicos descreveram *S. mutans* como um dos principais agentes etiológicos da cárie de superfície radicular e esmalte (Capítulo 6). Outra espécie comumente isolada do grupo de estreptococos *mutans* é *S. sobrinus* (anteriormente, *S. mutans* sorotipos *d* e *g*), que também está associada à cárie dentária em humanos. Sabe-se menos sobre o papel de *S. sobrinus* na doença porque alguns estudos não tentaram distinguir entre essas espécies e alguns meios seletivos comumente utilizados para o isolamento de estreptococos do gru-

po *mutans* contêm bacitracina, que pode inibir o crescimento tanto de *S. Sobrinus* como de *S. criceti* (antes *S. cricetus* e, previamente, denominado *S. mutans* sorotipo *a*). Alguns indivíduos abrigam mais de uma espécie de estreptococos do grupo *mutans* em sua cavidade bucal.

A estrutura antigênica dos estreptococos do grupo *mutans* foi estudada em detalhes para estabelecer esquemas de tipagem sorológica e para o desenvolvimento de uma vacina para a cárie (Capítulo 6). Os estreptococos do grupo *mutans* possuem antígenos de carboidratos, ácido lipoteicoico, lipoproteínas e proteínas na parede celular ou associadas à esta. Antígeno I/II (também denominado antígeno B, SpaP ou Pac) tem gerado um interesse considerável porque é (a) a principal adesina envolvida na aderência inicial de *S. mutans* à superfície do dente (Capítulo 5) e (b) um possível componente de uma vacina de cárie (Capítulo 6). Algumas cepas de *S. mutans* expressam um gene (*cnm*) que é codificador de uma proteína de ligação ao colágeno; estas cepas foram isoladas de pacientes com microsangramento cerebral.

Os estreptococos do grupo *mutans* produzem polissacarídeos extracelulares solúveis e insolúveis (glucano, mutano e frutano), a partir da sacarose, que estão associados à formação do biofilme dental (Capítulos 4 e 5) e à cariogenicidade (Capítulo 6). Os glucanos e frutanos são produzidos por glicosiltransferases e frutossiltransferases, respectivamente. Mutano é um glucano altamente insolúvel que só é produzido por estreptococos do grupo *mutans*, enquanto o frutano apresenta uma estrutura incomum semelhante à inulina. Estes polímeros contribuem para a morfologia característica da colônia dos estreptococos do grupo *mutans* quando cultivados em placas de ágar contendo sacarose (Fig. 3.5, B). Os estreptococos do grupo *mutans* também podem sintetizar polissacarídeos intracelulares, quando há excesso de açúcar, que atuam como reservas de carboidratos e podem ser convertidos a ácidos durante os períodos em que a dieta de carboidratos não é disponível. Os estreptococos do grupo *mutans* podem utilizar açúcares da dieta de forma muito eficiente e rapidamente convertê-los em produtos de fermentação ácida (principalmente lactato). Significativamente, estreptococos do grupo *mutans* são capazes de crescer e sobreviver sob condições ácidas que geram pela indução de respostas de estresse molecular específicas (Capítulo 4 e Fig. 2.4). Os estreptococos do grupo *mutans* podem se comunicar com outros estreptococos do grupo pela liberação de moléculas sinalizadoras que podem induzir

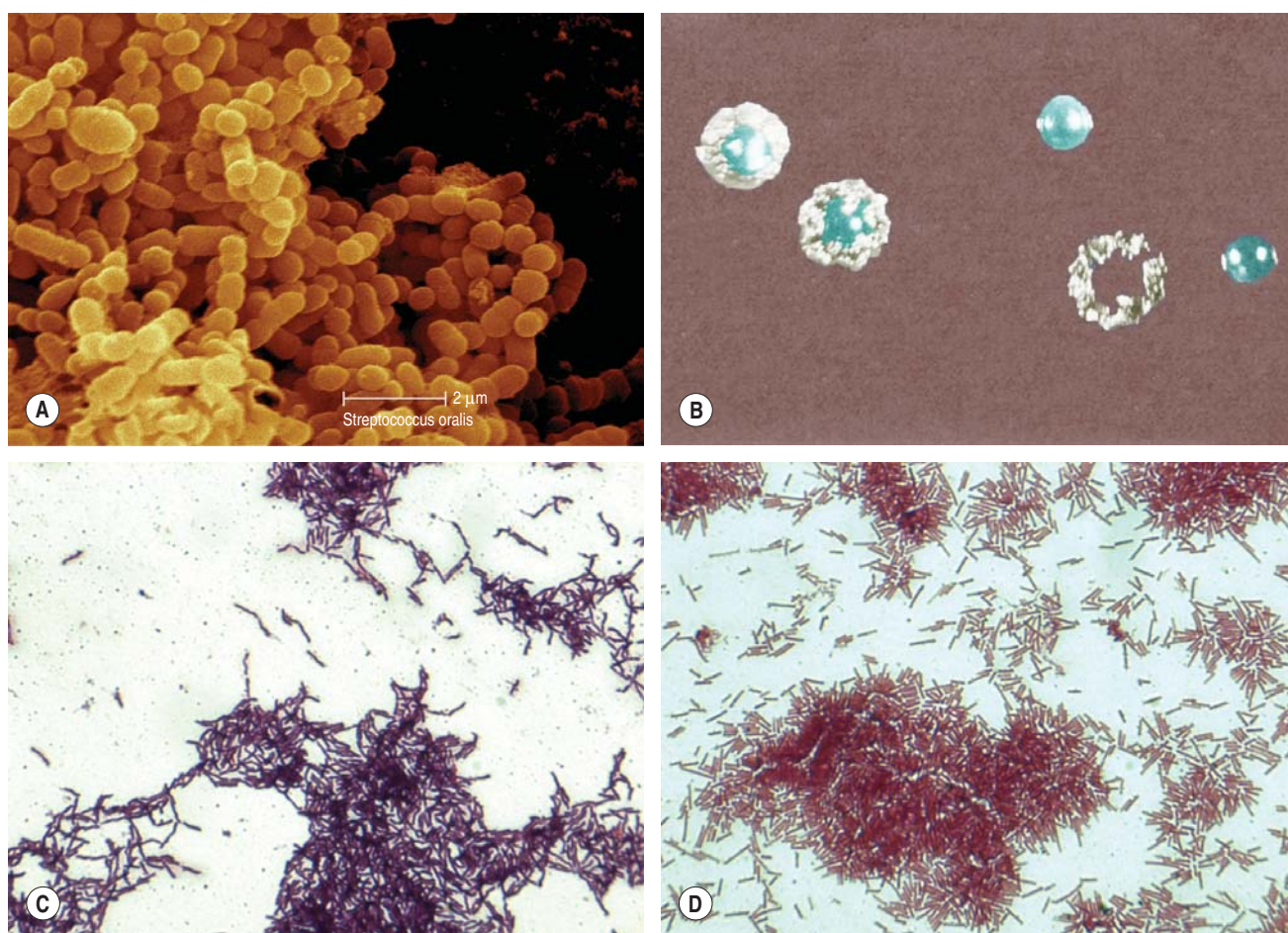


FIGURA 3.5 Exemplos de bactérias Gram-positivas encontradas na cavidade bucal. (A) A morfologia celular de *Streptococcus oralis* quando visualizada por microscopia eletrônica de varredura (SEM). (B) A morfologia da colônia de *Streptococcus mutans* em crescimento em ágar contendo sacarose. (C) Coloração de Gram de *Actinomyces israelii*. (D) Coloração de Gram de *Eubacterium yurii*. Imagens coradas por Gram foram gentilmente fornecidas por Owain Dafydd Thomas, Cardiff e Vale UHB. SEM foi gentilmente fornecida por Wendy Rowe, Cardiff University.

competência genética (capacidade de absorver DNA extracelular) e tolerância ácida nas células vizinhas.

Grupo salivarius

Este grupo compreende *S. salivarius* e *S. vestibularis*. Cepas de *S. salivarius* são comumente isoladas da maioria das áreas da cavidade bucal, embora preferencialmente colonizem superfícies mucosas, especialmente a língua. *Streptococcus salivarius* produz grandes quantidades de um frutano extracelular (polímero de frutose com uma estrutura de levano) a partir da sacarose (Capítulo 4), bem como uma levanase que pode degradar este tipo de frutano. Isto origina colônias mucoides caracteristicamente grandes quando *S. salivarius* é cultivado em ágar contendo sacarose. *S. salivarius* também produz glucanos extracelulares solúveis e insolúveis a partir da sacarose; algumas cepas

apresentam atividade da urease. *Streptococcus salivarius* raramente é isolado de áreas doentes e não é considerado um patógeno oportunista significativo.

Streptococcus vestibularis é isolado principalmente da mucosa vestibular da cavidade bucal humana. Essas bactérias não sintetizam polissacarídeos extracelulares a partir da sacarose, mas produzem a urease (que pode gerar amônia e, portanto, elevar o pH local) e o peróxido de hidrogênio (que pode contribuir para o sistema peroxidase salivar [Capítulo 2] e inibe o crescimento de bactérias competidoras).

