

# BIOFILME DENTAL

## Mecanismos de formação, arquitetura e potencial patogênico

Maria Regina Simionato 2019

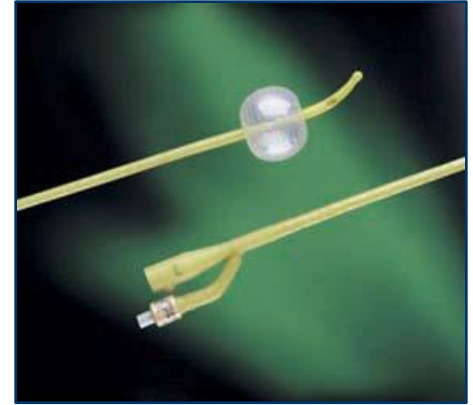
The mouth is an open system, rather like a river, with a continual flow of liquid washing out particles that do not attach and hold fast to surfaces.

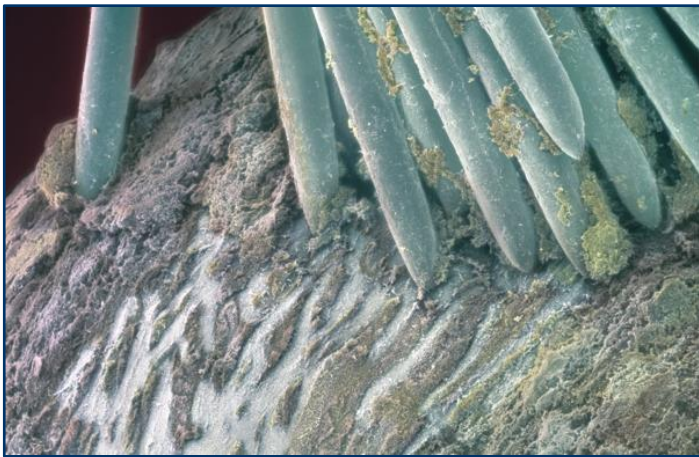
Nobbs et al. 2011. J. Dent Res 90: 1271-8



**BIOFILMES:** Comunidades de microrganismos altamente organizadas embebidos em matriz orgânica acelular, cujos constituintes tornam-se fenotipicamente diferentes dos seus pares não aderidos. (Stoodley et al, 2002)

> 95% das bactérias existentes na natureza estão em biofilmes

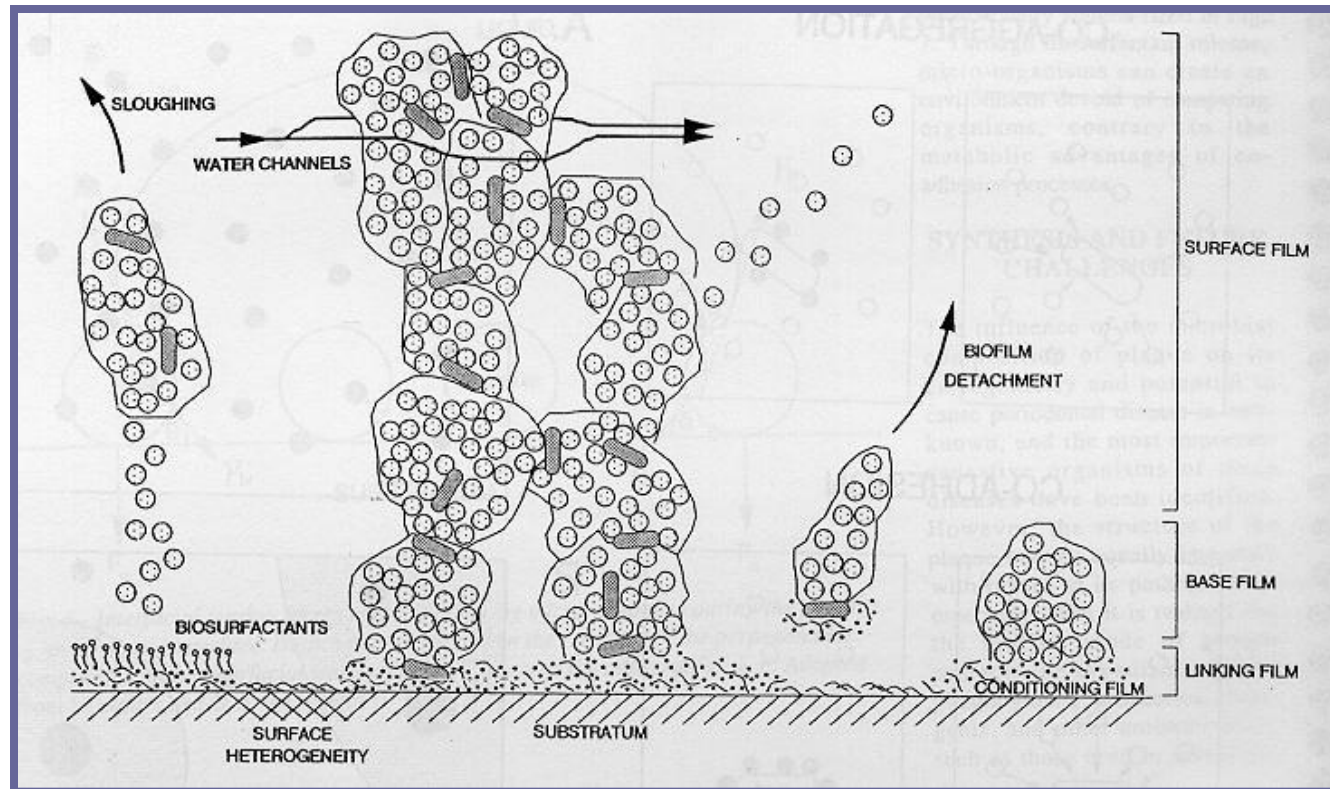




Biofilme na superfície dental  
=  
Placa dental

# Arquitetura do biofilme dental

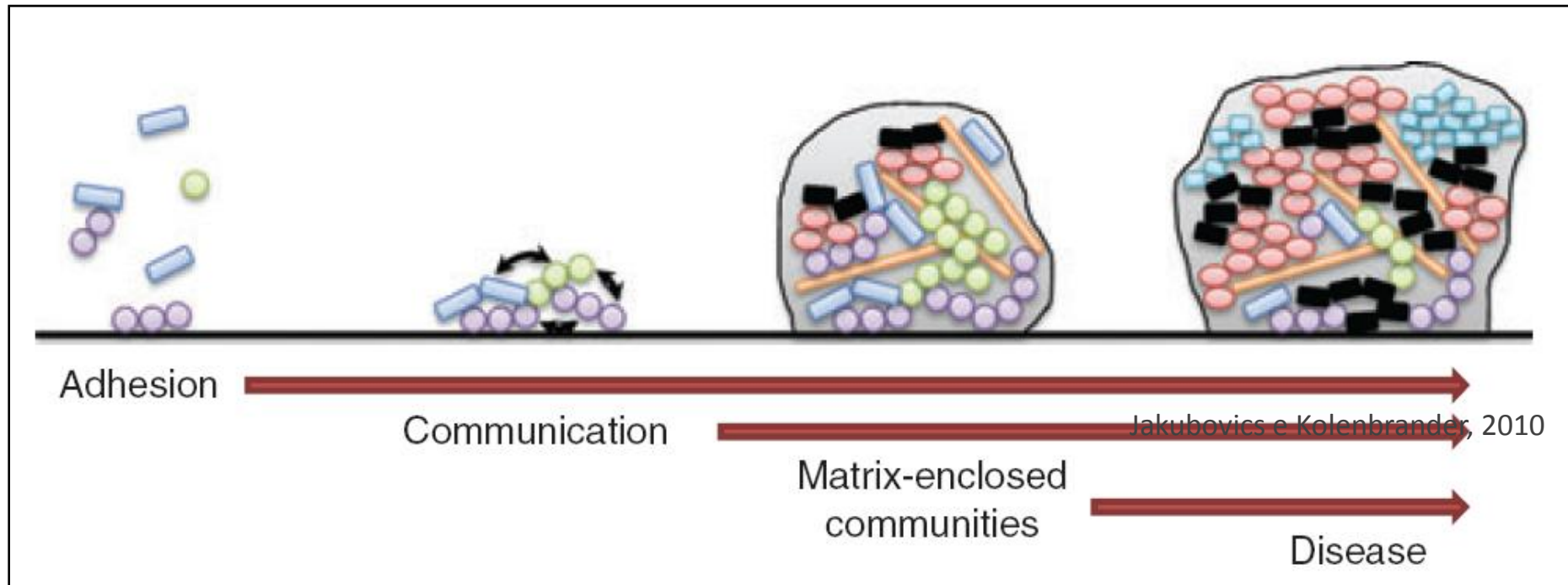
- ① **Microcolônias** com aspecto de pilares ou cogumelos
- ② **Sistema de canais** - favorece o fluxo de nutrientes, produtos de excreção, enzimas, metabólitos e oxigênio