Grupo anginosus

As espécies representativas deste grupo, *Streptococcus constellatus* (subespécies *constellatus*, *viborgensis* e *pharyngis*), *S. intermedius* e *S. anginosus* (subespécies *anginosus* e *whileyi*), são facilmente isoladas do biofilme

dental e das superfícies mucosas e são importantes causas de doenças purulentas em seres humanos, incluindo infecções maxilofaciais. Os membros deste grupo são comumente encontrados em abscessos de órgãos internos, especialmente do cérebro e fígado, e também foram recuperados de casos de apendicite, peritonite, meningite e endocardite. *Streptococcus intermedius* é isolado principalmente de abscessos hepáticos e cerebrais, enquanto *S. anginosus* e *S. constellatus* são recuperados de infecções purulentas de uma variedade de locais. *Streptococcus intermedius* produz uma toxina, a intermedilisina, que também pode interferir com a função dos neutrófilos e permitir que a bactéria evadam as defesas do hospedeiro durante a formação do abscesso. Este grupo não produz polissacarídeos extracelulares a partir de sacarose.

Grupo mitis

A aplicação de técnicas moleculares filogenéticas (envolvendo a determinação das sequências de 16S rRNA) resolveu muitas das anomalias anteriores na classificação deste grupo, resultando na identificação de novas espécies.

Streptococcus sanguinis e *S. gordonii* são colonizadores iniciais da superfície do dente e ambos produzem glucanos extracelulares solúveis e insolúveis (Capítulo 4) a partir de sacarose, que contribuem para a formação de biofilmes. Ambas as espécies podem gerar amônia a partir de arginina. *S. sanguinis* produz uma protease que pode clivar a IgA secretada (IgAs) (denominada IgA protease), enquanto *S. gordonii* pode se ligar à α -amilase salivar, capacitando esses microrganismos a degradarem o amido. A ligação à amilase também pode mascarar antígenos bacterianos e permitir que estas bactérias evitem o reconhecimento pelas defesas do hospedeiro (mimetismo molecular). Ambas as espécies são compostas por vários biotipos.

Duas das espécies de estreptococos mais comuns na cavidade bucal são *S. mitis* e *S. oralis*. As cepas de *S. oralis* produzem neuraminidase (uma enzima que remove o ácido siálico das cadeias laterais de oligossacarídeos das mucinas salivares) e uma protease de IgA, mas não podem ligar à α -amilase (Fig. 3.5, A). *Streptococcus mitis* é subdividido em dois biotipos e estes mostram diferentes padrões de distribuição na cavidade bucal. As cepas destas duas espécies são capazes de captar DNA extracelular e este processo é facilitado em biofilmes, como a placa dental, onde as bactérias estão muito próximas umas das outras. Consequentemente,

não é de se surpreender que haja considerável heterogeneidade genética e fenotípica quando se comparam as propriedades de um grande número de cepas de *S. mitis* e *S. oralis*. Algumas, mas não todas, cepas destas duas espécies são capazes de produzir glucano extracelular a partir da sacarose.

Outros membros deste grupo incluem *S. parasanguinis* (anteriormente *S. parasanguis*), que foi isolado a partir de amostras clínicas (garganta, sangue, urina). As cepas podem hidrolisar arginina, mas não ureia, e podem se ligar à α -amilase salivar, mas não podem produzir polissacarídeos extracelulares a partir de sacarose. *Streptococcus cristatus* é caracterizado pela presença de tufo de fibrilas na superfície celular. Novas espécies foram descritas, incluindo *S. oligofermentans*, *S. sinensis*, *S. australis*, *S. infantis*, *S. peroris*, *S. tigurinus* e *S. dentisani*. A importância de algumas destas espécies para a ecologia da cavidade bucal ainda não foi determinada, mas espécies como *S. tigurinus* e *S. sinensis* podem atuar como patógenos oportunistas, tendo sido isolados de casos de endocardite infecciosa.

Os membros do grupo *mitis* são patógenos oportunistas, particularmente associados à endocardite infecciosa (Capítulo 11). *Streptococcus pneumoniae* pode ser isolado a partir da nasofaringe e é um agente patogênico oportunista significativo, que pode adquirir e transferir genes de resistência a antibióticos para outros membros do grupo *mitis*.

OUTROS COCOS GRAM-POSITIVOS

As cepas que foram originalmente descritas como sendo estreptococos nutricionalmente variantes (NVS) foram isoladas da cavidade bucal quando meios de isolamento adequados foram utilizados. Essas foram reclassificadas como *Granulicatella adiacens* (anteriormente *S. adiacens* e *Abiotrophia adiacens*) e *Abiotrophia defectiva* (anteriormente *S. defectivus*). *Granulicatella adiacens* é comum na cavidade bucal e é um colonizador inicial da superfície do dente, embora seja negligenciado na maioria dos estudos devido à necessidade de meios de isolamento suplementados com fatores de crescimento, tais como cisteína ou piridoxal. Estas bactérias exibem frequentemente o satelitismo, observado como um padrão de crescimento aumentado em torno das colônias de algumas outras bactérias que produzem estes cofatores. Outros cocos Gram-positivos incluem espécies de *Gemella* (*G. haemolysans* e *G. morbillorum*), embora as células às vezes apareçam Gram-negativas na coloração.

Os cocos anaeróbios Gram-positivos são comumente recuperados a partir de biofilmes dentários, especialmente de dentina cariada, câmaras pulpares e canais radiculares infectados (Capítulo 6), formas avançadas de doença periodontal (Capítulo 6) e abscessos dentários (Capítulo 7). Estas bactérias também são recuperadas a partir de abscessos profundos de outras partes do corpo e geralmente são isoladas em cultura mista (infecções polimicrobianas). A taxonomia deste grupo de microrganismos foi esclarecida. Originalmente, as cepas foram incluídas no gênero, o *Peptostreptococcus*, e as espécies representativas abrangiam *P. micros*, *P. magnus* e *P. anaerobius*. No entanto, *P. micros* e *P. magnus* foram transferidos para novos gêneros e atualmente são denominados *Parvimonas micra* e *Finegoldia magna*, respectivamente, enquanto as cepas bucais de *P. anaerobius* são agora designadas *Peptostreptococcus stomatis*.

Enterococos foram recuperados em baixa quantidade a partir de várias áreas da cavidade bucal quando foram utilizados meios seletivos adequados; a espécie mais frequentemente isolada é *Enterococcus faecalis*. Os enterococos podem ser isolados da cavidade bucal de pacientes imunocomprometidos e medicamente comprometidos; também foram isolados a partir de bolsas periodontais que não respondiam à terapia e de canais radiculares infectados. Estreptococos do grupo A de Lancefield (*S. pyogenes*) normalmente não são isolados a partir da cavidade bucal de indivíduos saudáveis, ainda que muitas vezes possam ser cultivados a partir da saliva de pessoas que sofrem de dores de garganta por causa de estreptococos e possam estar associados a uma forma particular de gengivite aguda (Capítulo 6).

Os estafilococos e os micrococos não são comumente isolados em grande número a partir da cavidade bucal, embora os primeiros sejam encontrados no biofilme da prótese, bem como em pacientes imunocomprometidos e indivíduos que sofrem de uma variedade de infecções bucais (Capítulos 7 e 11). Estas bactérias normalmente não são consideradas membros da microbiota residente da cavidade bucal, mas podem estar presentes de modo transitório e têm sido isoladas a partir de algumas áreas com cáries de superfície radicular e algumas bolsas periodontais que não respondem à terapia convencional. Isto está em nítido contraste com outras superfícies do corpo humano em contato íntimo com a cavidade bucal, tais como a superfície da pele e as membranas mucosas do nariz, onde estas bactérias estão entre os componentes predominantes da microbiota. Esta

constatação enfatiza as principais diferenças que devem existir na ecologia destes *habitats*. Os microrganismos das superfícies mucosas do nariz e da pele devem passar de forma consistente para dentro da cavidade bucal, embora normalmente sejam incapazes de colonizar ou competir com a microbiota residente.

BACILOS E FILAMENTOSOS GRAM-POSITIVOS

ACTINOMYCES

Espécies de *Actinomyces* são a maior porção da microbiota do biofilme dental, particularmente em área proximal e no sulco gengival. Essas bactérias têm sido associadas a cáries de superfície radicular e aumentam numericamente durante a gengivite (Capítulo 6). As células de espécies de *Actinomyces* aparecem como bacilos curtos, mas frequentemente são pleomórficas; algumas células apresentam uma morfologia verdadeiramente em ramos (ramificada), enquanto as de *A. israelii* podem parecer filamentosas (Fig. 3.5, C). Algumas espécies (particularmente *A. naeslundii*) possuem fimbrias (estruturas de superfície celular envolvidas na adesão) e outras apresentam superfícies relativamente lisas. Algumas espécies recentemente descritas foram identificadas a partir de espécimes clínicos (*A. radingae*, *A. neuii*, *A. johnsonii*, *A. europaeus*, *A. graevenitzii*, *A. funkei*, *A. dentalis* e *A. turicensis*), incluindo endocardite infecciosa e abscessos, mas a fonte e o *habitat* dessas espécies ainda não foram totalmente esclarecidos. *Actinomyces radidentis* foi isolado a partir de infecções endodônticas.

O bacilo Gram-positivo mais comum no biofilme é *Actinomyces naeslundii*, que originalmente foi classificado em duas genospecies (*A. naeslundii* genospecies 1 e 2). Atualmente, *Actinomyces naeslundii* genospecies 2 é classificado como *A. oris*. Algumas cepas de *A. naeslundii* produzem um polissacarídeo extracelular (limo) e um frutano a partir da sacarose com uma estrutura semelhante ao levano, bem como enzimas que podem hidrolisar frutanos. Algumas cepas também produzem urease (esta enzima pode modular o pH do biofilme) e neuraminidase (pode modificar receptores na película adquirida do esmalte). Dois tipos de fimbrias podem ser encontrados na superfície de células de *A. naeslundii*. Cada tipo serve para uma função específica e está implicado no contato célula a célula (coagregação) ou na interação célula-superfície (Capítulo 5). *Actinomyces viscosus* é uma espécie estreitamente relacionada e encontrada em animais.

Actinomyces israelii pode atuar como um patógeno oportunista causando uma condição inflamatória crônica chamada actinomicose (Fig. 3.5, C e Capítulo 7). A doença costuma estar associada à região orofacial, mas pode se disseminar e causar infecções profundas em outras áreas do corpo, como o abdome. As cepas de *A. israelii* caracteristicamente formam “grânulos”, que podem contribuir para a sua capacidade de se disseminarem no corpo, proporcionando proteção física do ambiente, das células de defesas do hospedeiro e do tratamento antibiótico. *Actinomyces israelii* também foi encontrado em esfregaços cervicais de mulheres que faziam uso de dispositivos intrauterinos.

As cepas originalmente classificadas como *A. israelii* sorotipo II atualmente estão designadas como uma espécie separada, *A. gerencseriae*, que é um componente comum, mas menor, da microbiota do sulco gengival saudável, apesar de também ter sido isolada de abscessos. As cepas de *A. gerencseriae* também podem formar “grânulos” de proteção (ver comentários anteriores sobre *A. israelii*). *Actinomyces georgiae* é uma bactéria anaeróbia facultativa e também é encontrada ocasionalmente no sulco gengival saudável. Outras espécies incluem *A. odontolyticus* e *A. meyeri*; o primeiro tem sido associado a lesões de cárie iniciais, enquanto o último tem sido encontrado em baixa quantidade no sulco gengival na saúde e na doença e em abscessos cerebrais.

EUBACTERIUM E GÊNEROS RELACIONADOS

Até recentemente, *Eubacterium* era um gênero mal definido que continha uma variedade de bactérias anaeróbias estritas e filamentosas que frequentemente se apresentam variáveis quanto à coloração pelo método de Gram (Fig. 3.5, D). Muitas cepas são assacarolíticas e, portanto, podem aparecer não reativas em esquemas de classificação e também podem ser difíceis de se cultivar. Quando recuperadas e identificadas, estas espécies *Eubacterium* assacarolíticas podem compreender mais de 50% da microbiota anaeróbia das bolsas periodontais e são comuns nos abscessos dentoalveolares. As abordagens de sistemática molecular identificaram muitos novos gêneros bacterianos (Fig. 3.6) e entre as eubactérias bucais estão *Eubacterium saburreum*, *E. yurii*, *E. infirmum*, *E. sulci*, *E. saphenum*, *E. minutum*, *E. nodatum* e *E. brachy*. Novos gêneros incluem *Mogibacterium* (p. ex., *M. timidum*, *M. vescum* e *M. pumilum*), *Pseudoramibacter* (p. ex., *P. alactolyticus*) e *Slackia* (p. ex., *S. exigua*), todos recuperados de canais radiculares infectados. Outros

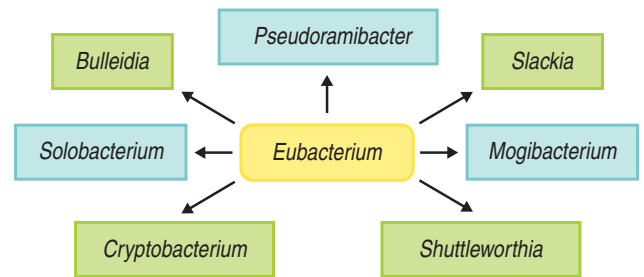


FIGURA 3.6 Alterações recentes na nomenclatura das bactérias originalmente agrupadas junto com espécies de *Eubacterium*.

novos gêneros incluem *Cryptobacterium* (p. ex., *C. curtum*), *Shuttleworthia* (p. ex., *S. satelles*), *Solobacterium* (p. ex., *S. moorei*) e *Bulleidia* (p. ex., *B. extructa*). Muitas destas bactérias também foram encontradas em bolsas periodontais e/ou abscessos, mas a importância clínica destes microrganismos ainda não foi determinada.

LACTOBACILLUS

Os lactobacilos são comumente isolados da cavidade bucal, especialmente a partir do biofilme dental e da língua, embora normalmente compreendam menos de 1% da microbiota cultivável total da cavidade bucal saudável. Estas bactérias são altamente acidogênicas e tolerantes a ácidos e suas proporções e prevalência aumentam com o avanço das lesões de cárie no esmalte e na superfície radicular. Várias espécies homo e heterofermentativas foram identificadas, produzindo lactato ou lactato e acetato, respectivamente, a partir da glicose. As mais comuns são *L. casei*, *L. rhamnosus*, *L. fermentum*, *L. acidophilus*, *L. salivarius*, *L. plantarum*, *L. paracasei*, *L. gasseri* e *L. oris*, mas a maioria dos estudos ainda os agrupa simplesmente como “lactobacilos” ou *Lactobacillus* spp. Testes simples com meio seletivo foram projetados para estimar o número de lactobacilos na saliva de pacientes para fornecer uma indicação do potencial cariogênico da cavidade bucal. Alguns lactobacilos estão sendo considerados como possíveis cepas probióticas bucais (Capítulo 6).

OUTROS GÊNEROS

Espécies de *Propionibacterium* (p. ex., *P. acnes*, *P. propionicus*) são bactérias anaeróbias estritas encontradas no biofilme dental. *Propionibacterium propionicus* foi isolado de casos de actinomicose e canaliculite lacrimal (infecção do ducto lacrimal). *Corynebacterium matruchotii* e *Rothia dentocariosa* também são frequentemente isolados a partir do biofilme dental. *Corynebacterium matruchotii* apresenta uma morfologia celular incomum com um

longo filamento que cresce para fora de uma célula curta, com formato semelhante a uma clava, ganhando assim a sua descrição de célula “cabo em chave”. *Rothia mucilaginosa* produz um polissacarídeo extracelular e é isolado quase exclusivamente da língua. As espécies de *Rothia* podem ser isoladas em casos muito raros de endocardite infecciosa.

As bifidobactérias sofreram várias alterações na nomenclatura; as bucais incluem *Bifidobacterium dentium* e *B. longum*. Duas espécies de bifidobactérias foram reclassificadas como *Scardovia inopinata* e *Parascardovia denticolens*, mas seu papel na cavidade bucal ainda não foi determinado. Outros táxons relacionados incluem *Alloscardovia omnicoles* e *Parascardovia denticolens* (que foi detectado na cárie oclusal). Muitas bifidobactérias são acidogênicas e tolerantes aos ácidos, o que dá suporte às propostas de que talvez desempenhem um papel na cárie dentária. Espécies não orais de bifidobactérias podem ser encontradas no biofilme da prótese de pacientes com estomatite por prótese, incluindo *B. breve*, mas *B. dentium* (embora presente no biofilme dental) não pôde ser isolada a partir do palato em uma boca edêntula saudável.

Algumas bactérias previamente classificadas como *Actinomyces* foram transferidas para novos gêneros, *Arcanobacterium* (p. ex., *A. bernardiae*) e *Actinobaculum*. As bactérias originalmente descritas como “lactobacilos anaeróbios” foram colocadas em novos gêneros, como *Olsenella* (p. ex., *Olsenella uli*, que foi isolada a partir de bolsas periodontais) e espécies de *Atopobium* (p. ex., *Atopobium rimae* e *A. parvulum*).

Filifactor alocis é uma bactéria Gram-positiva em forma de bastonete, assacarolítica e anaeróbia estrita, que é considerada um patógeno periodontal potencialmente importante. Também foi encontrada em infecções endodônticas, peri-implantite e formas agressivas de doença periodontal. Como outros patógenos periodontais, *F. alocis* é proteolítico e também pode utilizar arginina, gerando ornitina e amônia (contribuindo assim para o aumento do pH observado na bolsa periodontal inflamada); outros aminoácidos utilizados incluem a lisina e a cisteína. *Filifactor alocis* também é mais tolerante ao estresse oxidativo do que os patógenos periodontais Gram-negativos, podendo modular a função neutrofílica; ambas as propriedades contribuem para a sua sobrevivência no ambiente periodontal.

PONTOS-CHAVE

Bactérias Gram-positivas são comumente distribuídas na maioria das superfícies da cavidade bucal. Os gêneros predominantes são *Streptococcus* e *Actinomyces*; espécies representativas são encontradas em locais saudáveis, embora muitas também possam agir como patógenos oportunistas. Por exemplo, estreptococos do grupo *mutans* estão envolvidos na etiologia da cárie dentária, enquanto estreptococos dos grupos *anginosus* e *mitis* normalmente são recuperados a partir de abscessos e na endocardite infecciosa, respectivamente; *Actinomyces israelii* está envolvido na actinomicose.