③ **Matriz funcional** formada por polímeros extracelulares (bacterianos e do hospedeiro)



colonização, proteção das defesas do hospedeiro e dessecação

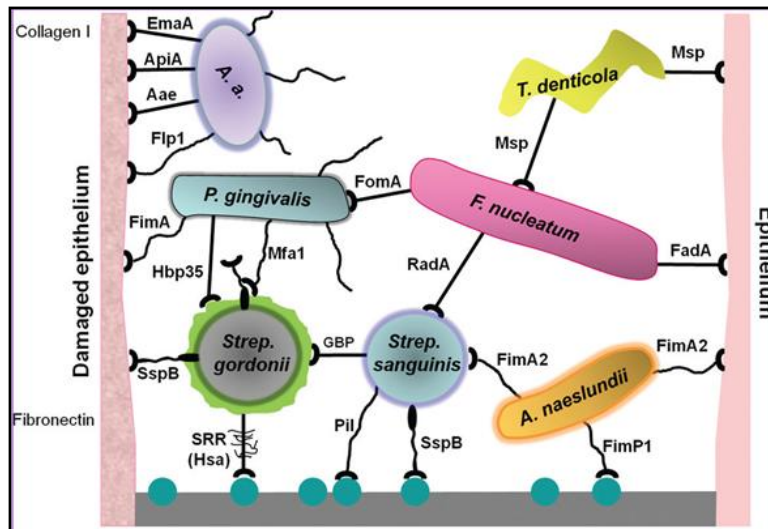


# Vantagens para os microrganismos que vivem em biofilmes orais

① Persistência em ecossistemas com fluxo

② Heterogeidade espacial e ambiental

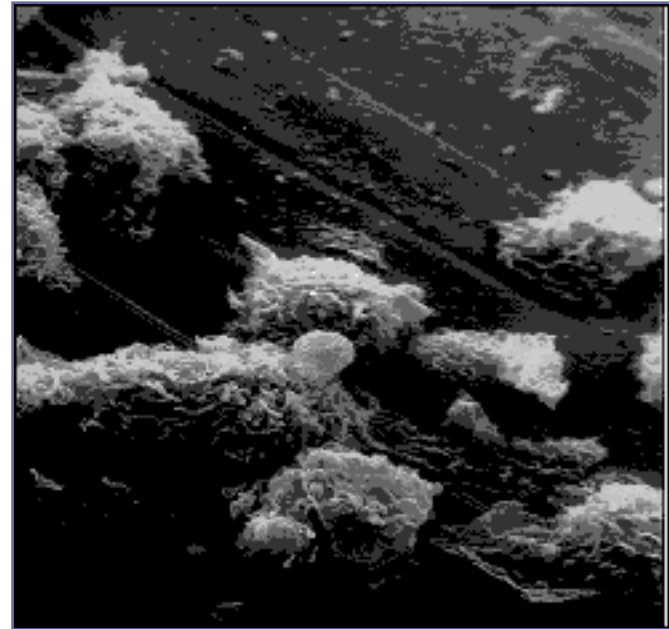
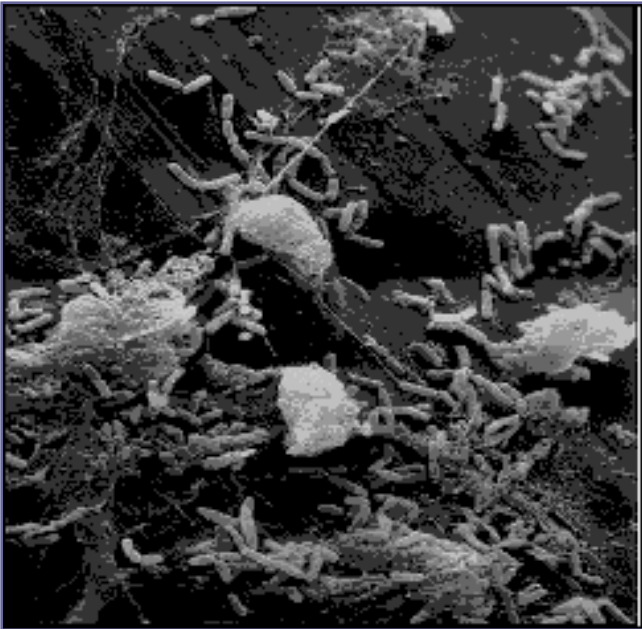
Ampla variedade de habitats com diversidade nutricional, de concentração de oxigênio e de pH



### ③ Maior **tolerância** (fenotípico) e **resistência** (genotípico) bacteriana

- ☆ a mecanismos de defesa do hospedeiro
- ☆ a formas reativas de oxigênio
- ☆ a proteases
- ☆ a antimicrobianos

- Matriz – reduz penetração do AM
- Taxa de crescimento baixa
- Células persistentes
- eDNA – quelante de cátions e aumenta a tolerância a AM com carga + (aminoglicosídeos por ex)
- Transferência de genes

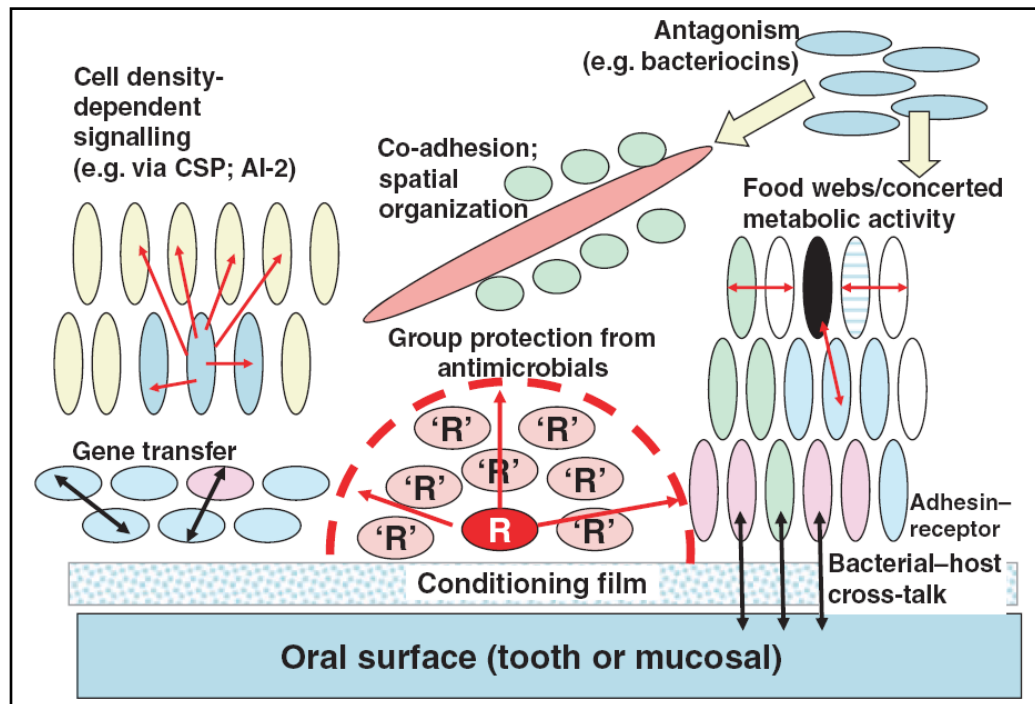


# Proximidade, disposição espacial possibilitam:

④ Aquisição de novos genes, expressão de novas características



Expressão de um conjunto de genes que resulta em **fenótipos distintos** de seus pares planctônicos