COCOS GRAM-NEGATIVOS

Neisseria são cocos Gram-negativos aeróbios ou anaeróbios facultativos que são isolados em baixa quantidade da maioria das áreas da cavidade bucal. Estas bactérias estão entre os primeiros colonizadores dos dentes e contribuem de forma importante para a formação do biofilme, consumindo oxigênio e criando condições que permitam que anaeróbios estritos cresçam. Algumas espécies de *Neisseria* podem produzir polissacarídeos extracelulares e algumas cepas de estreptococos podem metabolizar esses polímeros, usando-os efetivamente como reservas de carboidratos externos. A taxonomia desse grupo permanece confusa, mas as espécies mais comuns incluem *N. subflava*, *N. mucosa*, *N. flavescens* e *N. pharyngis*. *Moraxella catarrhalis* é um comensal do trato respiratório superior, mas também é um patógeno oportunista bem estabelecido; muitas cepas produzem uma β -lactamase que pode complicar o tratamento com antibióticos.

Veillonella são pequenos cocos Gram-negativos anaeróbios estritos (Fig. 3.7, A); várias espécies são reconhecidas: *Veillonella parvula*, *V. dispar*, *V. atypica*, *V. denticariosi* (mais comum na dentina cariada), *V. tobet-suensis* (isolada da língua) e *V. rogosae* (mais comum em indivíduos sem cárie). Espécies de *Veillonella* foram isoladas na maioria das superfícies da cavidade bucal, embora ocorram em maior número no biofilme dental. As espécies *Veillonella* não produzem glucocinase e frutoquinase e são, portanto, incapazes de metabolizar carboidratos. Em vez disso, utilizam vários metabólitos intermediários, em particular o lactato, como fontes de energia e, conseqüentemente, desempenham um

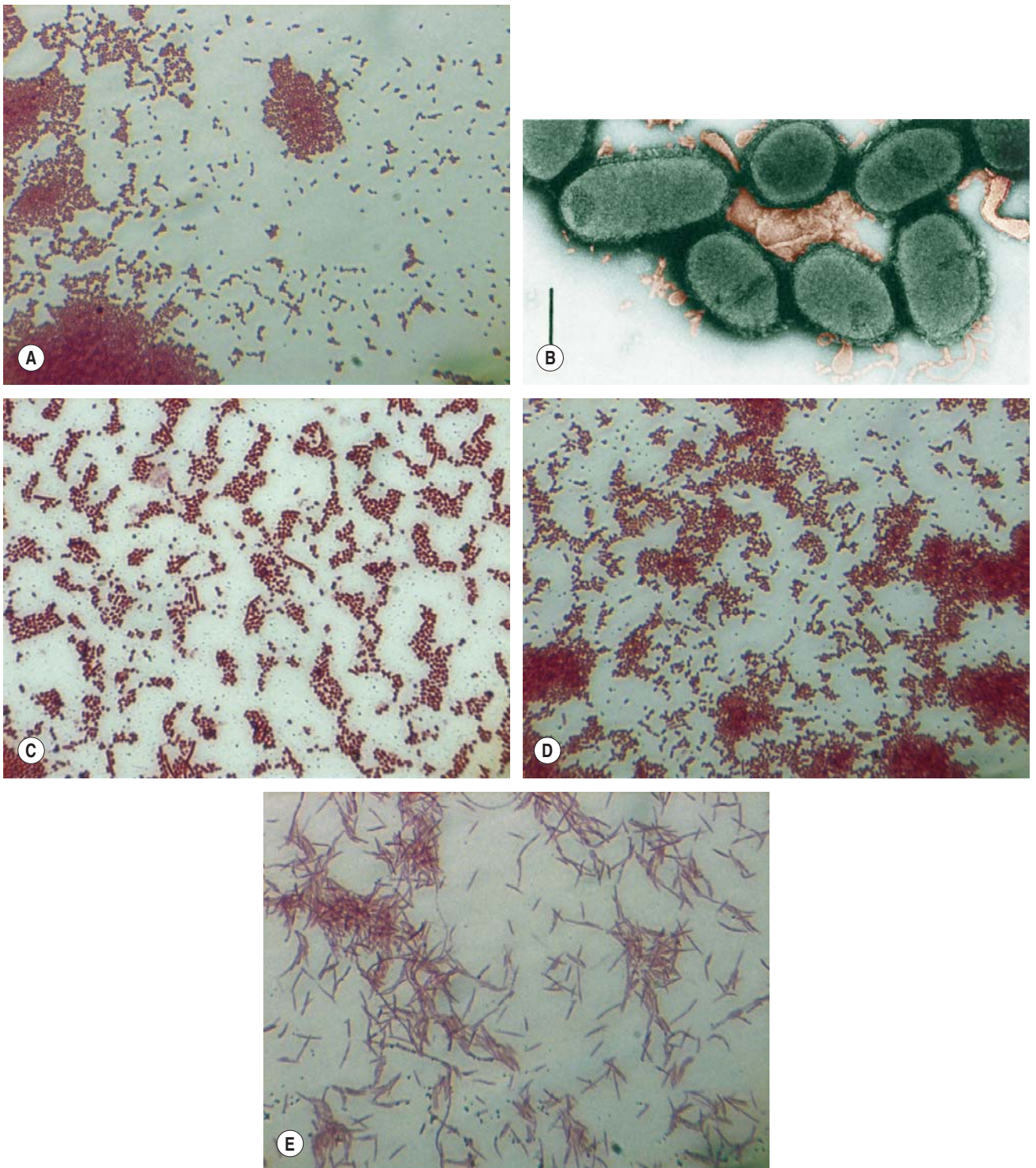


FIGURA 3.7 Exemplos de bactérias Gram-negativas encontradas na cavidade bucal. (A) Coloração de Gram de *Veillonella parvula*. (B) *Porphyromonas gingivalis* quando observada por microscopia eletrônica de varredura (SEM). (C) Coloração de Gram de *Porphyromonas gingivalis*. (D) Coloração de Gram de *Prevotella nigrescens*. (E) Coloração de Gram de *Fusobacterium nucleatum*. Imagens coradas por Gram gentilmente fornecidas por Owain Dafydd Thomas, Cardiff e Vale UHB. SEM foi gentilmente fornecida por Barry Dowsett, Porton e falsa cor aplicada por Wendy Rowe, Cardiff University.

papel importante na ecologia do biofilme dental e na etiologia da cárie dentária. O ácido láctico é o ácido mais forte produzido em quantidade pelas bactérias bucais e está implicado na dissolução do esmalte (cárie dentária, Capítulo 6). *Veillonella* pode metabolizar o ácido láctico e convertê-lo em ácidos mais fracos (predominantemente ácido propiônico) e, assim, melhorar o dano potencial das bactérias sacarolíticas, como os estreptococos. Outros cocos Gram-negativos incluem as espécies de *Anaeroglobus geminatus* e *Megasphaera* (p. ex., *M. micronuciformis*).

BACILOS GRAM-NEGATIVOS

ANAERÓBIOS FACULTATIVOS E GÊNERO CAPNOFÍLICO

As bactérias pertencentes ao gênero *Haemophilus* necessitam de meios de isolamento que contenham os fatores de crescimento essenciais: hemina (também chamada fator X) e/ou nicotinamida adenina dinucleotídeo (NAD), também chamada fator V. A única espécie do gênero *Haemophilus* encontrada comumente na cavidade bucal é *H. parainfluenzae* (fator V exigente); *H. paraaerolyticus* é isolado a partir de infecções de partes moles da cavidade bucal, mas provavelmente não é um membro regular da microbiota bucal.

Microrganismos previamente classificados como *Haemophilus* foram colocados no gênero *Aggregatibacter*. Exemplos incluem *Aggregatibacter aphrophilus*, que pode causar abscessos cerebrais e endocardite infecciosa; *A. segnis*, que apenas ocasionalmente é isolado de infecções; e *A. actinomycetemcomitans* (anteriormente classificado como *Actinobacillus actinomycetemcomitans*), que está envolvido em uma forma particularmente agressiva de doença periodontal em adolescentes. As cepas são capnofílicas, muitas vezes exigindo 5 a 10% de CO₂ para o crescimento. As células apresentam membrana externa que contém moléculas que estimulam a reabsorção óssea, bem como polissacarídeos determinantes de sorotipo. *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* produz vários fatores de virulência, incluindo uma poderosa leucotoxina, collagenase, fatores imunossupressores e proteases capazes de clivar a imunoglobulina G (IgG); além disso, as cepas podem ser invasivas para células epiteliais. *A. actinomycetemcomitans* também é um patógeno oportunista, sendo isolado de casos de endocardite, abscessos cerebrais e subcutâneos, osteomielite e doença periodontal. Recentemente, foi reconhecido um clone altamente virulento de *A. actinomycetemcomitans*,

cujas distribuições estão restritas a certos adolescentes com alto risco de periodontite agressiva e a maioria deles origina-se do noroeste da África.