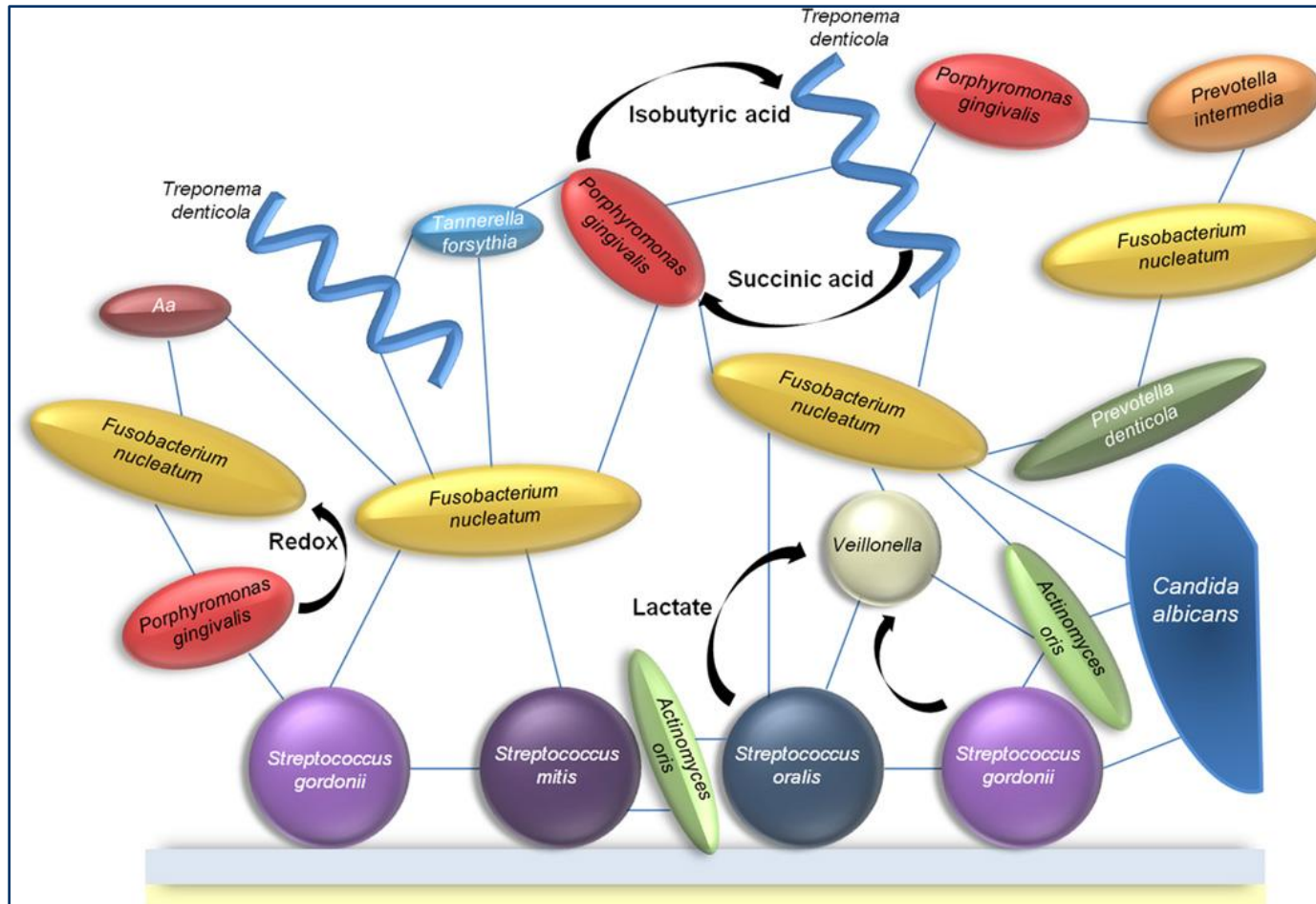




## ⑤ Metabolismo mais eficiente

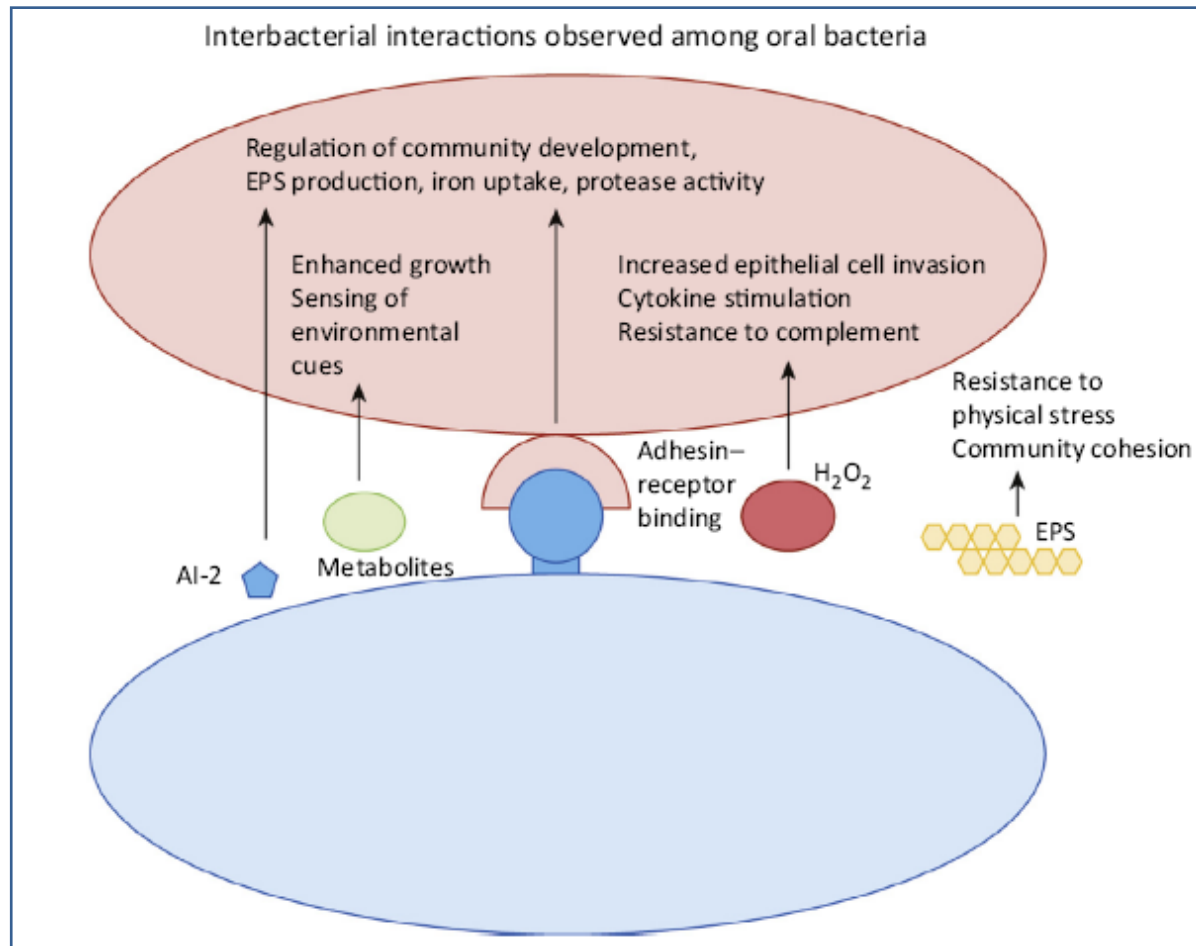
- Maior disponibilidade de nutrientes
- Compartilhamento ou complementação enzimática

### Relações metabólicas entre bactérias orais do biofilme dental



## ⑥ Sinalização célula-célula:

Microrganismos comunicam-se entre si, através de sinais químicos que desencadeiam mecanismos de produção de novas proteínas e enzimas



*TRENDS in Molecular Medicine*

# Rede complexa de moléculas sinalizadoras produzidas por bactérias orais: moléculas pequenas, difusíveis e efetoras

## Peptídeos estimuladores de competência (CSP)

- Pequenos peptídeos (17 a 21 aa)
- Produzidos por bactérias Gram +
- Produção influenciada pelo pH



## Competência

Formação de biofilme  
Liberação de DNA (eDNA)  
Produção de bacteriocinas  
Resistência ao stress  
*S. mutans*; *S. gordonii*

## AI-2 (Quorum Sensing)

- Mediada por moléculas auto-indutoras (AI)
- Produzidos por Gram + e Gram -
  - Sinalização intra específica
  - Sinalização interespecífica



## Mutualismo

Formação de biofilme  
*Porphyromonas gingivalis*  
*Prevotella intermedia*  
*Fusobacterium nucleatum*

**A sinalização célula-célula capacita os micro-organismos a sentir e adaptar-se a várias situações de stress ambiental e, conseqüentemente, regular a expressão de genes que influenciam a capacidade de patógenos de causarem doenças**

## Quorum sensing

- A formação de biofilmes requer a expressão coordenada de genes de células individuais regulados por *quorum sensing*
- Células bacterianas individuais produzem um ou mais compostos de baixo peso molecular que são transportados para fora da célula; se várias células produzem o mesmo composto (AI), sua concentração torna-se significativa;
- Quando a concentração atinge certo nível, uma cascata de sinalização celular é iniciada, levando à indução de vários genes;
- Algumas moléculas auto-indutoras funcionam como comunicação entre diferentes espécies e são importantes na formação de biofilmes;
- A comunicação entre células é essencial para a formação de biofilme, e a interferência nesse processo pode ser importante no controle dos biofilmes.

# Película adquirida do esmalte

Camada acelular de proteínas que se ligam avida e rapidamente à hidroxiapatita quando exposta à cavidade oral (0,1-1,0  $\mu\text{m}$ )

Base para o subsequente desenvolvimento da placa dental

## Composição química e receptores

1. **Glicoproteínas** (mucinas e aglutininas; ex gp340)
2. Proteínas ricas em prolina (PRPs); estaterina
3. Amilase, lisozima, IgA-S, lactoferrina
4. **Glicosiltransferases (Gtfs), glucanos**

## Funções biológicas

1. Lubrificação da superfície do esmalte  
(mucinas, proteínas ricas em prolina)
2. Proteção contra a desmineralização  
(permeabilidade seletiva)
3. Atividade antimicrobiana  
(lisozima, lactoferrina, lactoperoxidase, IgA-S)
4. Oferece receptores para os microrganismos colonizarem a superfície dental  
(glicoproteínas, PRPs, estaterinas, Gtfs, etc)

## Placa dental:

Biofilme complexo que se desenvolve na superfície dos dentes e é um precursor direto de cárie e doenças periodontais



# Etapas e formação do biofilme dental

## A. Fase de colonização inicial

Adesão de bactérias à superfície

## B. Fase de acumulação ou estruturação

Crescimento bacteriano em microcolônias sésseis

## C. Maturação do biofilme

## D. Fase de dispersão



# Etapas e formação do biofilme dental

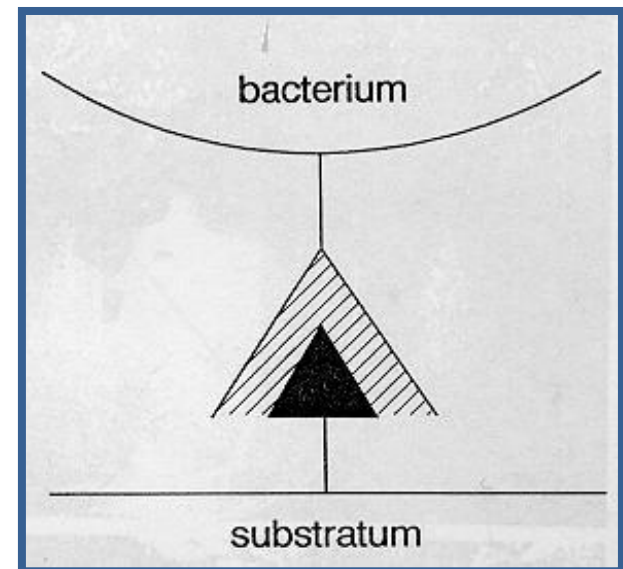
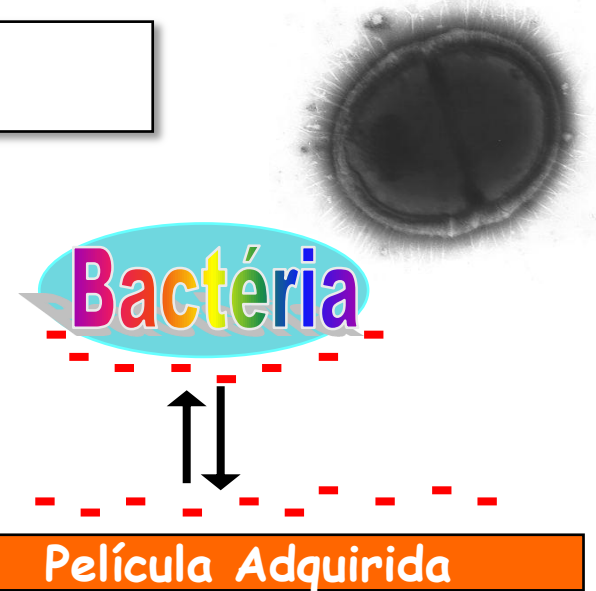
## A. Fase de colonização inicial