Eikenella corrodens foi isolada de uma série de infecções bucais, incluindo endocardite e abscessos, e tem sido implicada na doença periodontal. *Capnocytophaga* são bacilos Gram-negativos dependentes de CO₂, que exibem uma motilidade deslizante. Estas bactérias são encontradas no biofilme subgingival e aumentam em proporções na gengivite. Várias espécies foram reconhecidas, incluindo *Capnocytophaga gingivalis*, *C. ochracea*, *C. sputigena*, *C. granulosa*, *C. haemolytica* e *C. leadbetteri*. *Capnocytophaga*, são patógenos oportunistas e foram isolados em várias infecções em pacientes imunocomprometidos; algumas cepas produzem uma protease IgA1. *Kingella* (p. ex., *K. oralis*) é um cocobacilo que foi isolado a partir de vários locais da cavidade bucal. A bactéria deslizante *Simonsiella* foi isolada de superfícies epiteliais da cavidade bucal de seres humanos e de vários animais. Estes micro-organismos apresentam uma morfologia celular única, sendo compostos por filamentos muito grandes, multicelulares e em grupos ou múltiplos de oito células. Houve descrição de *Helicobacter pylori* em biofilmes dentais; esta espécie é microaerofílica e, geralmente, é isolada do estômago, onde está associada a gastrite, úlceras pépticas e câncer gástrico. Pode estar presente na cavidade bucal, transitoriamente, após refluxo do estômago.

GÊNERO ANAERÓBIO ESTRITO

Os bacilos Gram-negativos anaeróbios estritos compreendem uma grande proporção da microbiota do biofilme dental e da língua. Muitas espécies não crescem facilmente ou são descritas como sendo não cultiváveis; conseqüentemente, abordagens moleculares têm sido necessárias para classificar e identificar muitos desses microrganismos.

A maioria dos anaeróbios estritos bucais cultiváveis pertence aos gêneros *Prevotella* e *Porphyromonas* (Fig. 3.7, B e D). Alguns microrganismos destes gêneros produzem colônias com um pigmento marrom ou preto característico quando cultivadas em ágar sangue (Fig. 3.8). Este pigmento pode atuar como um mecanismo de defesa, ajudando a proteger as células dos efeitos tóxicos do oxigênio. Estes microrganismos são referidos coletivamente como anaeróbios pigmentados de preto. A hemina é um fator de crescimento essencial para estes microrganismos e é obtida do hospedeiro a partir do catabolismo de moléculas que contém um grupo heme, como a hemoglobina.



FIGURA 3.8 Pigmentação da colônia de *Porphyromonas gingivalis* em ágar sangue. A imagem foi gentilmente cedida por Owain Dafydd Thomas, Cardiff and Vale UHB.

As espécies de *Prevotella* são moderadamente sacarolíticas (isto é, capazes de fermentar carboidratos); espécies que produzem colônias pigmentadas incluem *P. intermedia*, *P. nigrescens*, *P. melaninogenica*, *P. loescheii*, *P. pallens*, *P. fusca*, *P. scopos* e algumas cepas de *P. denticola*. *Prevotella intermedia* e *P. nigrescens* (Fig. 3.7, D) são difíceis de distinguir com o uso de testes fisiológicos simples, mas é fato importante que *P. intermedia* está associada à doença periodontal, enquanto *P. nigrescens* é isolada com mais frequência, e em maior número, a partir de locais saudáveis. Existe um grande número de espécies não pigmentadoras, como *P. buccae*, *P. buccalis*, *P. oralis*, *P. oris*, *P. oulora*, *P. veroralis*, *P. dentalis*, *P. enoeca*, *P. bergensis*, *P. multisaccharivorax*, *P. marshii*, *P. baroniae*, *P. shahii*, *P. multiformis*, *P. salivae*, *P. micans*, *P. maculosa*, *P. histicola* e *P. zoogloformans*. A maioria pode, às vezes, ser isolada do biofilme dental, particularmente de locais subgingivais. Algumas espécies estão associadas à doença e aumentam em número e proporções durante a doença periodontal e também foram isoladas de abscessos (Capítulos 6 e 7). Um gênero recentemente descrito, mas relacionado, é *Alloprevotella*, e exemplos incluem *Alloprevotella rava* e *A. tanneriae*.

Espécies de *Porphyromonas* são principalmente assacarolíticas e utilizam proteínas e peptídeos para o seu crescimento. *Porphyromonas gingivalis* (Figs. 3.7, B e C e 3.8) é isolada principalmente de áreas subgingivais, especialmente em lesões periodontais avançadas, embora também tenha sido recuperada da língua e amídalas. Seis sorotipos são reconhecidos com base em polissacarídeos capsulares (antígenos K). *P. gingivalis* é

altamente virulento em estudos de infecção experimental em animais e produz vários fatores de virulência associados à destruição de tecidos e à evasão das defesas do hospedeiro. Estes incluem a cisteína-protease gingipaína, com especificidade por ligações arginina-X e lisina-X (arg-gingipaína e lys-gingipaína, respectivamente), que podem degradar moléculas do hospedeiro, como imunoglobulinas, complemento e proteínas de sequestro de ferro e heme e glicoproteínas, bem como moléculas que regulam a resposta inflamatória do hospedeiro. *P. gingivalis* também produz a hemolisina, enzimas que degradam colágeno, metabólitos citotóxicos e uma cápsula (Capítulo 6). *P. gingivalis* apresenta numerosas fimbrias na sua superfície celular, que medeiam a aderência às células epiteliais bucais e às superfícies dentárias recobertas por saliva e produzem grandes quantidades de vesículas de superfície que podem ser eliminadas no ambiente (Fig. 3.7, B). *P. gingivalis* também está associada a doenças sistêmicas, incluindo doenças cardiovasculares (tendo sido encontrada na placa aterosclerótica) e artrite reumatoide (possui uma peptidil arginina deaminase exclusiva que pode realizar a citrulinização de proteínas do hospedeiro, que podem gerar autoanticorpos) (Capítulo 11). Outras espécies incluem *Porphyromonas endodontalis*, que tem sido principalmente isolada de canais radiculares infectados, e *Porphyromonas catoniae*, encontrada principalmente em locais saudáveis ou em bolsas periodontais rasas.

Outro grupo importante de bactérias Gram-negativas anaeróbias estritas pertence ao gênero *Fusobacterium*. As células têm as formas características de filamentos longos (5 a 25 μm de comprimento; Fig. 3.7, E) ou de bacilos pleomórficos e produzem ácido butírico como principal produto final do metabolismo. A espécie isolada mais comum é *F. nucleatum* e várias subespécies foram reconhecidas, entre elas, subesp. *nucleatum*, subesp. *polymorphum* e subesp. *vincentii*. Estas podem ter diferentes associações na saúde e na doença; *F. nucleatum* subesp. *polymorphum* é comumente isolado do sulco gengival normal enquanto a subespécie *nucleatum* é recuperada principalmente de bolsas periodontais. Outras fusobactérias bucais incluem *F. periodonticum*, que é isolada a partir de locais com doença periodontal. Fusobactérias frequentemente são descritas como sendo assacarolíticas, embora possam utilizar carboidratos para síntese de compostos intracelulares de armazenamento de poliglicose. Essas catabolizam aminoácidos como aspartato, glutamato, histidina e lisina para obter energia. Estes aminoácidos

podem ser obtidos a partir do metabolismo de peptídeos, caso aminoácidos livres não estejam disponíveis. *Fusobacterium nucleatum* é capaz de remover o enxofre da cisteína e da metionina para produzir amônia, butirato, sulfito de hidrogênio e metil-mercaptano; esses compostos contribuem para o mal odor associado à halitose. Fusobactérias são capazes de coagregar com a maioria das outras bactérias bucais e acredita-se que, conseqüentemente, sejam importantes microrganismos de ponte entre colonizadores iniciais e tardios durante a formação do biofilme (coadesão e coagregação) (Capítulo 5). *Fusobacterium nucleatum* é comumente isolado a partir de infecções extrabucais, o que pode estar relacionado com sua capacidade de aderir e invadir células epiteliais e endoteliais por mediação de uma adesina, FadA. *Fusobacterium nucleatum* está associado ao câncer colorretal; FadA está envolvida na adesão às células epiteliais do intestino, permitindo-lhe modular as vias de sinalização celular e resultando em aumento da expressão de oncogenes (Capítulo 11).

Outros gêneros bacterianos anaeróbicos Gram-negativos e microaerófilos bucais incluem *Leptotrichia* (espécies *L. buccalis*, *L. hofstadii*, *L. shahii* e *L. wadei*), *Wolinella* (p. ex., *W. succinogenes*) e *Campylobacter* (células com morfologia em espiral); espécies incluem *Campylobacter concisus*, *C. gracilis*, *C. showae*, *C. sputorum*, *C. curvus* e *C. rectus* (as duas últimas espécies eram anteriormente classificadas como *Wolinella curva* e *W. recta*, respectivamente). *Campylobacter concisus* é isolado em proporções mais elevadas a partir de bolsas periodontais relativamente superficiais e locais subgengivais saudáveis, enquanto *C. rectus* é encontrado mais comumente em locais com doença periodontal ativa, especialmente em pacientes imunocomprometidos, e algumas cepas produzem uma citotoxina. *Selenomonas sputigena*, *S. noxia*, *S. flueggei*, *S. infelix*, *S. diana* e *S. artemidis* foram encontrados no biofilme do sulco gengival de seres humanos.

Algumas das espécies descritas anteriormente apresentam flagelos e são móveis. As espécies de *Wolinella* e *Campylobacter* possuem um único flagelo, enquanto as de *Selenomonas* variam de curvadas a bacilos helicoidais com um tufo de flagelos. Outra bactéria bucal anaeróbia Gram-negativa helicoidal ou curva é *Centipeda periodontii*, que apresenta numerosos flagelos em espiral ao redor da célula. Outro gênero inclui *Johnsonii* (*J. ignava*) e *Cantonella* (*C. morbi*), que estão associados à gengivite e à periodontite, respectivamente; *Dialister* (*D. pneumosintes* e *D. invisus*, que pode ser encontrada

em infecções endodônticas e na periodontite) *Flavobacterium* e *Tannerella forsythia* (comumente isolada da doença periodontal avançada).