1. Células planctônicas ligam-se à superfície dental por ligações de **baixa afinidade e baixa eficiência** (forças de Van der Waals e hidrofóbicas)

∴ Reversível

2. Células adsorvidas ligam-se à superfície através de interações de **maior afinidade e eficiência**, usando **adesinas** específicas e seus **respectivos** receptores

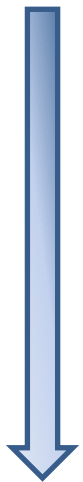
∴ Irreversível



# A. Fase inicial de colonização

## COLONIZADORES INICIAIS

*Streptococcus* spp (> 60%)



*S. gordonii*

*S. sanguinis*

*S. oralis*

*S. mitis*

*S. cristatus*

*S. mutans*

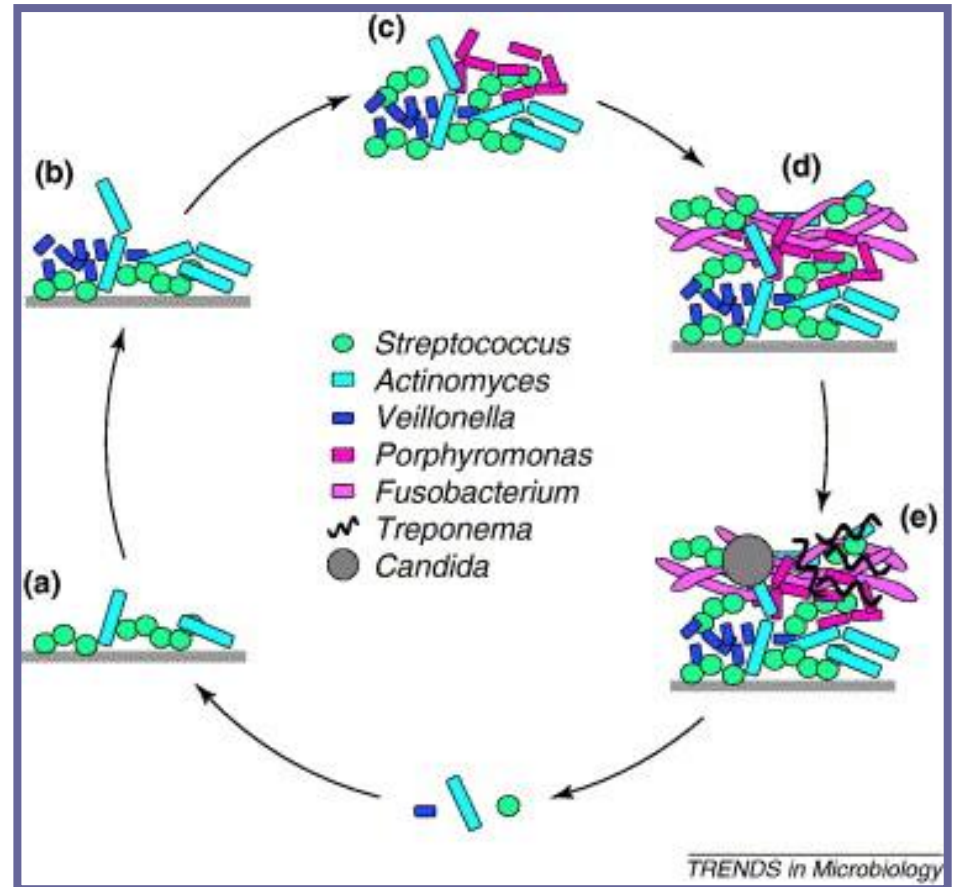
*Actinomyces* spp

*Veillonella* spp

*Gemella* spp

*Granulicatella* spp

*Kingella* spp



Jenkinson & Lamont . Trends in Microbiology, 2005.

## Mecanismos de adesão inicial

<b>Adesinas</b>	<b>Receptores</b>
Lectinas	Oligossacarídeos
Proteína	Proteína
Interações iônicas ou hidrofóbicas	

## Locais preferenciais de colonização

<b>Espécies</b>	<b>Locais de colonização</b>
<i>S. sanguinis</i>	Superfícies lisas (V ou L/P)
<i>Actinomyces spp</i>	Margem gengival
<i>S. mutans</i>	Superfícies lisas IP

## B. Fase de acumulação ou estruturação

# DESENVOLVIMENTO DE MICROCOLÔNIAS

1. Divisão celular

+

2. Aderência interbacteriana (co-adesão)

agregação de novas bactérias

recrutamento de células planctônicas adicionais



Crescimento rápido



Aumento da diversidade

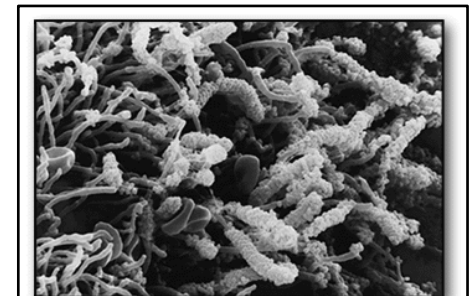
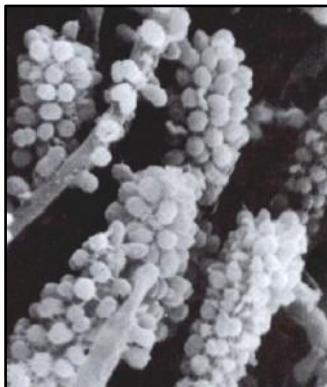


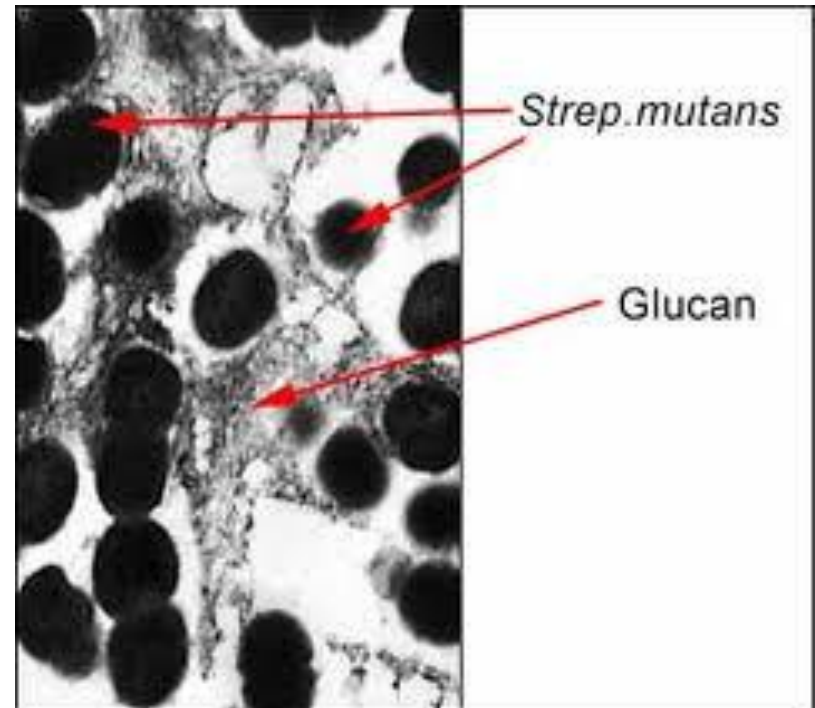
Figure 7: SEM of mature human dental plaque demonstrating corn cob formation. Bar = 10 microns at an original magnification of 2,020. Courtesy of Dr. Charles Cobb, University of Missouri-Kansas City.