Bactérias redutoras de sulfato (p. ex., pertencentes aos gêneros *Desulfobacter*, *Desulfobulbus*, *Desulfomicrobium* e *Desulfovibrio*) foram ocasionalmente isoladas no biofilme dental e de bolsas periodontais. Essas obtêm energia por meio da oxidação de ácidos orgânicos ou hidrogênio, enquanto reduzem o sulfato a sulfito de hidrogênio, o que pode contribuir para o mal odor da boca. Essas bactérias são extremamente difíceis de se cultivar em laboratório devido à sua sensibilidade, mesmo em pequenas quantidades, ao oxigênio e à sua exigência de um potencial redox muito baixo para o crescimento.

As espiroquetas são numerosas no biofilme subgengival e podem ser prontamente identificadas por meio de microscopia de campo escuro ou eletrônica. Vários tipos morfológicos podem ser distinguidos de acordo com o tamanho da célula e a disposição dos flagelos periplasmáticos (endoflagelos). Algumas espiroquetas bucais aderem à superfícies sob uma orientação polar e este tipo de adesão resulta em alterações macroscópicas na morfologia da célula do hospedeiro, facilitando a penetração nos tecidos subjacentes. O número de espiroquetas aumenta na doença periodontal avançada e é diagnóstico de periodontite ulcerativa necrosante (Capítulo 6). No entanto, se causam doença ou simplesmente aumentam após a infecção ainda não foi definido. Espiroquetas bucais pertencem ao gênero *Treponema* e um grande número de espécies foi identificado, entre elas *T. denticola*, *T. socranskii* (subespécies *socranskii*, *buccale* e *paredis*), *T. maltophilum*, *T. amylovorum*, *T. parvum*, *T. pectinovorum*, *T. putidum*, *T. lecithinolyticum*, *T. medium* and *T. vincentii* (Fig. 3.3, A). Estas foram isoladas de locais periodontais inflamados e infecções endodônticas. Pouco se sabe sobre a fisiologia destes microrganismos devido às dificuldades associadas ao seu cultivo em laboratório e, sendo assim, são principalmente detectados por meio de técnicas moleculares. No entanto, *T. denticola* pode ser cultivado com a utilização de métodos apropriados e apresenta uma protease arginina específica (“tipo tripsina”), podendo também degradar colágeno e gelatina.

Conforme mencionado anteriormente neste capítulo, atualmente apenas cerca de 50 a 70% dos microrganismos que podem ser visualizados na cavidade bucal por microscopia podem ser cultivados. Isto não é apenas por causa do desconhecimento das necessidades

de crescimento desses microrganismos, mas também porque algumas bactérias evoluíram para crescer em parceria (física e nutricional) com outros microrganismos. Novas famílias de bactérias não cultiváveis estão sendo identificadas por meio de abordagens moleculares, por exemplo, *Bacteroidales* e *Lachnospiraceae*, enquanto algumas das bactérias não cultiváveis apresentam similaridade genética suficiente com espécies cultiváveis conhecidas que podem ser colocadas dentro de um gênero, por exemplo, espiroquetas não cultiváveis para o gênero *Treponema* (Fig. 3.3, A). Outras representam linhagens evolutivas novas, que são encontradas em vários habitats, e são designadas simplesmente por filos, nos quais são agrupadas. A maioria destas bactérias pertence ao filo TM7 e pode ser detectada no biofilme subgengival por hibridização *in situ* fluorescente (FISH), que envolve a combinação de sondas oligonucleotídicas (acopladas a um marcador fluorescente) com técnicas especializadas de microscopia (epifluorescência ou microscopia confocal de varredura a laser) (Fig. 3.3, B). Alguns microrganismos detectados por abordagens moleculares em amostras de biofilme subgengival, lesões periodontais e infecções endodônticas pertencem a um novo candidato a filo: *Synergistetes*. Avanços estão sendo feitos para sua classificação; exemplos destes microrganismos incluem *Jonquetella anthropic*, *Pyramidobacter piscolens* e *Fretibacterium fastidiosum*. No momento, a melhor compreensão sobre a função destas bactérias não cultiváveis na saúde e na doença é um objetivo importante para os microbiologistas bucais.

PONTOS-CHAVE

As bactérias Gram-negativas bucais são diversas e incluem espécies que são anaeróbias facultativas e estritas, bem como microaerófilas e capnófilas. *Veillonella* são cocos Gram-negativos anaeróbios que desempenham um papel importante no biofilme dental convertendo o lactato em ácidos mais fracos. A maioria dos bacilos Gram-negativos anaeróbios é encontrada em biofilmes dentais, apresenta um metabolismo assacarolítico e depende de proteínas e glicoproteínas para sua nutrição; alguns gêneros comuns incluem *Prevotella* e *Fusobacterium*. A diversidade de espécies aumenta na doença periodontal e muitas destas são microrganismos ainda não cultiváveis. A taxonomia de bactérias Gram-negativas foi transformada pelas técnicas moleculares, como o sequenciamento do gene 16S rRNA.

MICOPLASMA

As bactérias pertencentes ao gênero *Mycoplasma* são caracterizadas principalmente pela ausência de uma parede celular, o que as faz aparecerem como Gram-negativas quando coradas. Devido ao seu pequeno tamanho ($<1 \mu\text{m}$, são as menores de todas as células de crescimento livre), são difíceis de se visualizar por microscopia óptica convencional.

A análise das sequências do genoma de *Mycoplasma* (16S rDNA) sugere que essas estão mais intimamente relacionadas com os subgrupos de bactérias Gram-positivas *Bacillus-Lactobacillus* e *Streptococcus*. O micoplasma exibe crescimento lento e requer meios de cultura microbiológicos especializados, enriquecidos com proteínas e uma elevada atmosfera de dióxido de carbono para crescimento. *Mycoplasma* são pleomórficos e várias formas de células podem ocorrer dependendo do ambiente.

Os micoplasmas são prevalentes nas superfícies mucosas. Foram relatadas estimativas de taxa de transporte bucal destas bactérias entre 6 e 32% da população e várias espécies foram recuperadas da saliva (*Mycoplasma salivarium*, *M. pneumoniae*, *M. hominis*), mucosa bucal (*M. buccale*, *M. orale*, *M. Pneumoniae*) e biofilme dental (*M. pneumoniae*, *M. buccale*, *M. orale*). *Mycoplasma orale* e *M. salivarium* também foram isolados das glândulas salivares onde se postulou que desempenham algum papel na hipofunção das glândulas salivares.

FUNGOS

Os fungos geralmente constituem uma proporção relativamente pequena da microbiota bucal. Os “fungos perfeitos” (que se dividem por reprodução sexual) raramente são isolados da cavidade bucal, mas ocasionalmente são encontrados infectando pacientes com a síndrome de imunodeficiência adquirida (AIDS). As principais espécies de fungos que causam infecção bucal são *Aspergillus*, *Geotrichum* e *Mucor*. As espécies de fungos perfeitos observadas em indivíduos saudáveis podem ser transitórias, ao invés de residentes da microbiota bucal. Ao contrário, os “fungos imperfeitos”, por exemplo, as espécies de *Candida* (que se dividem por reprodução assexuada), são encontrados comumente na cavidade bucal (Capítulo 8). *Candida albicans* é de longe a espécie mais prevalente, mas um grande número de outras espécies foi isolado, incluindo *C. glabrata*, *C. tropicalis*,

C. krusei, *C. parapsilosis* e *C. guilliermondii*, bem como espécies de *Rhodotorula* e *Saccharomyces*. As estimativas da taxa de transporte de *Candida* spp. na cavidade bucal variam acentuadamente devido às diferentes técnicas de isolamento empregadas e aos grupos populacionais investigados (Capítulo 8). As taxas variam de 2 a 71% dos adultos assintomáticos, mas isso aumenta e se aproxima de 100% em pacientes comprometidos pelo uso de medicamentos ou naqueles que estão fazendo uso de agentes antibacterianos de amplo espectro.

Candida spp. são distribuídas de modo uniforme em toda a cavidade bucal, mas a área mais comum de isolamento é o dorso da língua. O isolamento de *Candida* aumenta com a presença de dispositivos intraorais, como próteses ou aparelhos ortodônticos, particularmente na superfície de encaixe na maxila; as espécies de *Candida* podem aderir firmemente ao acrílico.

DOMÍNIO ARCHAEA

Os microrganismos do domínio *Archaea* apresentam características que os tornam diferentes das bactérias ou eucariotas e constituem um ramo distinto da árvore filogenética da vida. As arqueias são encontradas em comunidades microbianas complexas no intestino e na cavidade bucal e a principal espécie isolada nesta é *Methanobrevibacter oralis*, detectada no biofilme dental subgingival e nos canais radiculares infectados. Esses microrganismos obtêm energia por meio da redução de CO₂ para o metano e foram relatadas associações entre metanógenos e bactérias redutoras de sulfato com *Synergistes* e outros patógenos periodontais, sugerindo que essas bactérias podem funcionar como degradadores terminais durante o catabolismo de moléculas do hospedeiro complexas (Capítulo 5). Outras arqueias isoladas da cavidade bucal incluem *Methanobacterium* e *Methanosarcina*.

VÍRUS

Inúmeros vírus podem ser detectados na cavidade bucal utilizando técnicas moleculares (Capítulo 9). Atualmente, não é mais necessário utilizar métodos que consomem tempo e, frequentemente, são pouco confiáveis para a detecção de vírus, como cultura de tecido ou microscopia eletrônica. Na verdade, alguns vírus somente foram detectados pelo uso das abordagens moleculares e nunca foram cultivados em laboratório (p. ex., o vírus da hepatite C e o da hepatite G).

O vírus mais frequentemente encontrado na saliva e na cavidade bucal é o herpes simples tipo 1 (HSV-1). A grande maioria (80 a 90%) dos adultos do mundo ocidental apresentou infecção primária pelo HSV-1, que quando reativado a partir da forma latente causa lesões secundárias infecciosas vesiculares nos tecidos orofaciais. As técnicas moleculares revelaram que o HSV-1 é persistente nos tecidos bucais e também pode ser detectado ocasionalmente por cultura a partir da saliva na ausência de quaisquer sinais ou sintomas clínicos, o que indica excreção periódica. O vírus também permanece latente no tecido neural, em particular no nervo trigêmeo, onde pode ser reativado por uma série de fatores, incluindo luz UV ou estresse. Uma vez reativada, a partícula viral passa através dos periféricos para causar as estomatites características na pele ou dentro da cavidade bucal, que se rompem para liberar mais partículas virais.

O citomegalovírus está presente na maioria dos indivíduos. Estes vírus foram detectados na saliva de adultos assintomáticos, mas sua via de entrada na cavidade bucal não está clara. Os vírus Coxsackie A2, 4, 5, 6, 8, 9, 10 e 16 foram detectados na saliva e no epitélio oral. A detecção destes vírus, em geral, é associada a doenças dos pés, mãos e boca ou herpangina.

Existem mais de 100 tipos de papilomavírus humano (HPV) e os tipos 2 e 4 têm sido frequentemente encontrados em lesões epiteliais semelhantes a verrugas hiperplásicas localizadas nos lábios e na boca (verruga vulgar, condiloma acuminado). Os tipos de HPV 2, 4, 6, 11 e 16 também são detectados com relativa frequência nos tecidos bucais de pacientes soropositivos para vírus da imunodeficiência humana (HIV). Estudos recentes têm explorado o possível papel do HPV no câncer de boca e, atualmente, está estabelecido que os tipos 16 e 18 são a causa de alguns casos de carcinoma orofaríngeo.

Bacteriófagos (vírus para os quais as bactérias são hospedeiros naturais) foram observados em amostras de saliva e biofilme dental, mas poucos foram isolados. Foram descritos bacteriófagos específicos para as espécies de *S. mutans*, *Lactobacillus*, *Actinomyces*, *Veillonella* e *Aggregatibacter*. O papel do bacteriófago na ecologia microbiana da cavidade bucal não foi totalmente compreendido. Já foi detectado bacteriófago com atividade contra bactérias não bucais (p. ex., *Proteus mirabilis*), o que pode contribuir para a capacidade de a microbiota residente excluir espécies

exógenas (resistência à colonização) (Capítulo 4). O bacteriófago também pode impulsionar a diversidade molecular em biofilmes bucais, fornecendo nova função gênica em resposta à terapia antimicrobiana ou outras perturbações ambientais.

Em raras ocasiões, vírus potencialmente patogênicos podem ser encontrados na cavidade bucal, especialmente na saliva, onde sua presença pode representar uma ameaça de infecção cruzada significativa. Embora alguns pacientes possam apresentar uma doença evidente, muitos podem ser assintomáticos. O vírus da hepatite B é um exemplo específico de um vírus patogênico que pode se propagar a partir da saliva de uma pessoa aparentemente saudável (Capítulo 12). Outros vírus que foram detectados na saliva incluem vários vírus respiratórios, HIV, vírus do sarampo e vírus da caxumba.

PROTOZOÁRIOS

Os protozoários são definidos como eucariotos unicelulares que não possuem parede celular. Duas espécies frequentemente recuperadas da cavidade bucal são *Trichomonas tenax* e *Entamoeba gingivalis*. Sua prevalência na cavidade bucal é variável, mas algumas estimativas descrevem frequências entre 4 e 52% na população saudável. Técnicas moleculares podem ser utilizadas para detectar estes microrganismos e o emprego de PCR detectou a presença de *T. tenax* em 2% da população saudável, aumentando para 21% em pacientes com doença periodontal.

Ambas as espécies de protozoários orais citadas são móveis e, no caso de *T. tenax*, a sua motilidade característica, “em cambalhotas”, é mediada pela presença de quatro flagelos anteriores e um quinto recorrente, inserido em uma membrana ondulante ao longo do comprimento da célula. *Trichomonas tenax* e *E. gingivalis* são heterotróficos, adquirindo suas necessidades de carbono por ingestão de outros microrganismos, leucócitos do hospedeiro e matéria orgânica morta na cavidade bucal e, nesse sentido, são verdadeiros parasitas. Ambas as espécies são anaeróbias estritas e, embora geralmente sejam consideradas comensais inofensivos, há relatos da sua associação à doença periodontal. *Trichomonas tenax* produz cisteína proteínases e metaloproteínases, que podem danificar os tecidos conjuntivos do hospedeiro. No entanto, se estes

microrganismos desempenham ou não um papel ativo na doença periodontal, ainda é desconhecido, embora seja evidente que a sua incidência aumenta em indivíduos com higiene bucal deficiente.

RESUMO DO CAPÍTULO

A cavidade bucal saudável sustenta o crescimento de uma ampla gama de microrganismos, incluindo bactérias, leveduras, micoplasmas, arqueias, vírus e, em certa ocasiões, até mesmo protozoários. As bactérias são os componentes predominantes da microbiota residente da cavidade bucal e uma lista dos principais gêneros é apresentada na Tabela 3.4. Muitas destas bactérias são exigentes em seus requisitos nutricionais, outras são anaeróbias estritas e altamente sensíveis ao oxigênio e algumas evoluíram para crescer em cultura mista. Atualmente, apenas cerca de 70% dos microrganismos do biofilme dental podem ser isolados em cultura pura em laboratório. Abordagens moleculares, baseadas em comparações de sequências de genes do 16S rRNA e sequenciamento do genoma completo, revolucionaram nossa compreensão sobre a complexidade da microbiota residente da cavidade bucal e resolveram problemas antigos relacionados com a classificação de vários grupos de bactérias bucais (p. ex., Fig. 3.6). Estas abordagens identificaram muitos novos gêneros e espécies, incluindo filos, como o TM7, que não são cultiváveis em cultura pura (Fig. 3.3, B). As abordagens moleculares proporcionaram técnicas rápidas (e relativamente simples) para detectar, visualizar e identificar até mesmo o mais exigente dos microrganismos bucais em amostras clínicas. Os benefícios resultantes na classificação e detecção incluem o achado de associações mais íntimas entre determinadas espécies ou táxons e certas áreas na saúde e na doença.

A alta diversidade da microbiota bucal reflete a ampla gama de nutrientes disponíveis endogenamente na cavidade bucal, os tipos variados de habitat para colonização e a oportunidade proporcionada por biofilmes, como a placa, para sobrevivência nas superfícies. Apesar desta diversidade, muitos microrganismos comumente isolados de ecossistemas vizinhos, como a pele e o intestino, não são encontrados na cavidade bucal, enfatizando as propriedades únicas e seletivas da boca para colonização microbiana.

TABELA 3.4 Principais gêneros de bactérias encontrados na cavidade bucal.

Gram-positivos		Gram-negativos	
<i>Cocos</i>	<i>Bastonetes</i>	<i>Cocos</i>	<i>Bastonetes</i>
<i>Abiotrophia</i>	<i>Actinobaculum</i>	<i>Anaeroglobus</i>	<i>Aggregatibacter</i>
<i>Enterococcus</i>	<i>Actinomyces</i>	<i>Megasphaera</i>	<i>Campylobacter</i>
<i>Finegoldia</i>	<i>Alloscardovia</i>	<i>Moraxella</i>	<i>Cantonella</i>
<i>Gemella</i>	<i>Arcanobacterium</i>	<i>Neisseria</i>	<i>Capnocytophaga</i>
<i>Granulicatella</i>	<i>Atopobium</i>	<i>Veillonella</i>	<i>Centipeda</i>
<i>Peptostreptococcus</i>	<i>Bifidobacterium</i>		<i>Desulfomicrobium</i>
<i>Streptococcus</i>	<i>Corynebacterium</i>		<i>Desulfovibrio</i>
	<i>Cryptobacterium</i>		<i>Dialister</i>
	<i>Eubacterium</i>		<i>Eikenella</i>
	<i>Filifactor</i>		<i>Flavobacterium</i>
	<i>Lactobacillus</i>		<i>Fusobacterium</i>
	<i>Mogibacterium</i>		<i>Haemophilus</i>
	<i>Olsenella</i>		<i>Johnsonii</i>
	<i>Parascardovia</i>		<i>Kingella</i>
	<i>Propionibacterium</i>		<i>Leptotrichia</i>
	<i>Pseudoramibacter</i>		<i>Methanobrevibacter</i>
	<i>Rothia</i>		<i>Porphyromonas</i>
	<i>Scardovia</i>		<i>Prevotella</i>
	<i>Shuttleworthia</i>		<i>Selenomonas</i>
	<i>Slackia</i>		<i>Simonsiella</i>
	<i>Solobacterium</i>		<i>Tannerella</i>
			<i>Treponema</i>
			<i>Wolinella</i>

Nem todos os gêneros de bactérias foram listados. O micoplasma também é isolado da cavidade bucal. Existem, também, bactérias não cultiváveis que ainda não foram colocadas em um gênero; algumas pertencem ao filo TM7.