# Mecanismos de co-adesão

## a. Através de PEC

*S. mutans + S. mutans*  
*Actinomyces + Actinomyces*

(Co-adesão intra-específica)



b. Através de componentes de saliva e do fluido gengival

*S. sanguinis* + *S. sanguinis*

*S. gordonii* + *S. gordonii*

*S. oralis* + *S. oralis*

*Actinomyces spp* + *Actinomyces spp*

(Co-adesão intra-específica)

c. Através de constituintes de superfície de bactérias de diferentes espécies associados a fímbrias ou a fibrilas

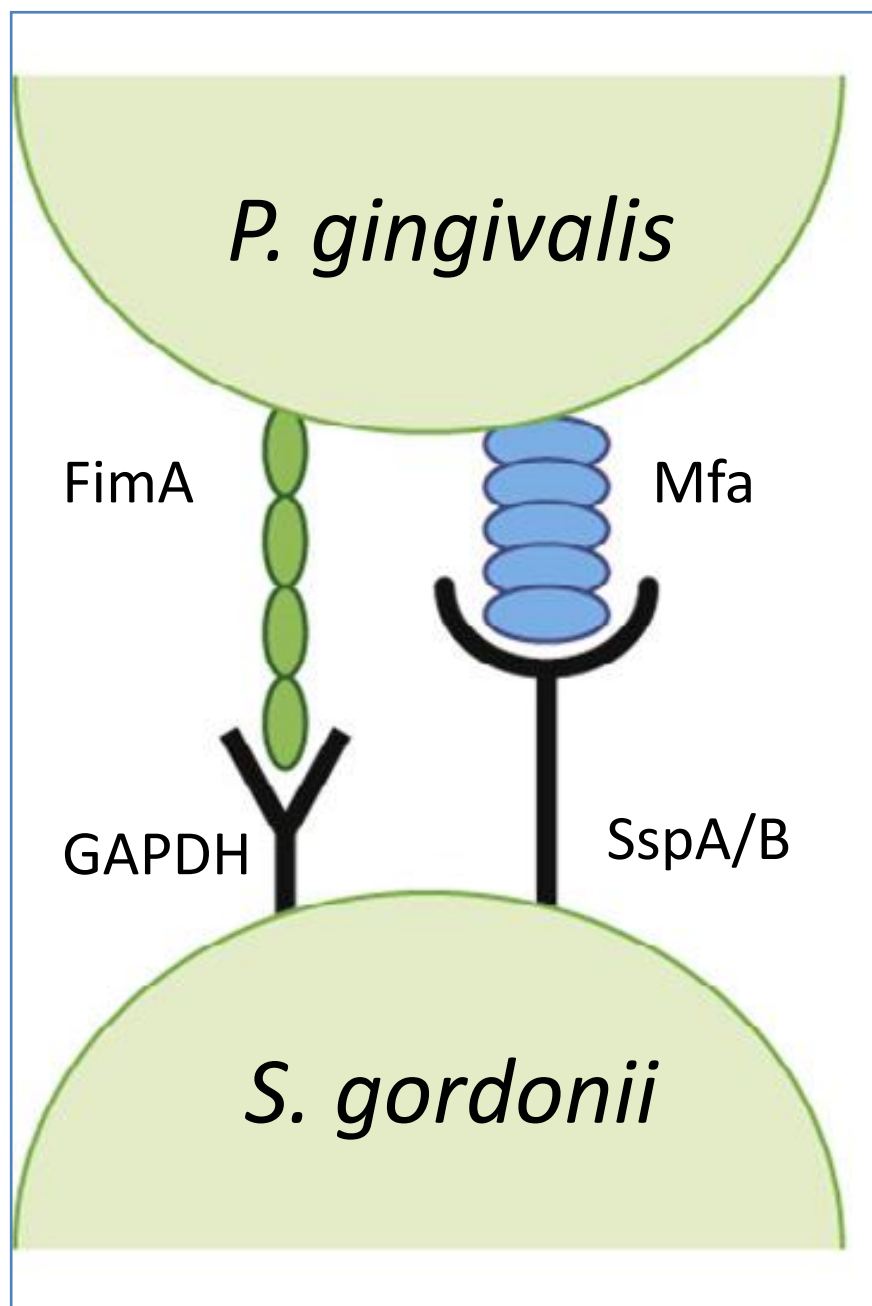
Ex: *S. gordonii* + *P. gingivalis*

*Fusobacterium nucleatum* + *S. sanguinis*

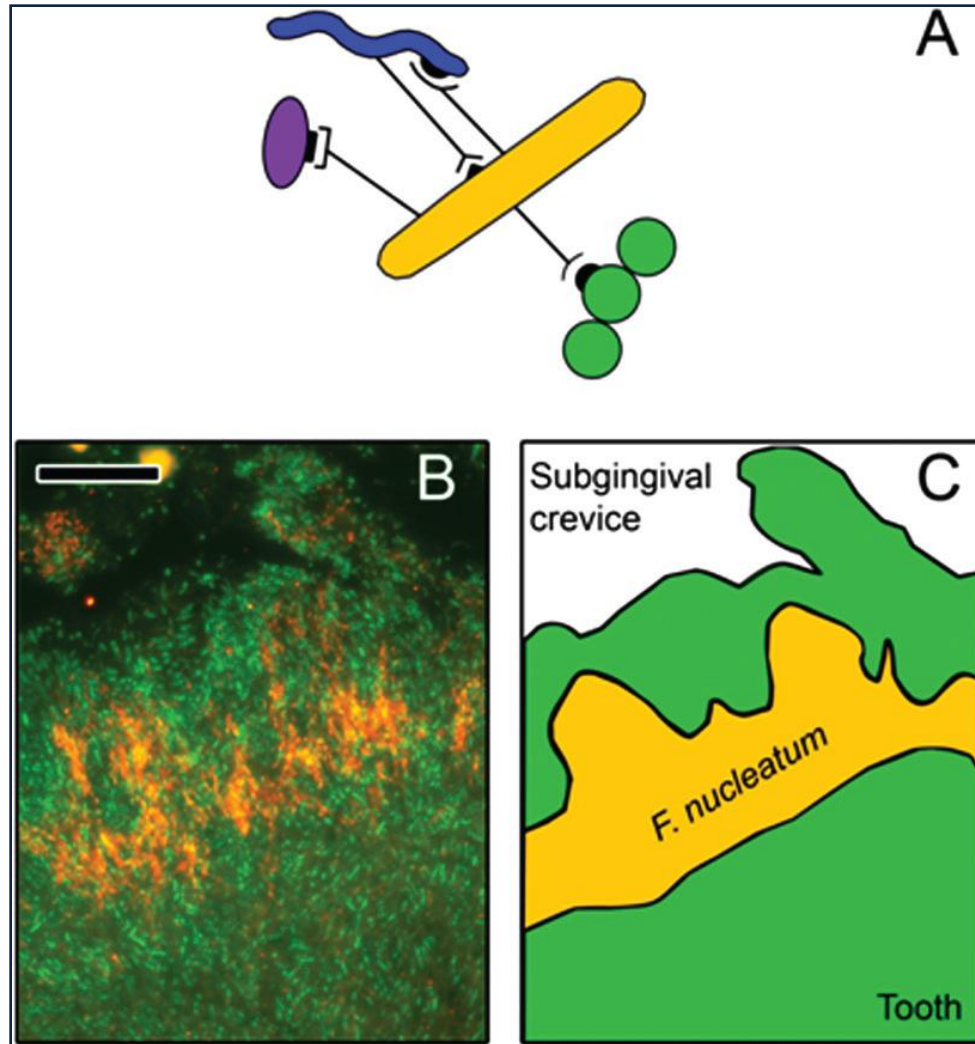
(Co-adesão inter-específica e inter-genérica)



Aumento da diversidade



# *Fusobacterium nucleatum* como ponte entre colonizadores iniciais e tardios



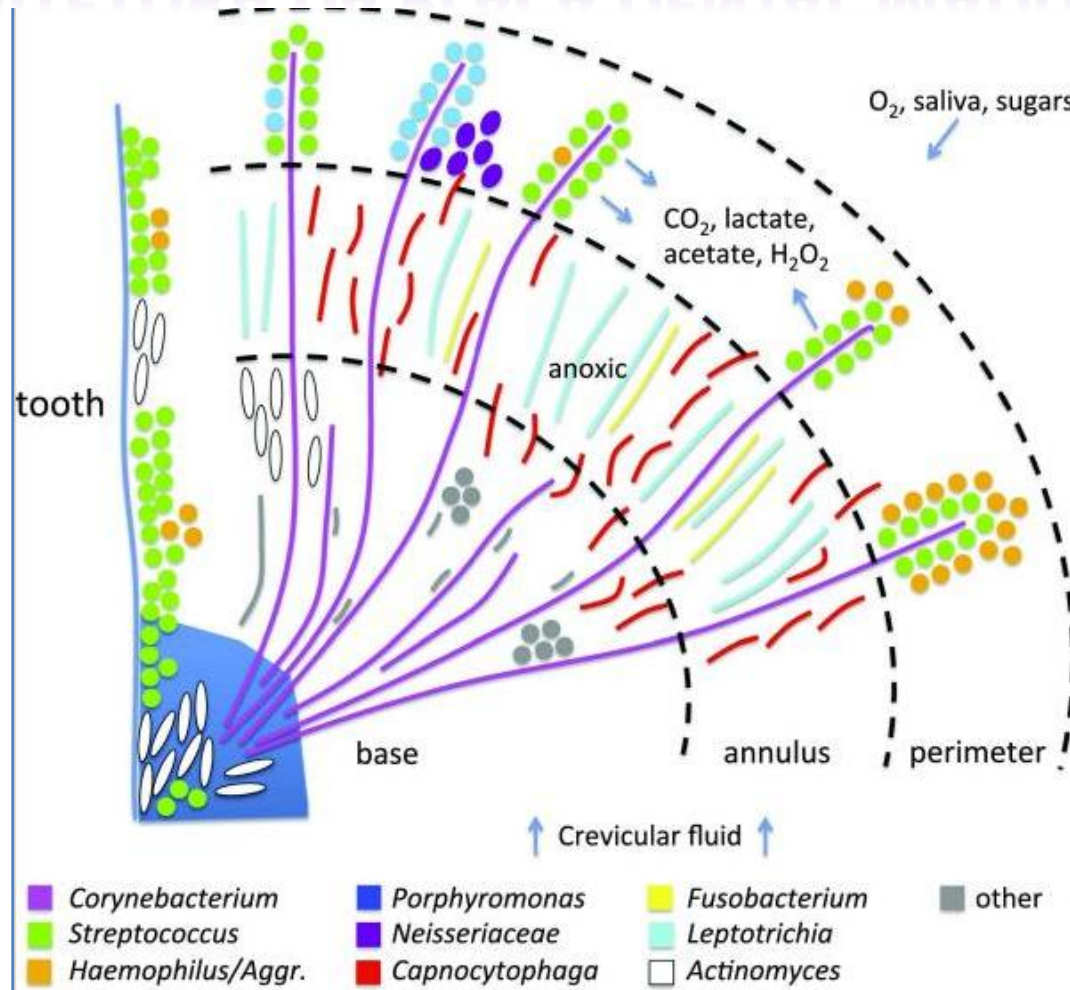


# C. Maturação do biofilme

Sucessão ecológica → Formação da placa dental madura

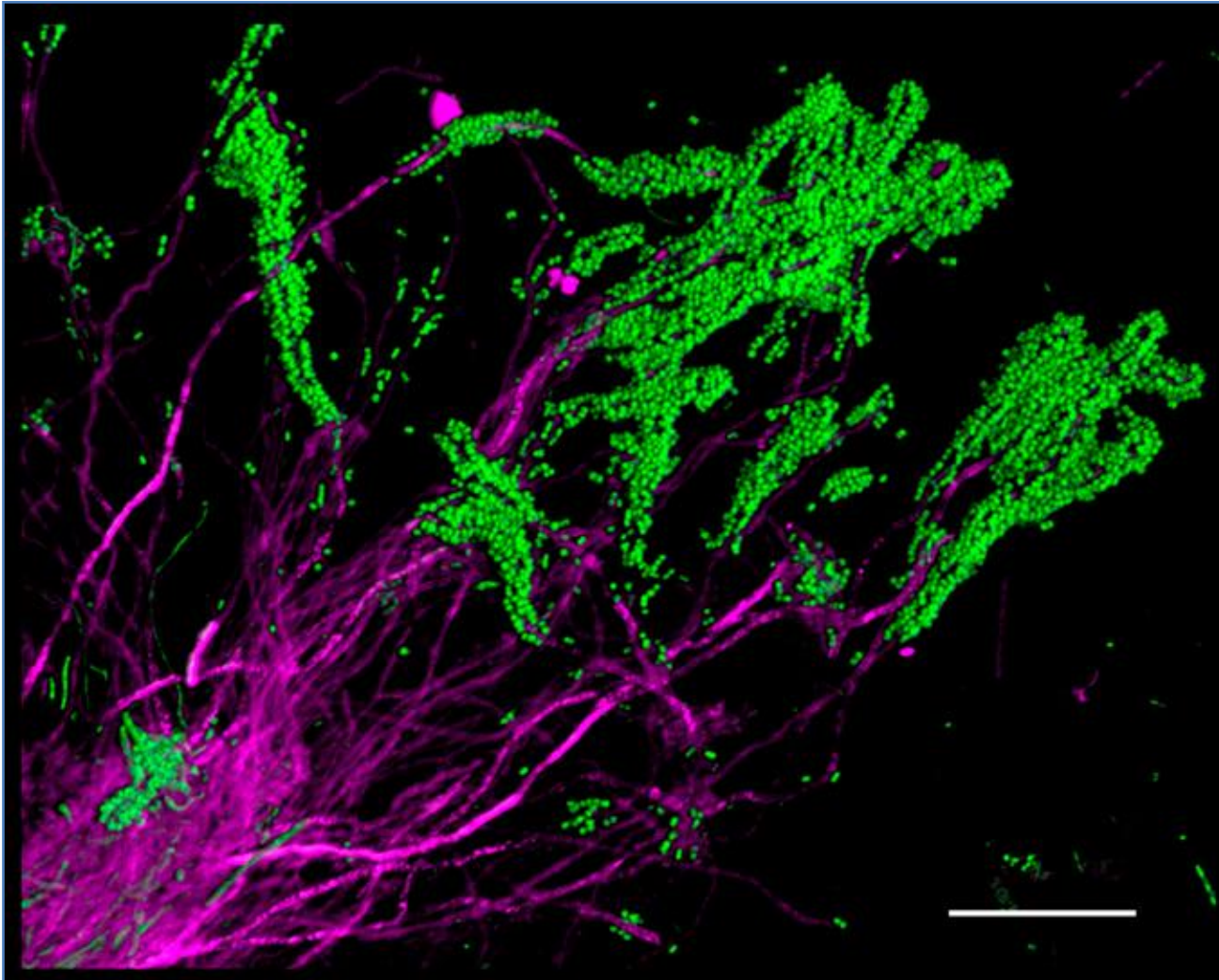
## ARQUITETURA DA PLACA DENTAL MADURA

*Corynebacterium matruchotii*  
na estrutura da placa dental madura  
(espigas de milho e ouriços)

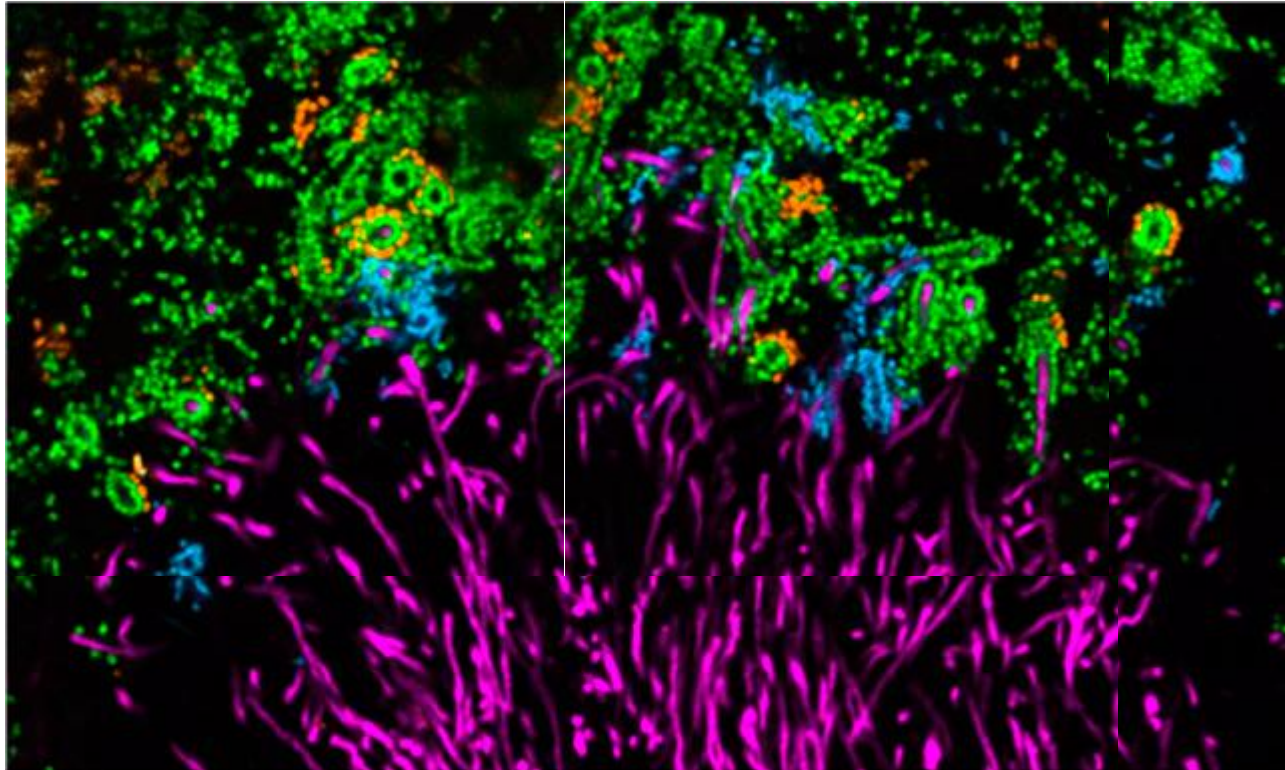



# PLACA DENTAL SUPRAGENGIVAL


Estruturas de espiga de milho formadas por *Corynebacterium matruchotii* (magenta) e cocos (verde) na placa