LEITURA ADICIONAL

- Aas JA, Paster BJ, Stokes LN et al. Defining the normal bacterial flora of the oral cavity. *J Clin Microbiol.* 2005;43:5721-5732.
- Aruni W, Chioma O, Fletcher HM. *Filifactor alocis*: the newly discovered kid on the block with special talents. *J Dent Res.* 2014;93:725-732.
- Asam D, Spellerberg B. Molecular pathogenicity of *Streptococcus anginosus*. *Mol Oral Microbiol.* 2014;29:145-155.
- Chen T, Yu WH, Izard J et al. The Human Oral Microbiome Database: a web accessible resource for investigating oral microbe taxonomic and genomic information. *Database.* 2010;:doi:10.1093/database/baq013; Article ID baq013.
- Dewhirst FE, Chen T, Izard J et al. The Human Oral Microbiome. *J Bacteriol.* 2010;192:5002-5017.
- Edlund A, Santiago-Rodriguez TM, Boehm TK et al. Bacteriophage and their potential roles in the human oral cavity. *J Oral Microbiol.* 2015;7:27423.
- Ghannoum MA, Jurevic RJ, Mukherjee PK et al. Characterization of the oral fungal microbiome (mycobiome) in healthy individuals. *PLoS Pathog.* 2010;8(6):e1000713.
- Han YW. *Fusobacterium nucleatum*: a commensal-turned pathogen. *Curr Opin Microbiol.* 2015;23:141-147.
- Henderson B, Ward JM, Ready D. *Aggregatibacter* (*Actinobacillus*) *actinomycetemcomitans*: a triple A* periodontopathogen?. *Periodontol 2000.* 2010;54:78-105.
- Human Microbiome Project Consortium. Structure, function and diversity of the healthy human microbiome. *Nature.* 2012;486(7402):207-214.
- Könönen E, Wade WG. *Actinomyces* and related organisms in human infections. *Clin Microbiol Revs.* 2015;28:419-442.
- Li L, Redding S, Dongari-Bagtzoglou A. *Candida glabrata*: an emerging oral opportunistic pathogen. *J Dent Res.* 2007;86:204-215.
- Matarazzo F, Ribeiro AC, Faveri M et al. The domain *Archaea* in human mucosal surfaces. *Clin Microbiol Infect.* 2012;18:834-840.

- Murphy EC, Frick I-M. Gram-positive anaerobic cocci – commensals and opportunistic pathogens. *FEMS Microbiol Rev.* 2013;37:520-553.
- Nair RG, Salajegheh A, Itthagarun A et al. Orofacial viral infections – an update for clinicians. *Dent Update.* 2014;41:518-520:522-524.
- Nakayama K. *Porphyromonas gingivalis* and related bacteria: from colonial pigmentation to the type IX secretion system and gliding motility. *J Periodontol Res.* 2015;50:1-8.
- Nguyen-Hieu T, Khelaifia S, Aboudharam G et al. Methanogenic archaea in subgingival sites: a review. *APMIS.* 2013;121:467-477.
- Sharma A. Virulence mechanisms of *Tannerella forsythia*. *Periodontol* 2000. 2010;54:106-116.
- The Human Oral Microbiome Database (HOMD) fornece informações abrangentes sobre os micro-organismos encontrados na cavidade bucal humana. Este é um projeto em andamento e o banco de dados é continuamente atualizado. O banco de dados pode ser acessado em: <www.homd.org>.
- Visser MB, Ellen RP. New insights into the emerging role of oral spirochaetes in periodontal disease. *Clin Microbiol Infect.* 2011;17:502-512.
- Wade WG. The oral microbiome in health and disease. *Pharmacol Res.* 2013;69:137-143.
- Whitmore SE, Lamont RJ. The pathogenic persona of community-associated oral streptococci. *Mol Microbiol.* 2011;81:305-314.

QUESTÕES DE MÚLTIPLA ESCOLHA

Respostas na pág. 249

1. A classificação dos microrganismos é o processo de qual dos seguintes?
 - a. Agrupar microrganismos logicamente com base em suas semelhanças e diferenças
 - b. Proporcionar aos microrganismos um nome
 - c. Desenvolver um esquema de identificação
 - d. Descrever a aparência da colônia de uma cepa bacteriana
2. Como são denominadas as bactérias que são dependentes de dióxido de carbono para o seu crescimento?
 - a. Anaeróbias estritas
 - b. Anaeróbias facultativas
 - c. Aeróbias
 - d. Capnofílicas
3. As cepas de *Streptococcus salivarius* produzem grandes quantidades de que tipo de exopolímero da sacarose?
 - a. Heteropolissacarídeo
 - b. Frutano (estrutura de inulina)
 - c. Frutano (estrutura de levano)
 - d. Glicogênio
4. Qual das seguintes é uma bactéria capnofílica?
 - a. *Capnocytophaga gingivalis*
 - b. *Porphyromonas gingivalis*
 - c. *Fusobacterium nucleatum*
 - d. *Veillonella atypica*
5. Qual das seguintes espécies produz colônias pigmentadas de marrom ou preto em ágar sangue?
 - a. *Aggregatibacterium actinomycetemcomitans*
 - b. *Porphyromonas gingivalis*
 - c. *Prevotella oralis*
 - d. *Eikenella corrodens*
6. Espiroquetas bucais se enquadram dentro de qual gênero?
 - a. *Bacteroides*
 - b. *Centipeda*
 - c. *Treponema*
 - d. *Selenomonas*
7. Qual dos seguintes protozoários é encontrado na cavidade bucal?
 - a. Paramécio
 - b. *Trichomonas tenax*
 - c. *Entamoeba histolytica*
 - d. *Giardia lamblia*
8. Testes iniciais em colônias que são alfa-hemolíticas em ágar sangue proporcionam os seguintes resultados: cocos Gram-positivos em cadeias; catalase negativo; produção de amônia a partir da arginina; ligação à alfa-amilase; produção de glucano a partir da sacarose. Qual é a identificação mais provável destas bactérias?
 - a. *Streptococcus mutans*
 - b. *Streptococcus vestibularis*
 - c. *Streptococcus gordonii*
 - d. *Streptococcus intermedius*

- 9.** Qual das seguintes espécies é o bacilo Gram-positivo anaeróbico facultativo mais isolado a partir de biofilmes dentários?
- a. *Actinomyces naeslundii*
 - b. *Actinomyces israelii*
 - c. *Lactobacillus casei*
 - d. *Bifidobacterium dentium*
- 10** Qual dos seguintes é o coco Gram-negativo anaeróbico encontrado mais comumente em grande número na cavidade bucal?
- a. *Neisseria subflava*
 - b. *Veillonella parvula*
 - c. *Eikennella corrodens*
 - d. *Megasphaera micronuciformis*

Marsh & Martin

6ª Edição

Microbiologia Oral

Marsh & Martin Microbiologia Oral apresenta os fundamentos essenciais da microbiologia oral em um formato fácil de ler e bastante acessível.

Esta nova edição inicia com uma descrição da cavidade bucal saudável e as propriedades da microbiota bucal residente, depois explora a formação e as consequências do desenvolvimento dos biofilmes, das doenças mediadas por biofilmes, da profilaxia e dos agentes antimicrobianos, dos fungos orofaciais e infecções virais, e aborda a relação entre a microbiota bucal e as doenças sistêmicas.

Cada capítulo inclui informações essenciais em um formato conciso, apresenta uma grande variedade de tabelas, fotografias e ilustrações para tornar o assunto o mais envolvente possível, e inclui também quadros com "Pontos-chave" que auxiliam na fixação do conteúdo.

Características desta nova edição:

Completamente reescrito por uma nova equipe.

Descreve com propriedade a complexa relação entre a microbiota bucal residente e o hospedeiro na saúde e na doença.

Mantém uma abordagem ecológica única para o indivíduo que apresenta um conjunto claro de princípios para explicar se a microbiota terá uma relação benéfica ou adversa com o hospedeiro em determinado local.

A cada capítulo, as perguntas de autoavaliação permitem que os leitores monitorem o próprio progresso.

Reflete o impacto que a era genômica exerceu na área.

Seções ampliadas sobre controle de infecção e uso de antibioticoterapia e agentes profiláticos.

Novas seções sobre os benefícios da microbiota bucal residente e sobre os mais novos conceitos de fatores que impulsionam a disbiose na doença periodontal.

Um novo capítulo sobre o papel emergente dos microrganismos bucais nas doenças sistêmicas.

Marsh & Martin Microbiologia Oral fornece os conceitos mais modernos de microbiologia oral de maneira simples e concisa para todos os estudantes de odontologia e profissões afins.

Classificação de Arquivo
Recomendada

**Odontologia
Microbiologia Oral**

ISBN 978-85-352-8837-7



9 788535 288377

ELSEVIER

www.elsevier.com.br/odontologia