# PLACA DENTAL SUPRAGENGIVAL




 *Corynebacterium*


 *Streptococcus*

 *Porphyromonas*

 *Haemophilus/Aggregatibacter*

 *Fusobacterium*

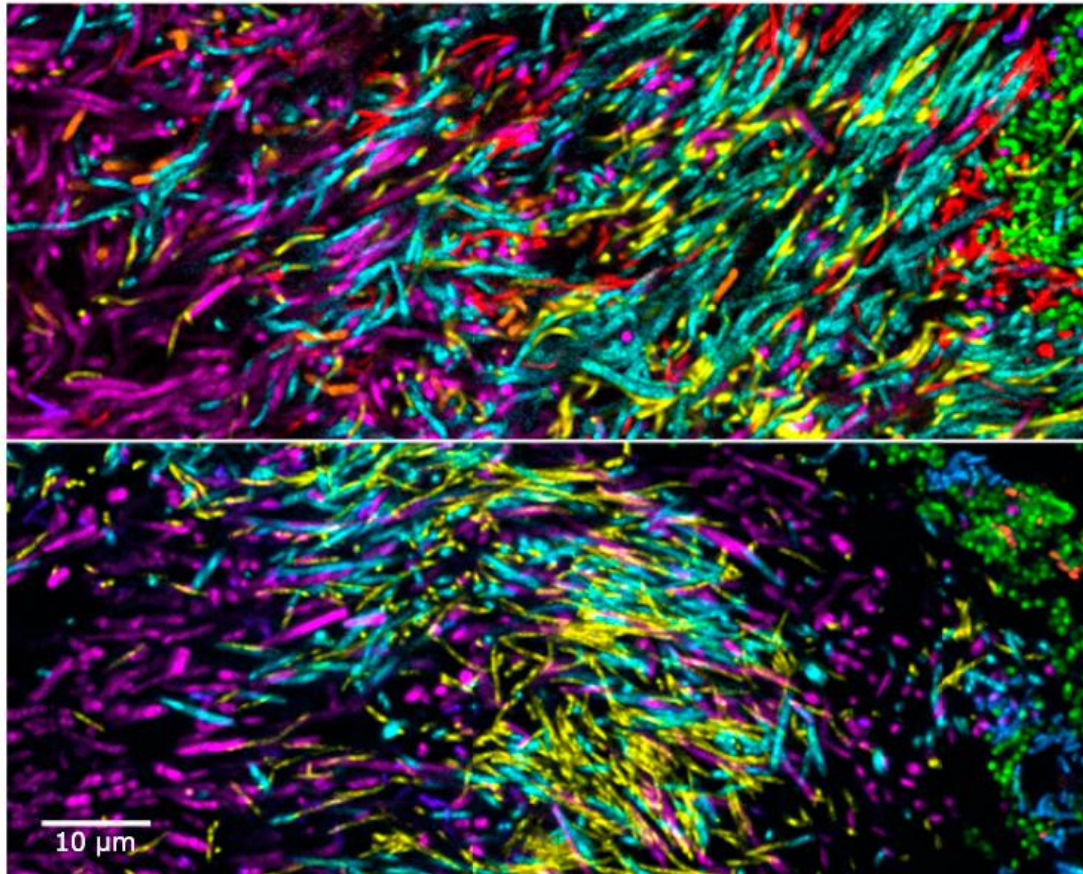
 *Leptotrichia*






 *Capnocytophaga*

 *Neisseriaceae*

# PLACA DENTAL SUPRAGENGIVAL

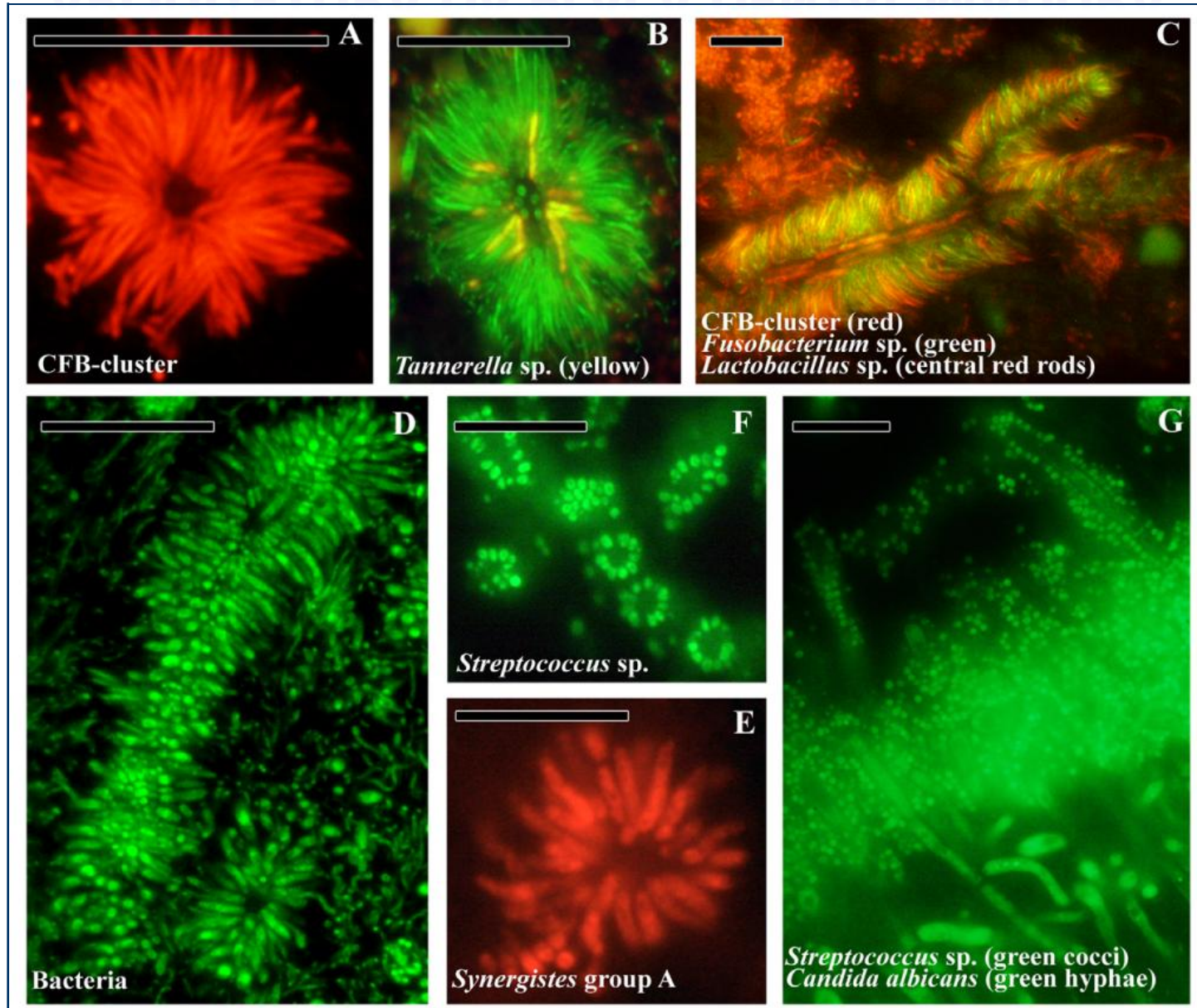
Filamentos e bacilos de vários gêneros formando estrutura na forma de ouriço



 <i>Corynebacterium</i>	 <i>Fusobacterium</i>
 <i>Streptococcus</i>	 <i>Leptotrichia</i>
 <i>Porphyromonas</i>	 <i>Capnocytophaga</i>
 <i>Haemophilus/Aggregatibacter</i>	 <i>Neisseriaceae</i>

Welch et al. 2016 PNAS

# ARQUITETURA DA PLACA DENTAL MADURA



# PLACA DENTAL SUPRAGENGIVAL

## Espigas de milho

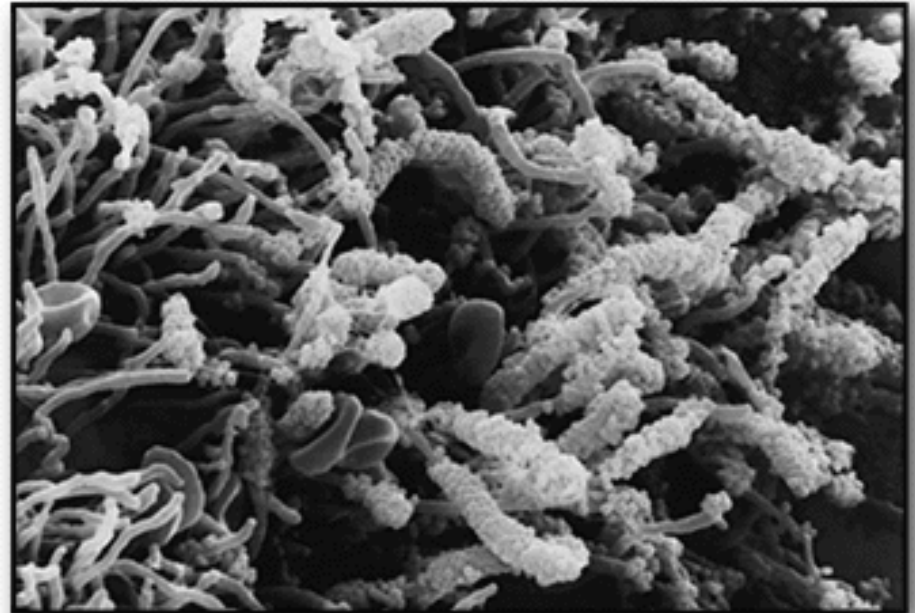
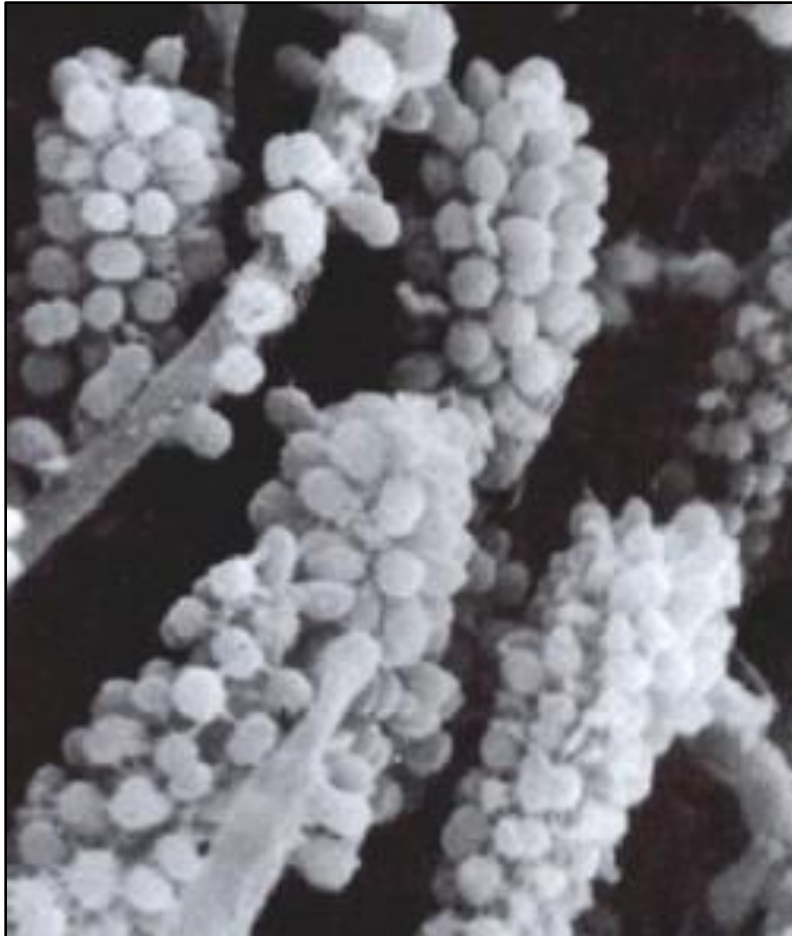


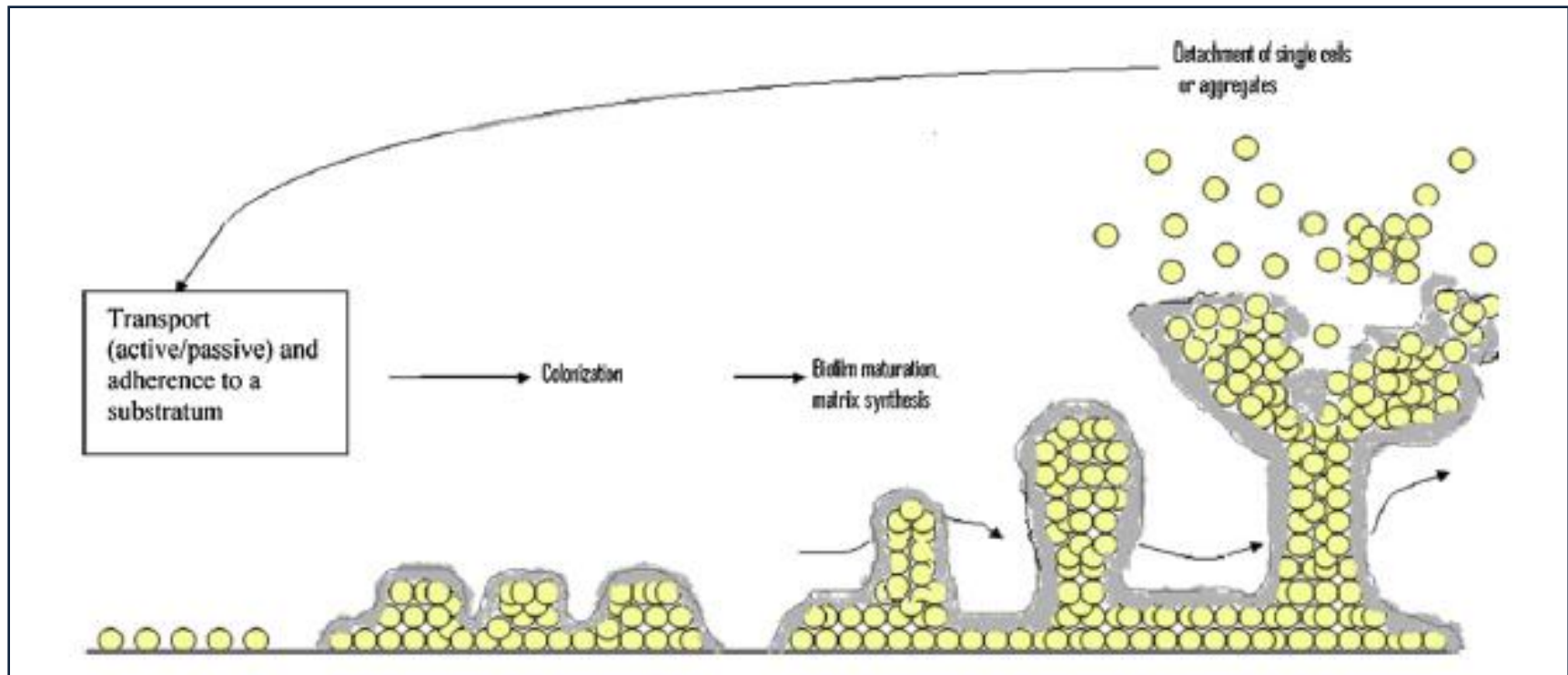
Figure 7: SEM of mature human dental plaque demonstrating corn cob formation. Bar = 10 microns at an original magnification of 2,020.

Courtesy of Dr. Charles Cobb. University of Missouri-Kansas City.

## D. Fase de dispersão

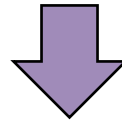
### Liberação de células bacterianas

Bactérias associadas ao biofilme retornam à existência planctônica

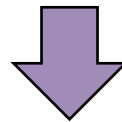


*S. mutans*: Proteína P1 é proteína formadora de amilóides

Incorporação de D- Aminoácidos na parede celular  
(D-tirosina; D-leucina; D-triptofano; D-metionina)



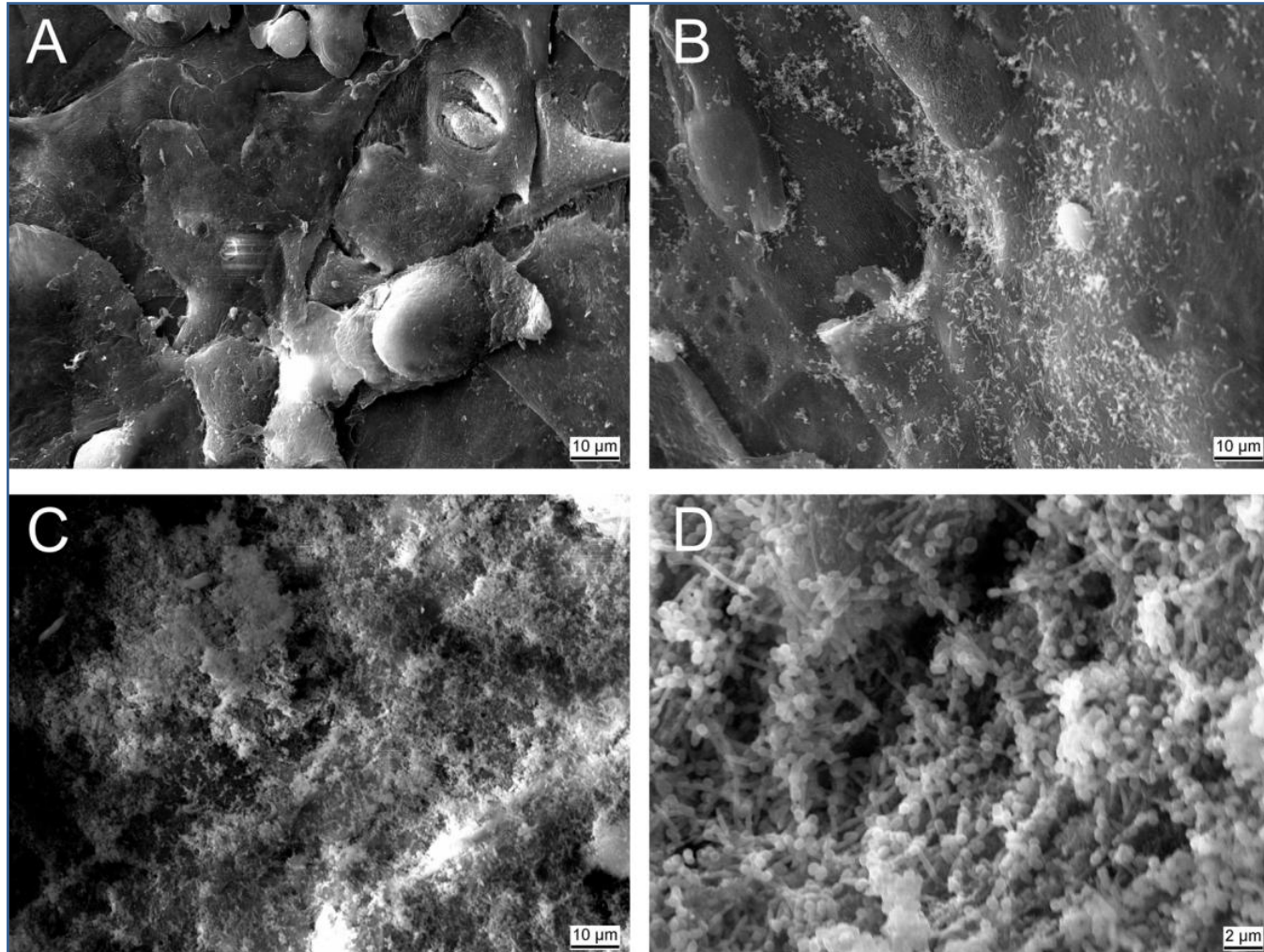
Liberação de fibras amilóides bacterianas  
ancoradas pela matriz extracelular



Dispersão do biofilme de *S. mutans*



# Biofilme sobre epitélio gengival



# Biofilme sobre epitélio gengival

Legend:

