

# **Biofilmes Orais**

## **Mecanismos de formação, arquitetura e potencial patogênico**

- **Profa. Dra. Maria Regina Simionato**

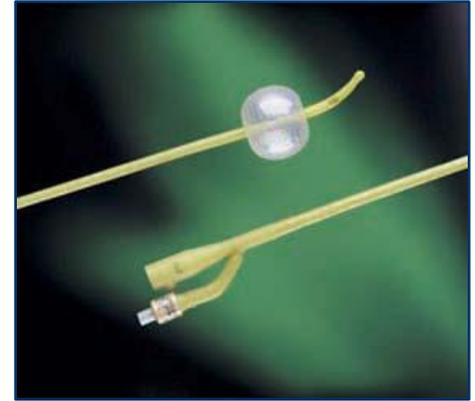
The mouth is an open system, rather like a river, with a continual flow of liquid washing out particles that do not attach and hold fast to surfaces.

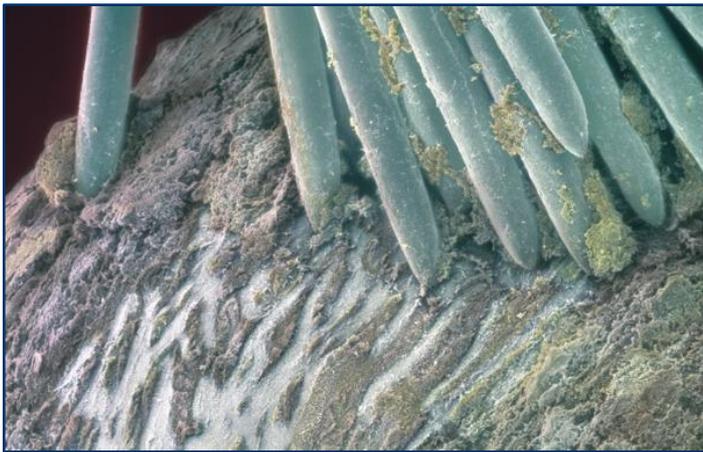
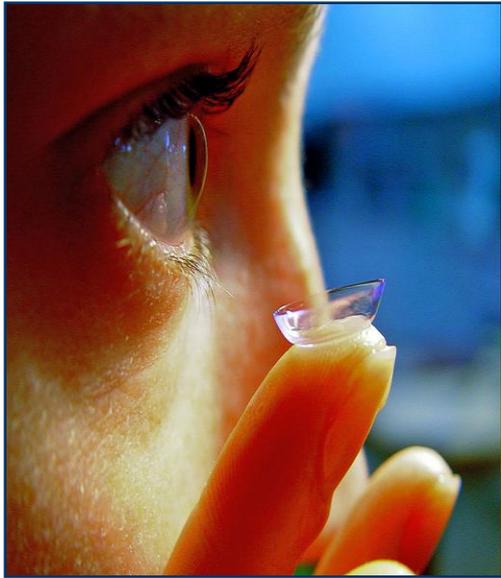
Nobbs et al. 2011. J. Dent Res 90: 1271-8



**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**

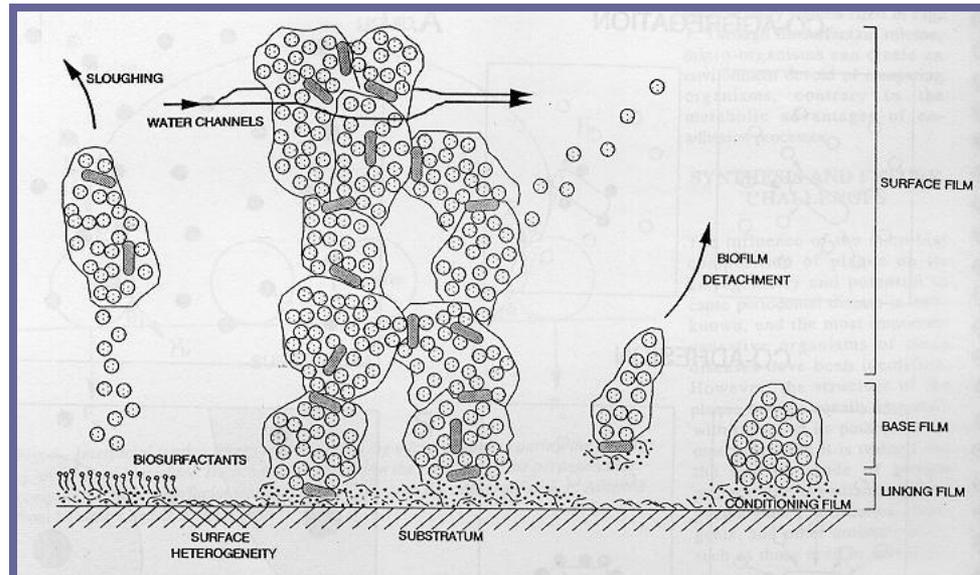




Biofilme na superfície dental  
=  
Placa dental

# 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



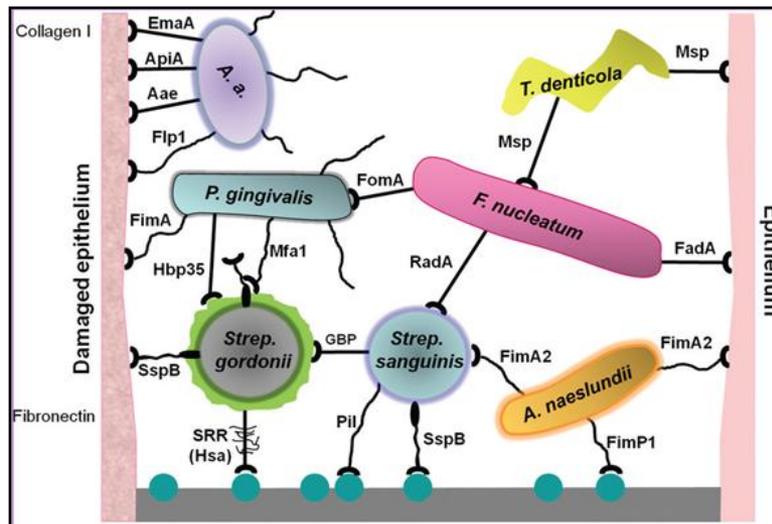
- ③ **Matriz funcional** formada por polímeros extracelulares (bacterianos e do hospedeiro) - colonização, proteção das defesas do hospedeiro e dessecação

# Vantagens para os microrganismos que vivem em biofilmes orais

① Persistência em ecossistemas com fluxo

② Heterogeneidade espacial e ambiental

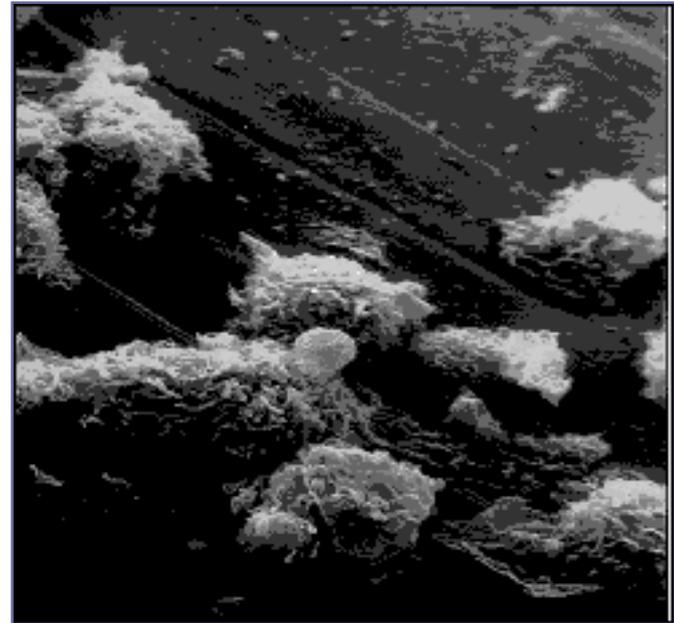
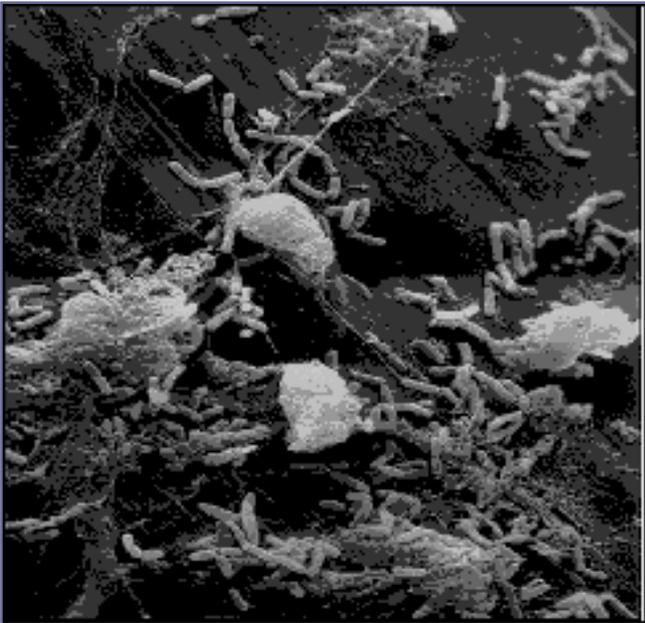
Ampla variedade de habitats com diversidade nutricional, de concentração de oxigênio e de pH



### 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

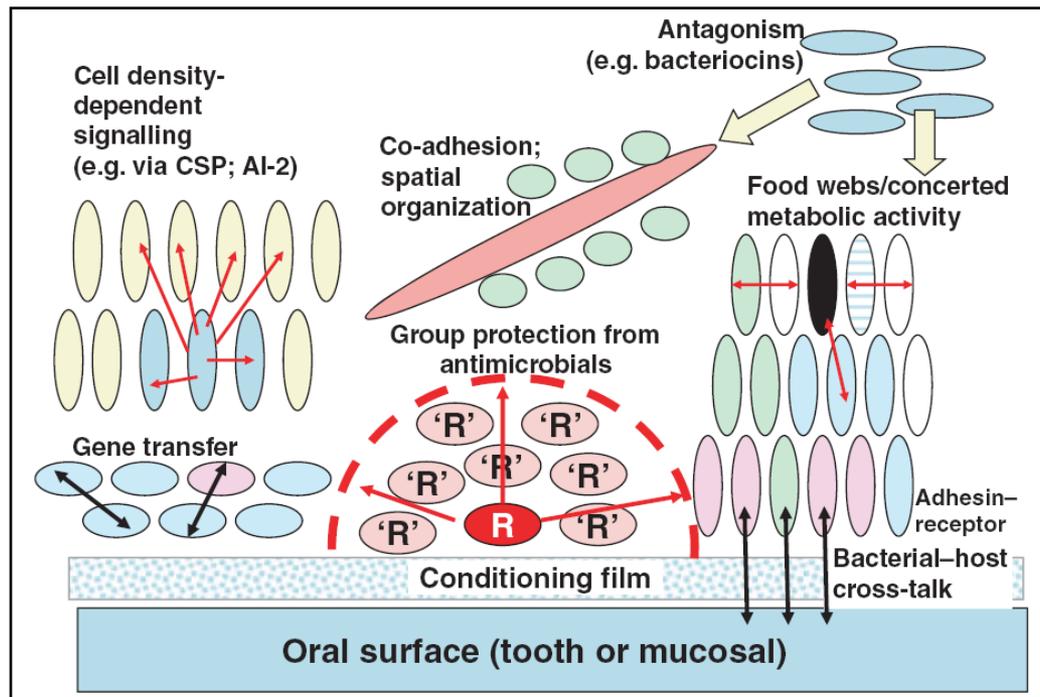


# Proximidade, disposição espacial possibilitam:

④ Aquisição de novos genes, expressão de novas características



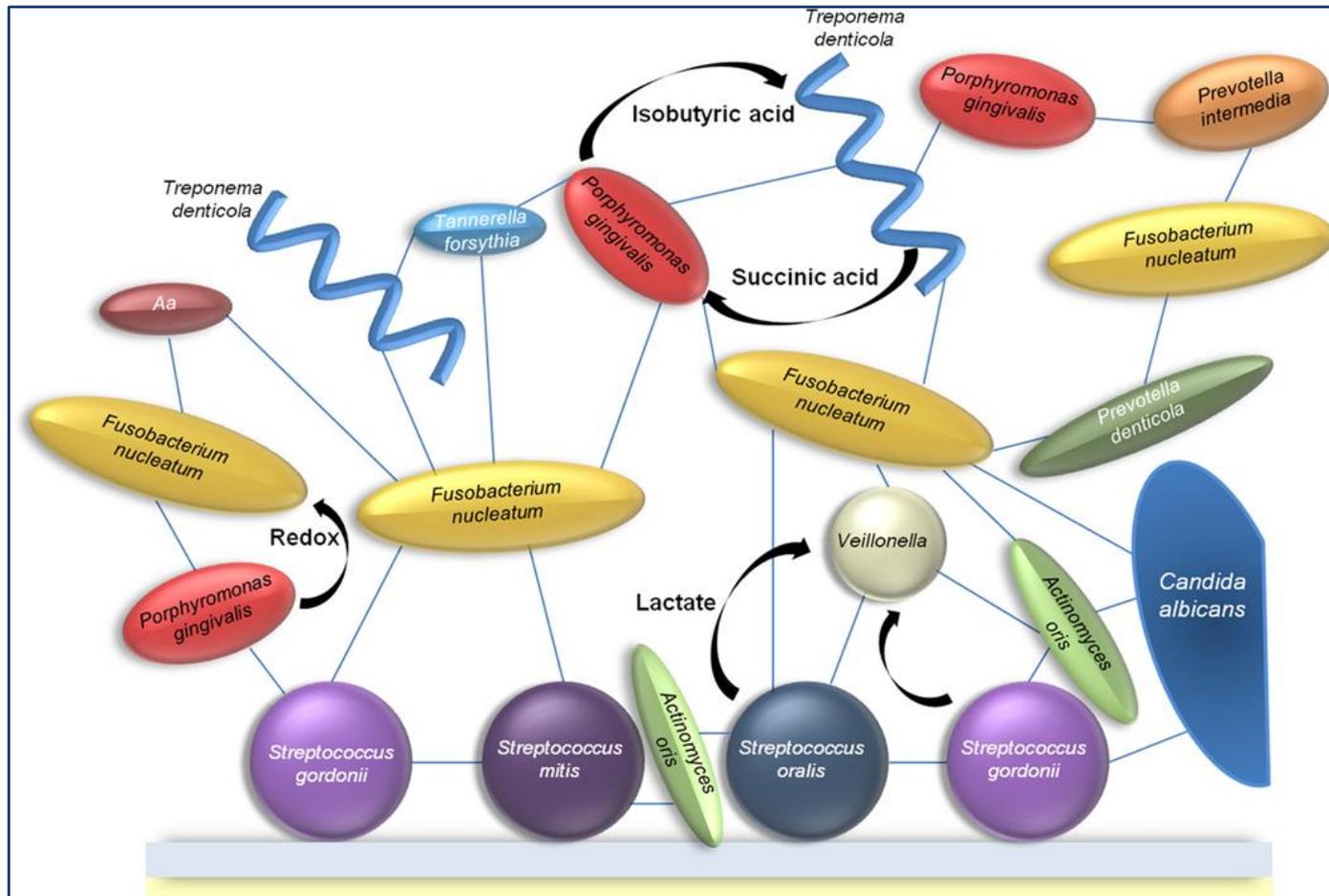
Expressão de um conjunto de genes que resulta em **fenótipos distintos** de seus pares planctônicos



## ⑤ Metabolismo mais eficiente

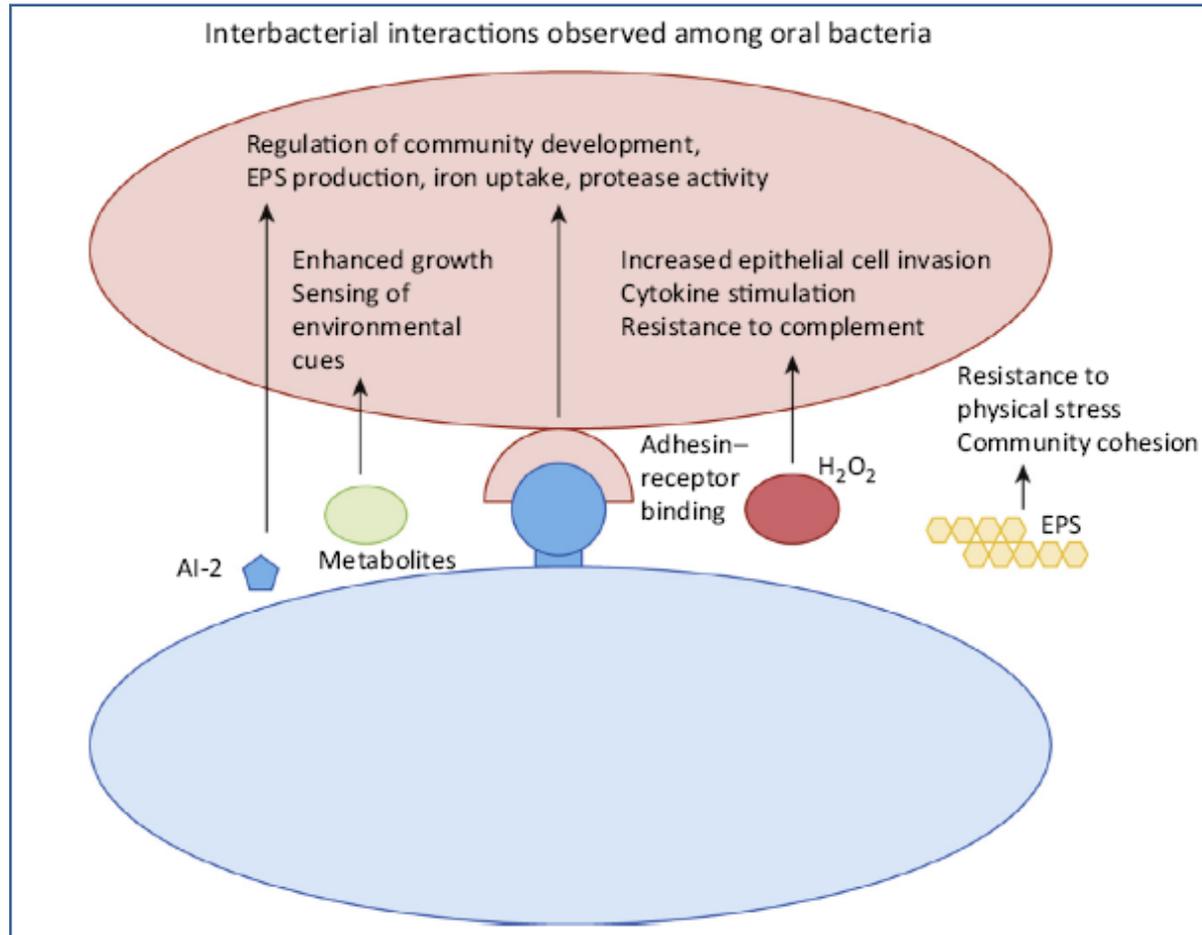
- Maior disponibilidade de nutrientes
- Compartilhamento ou complementação enzimática

### 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 (PA)

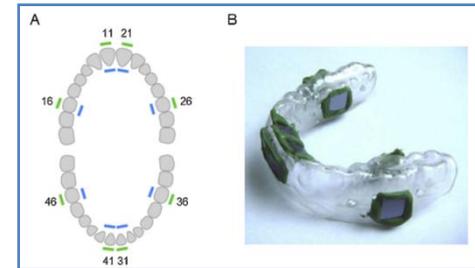
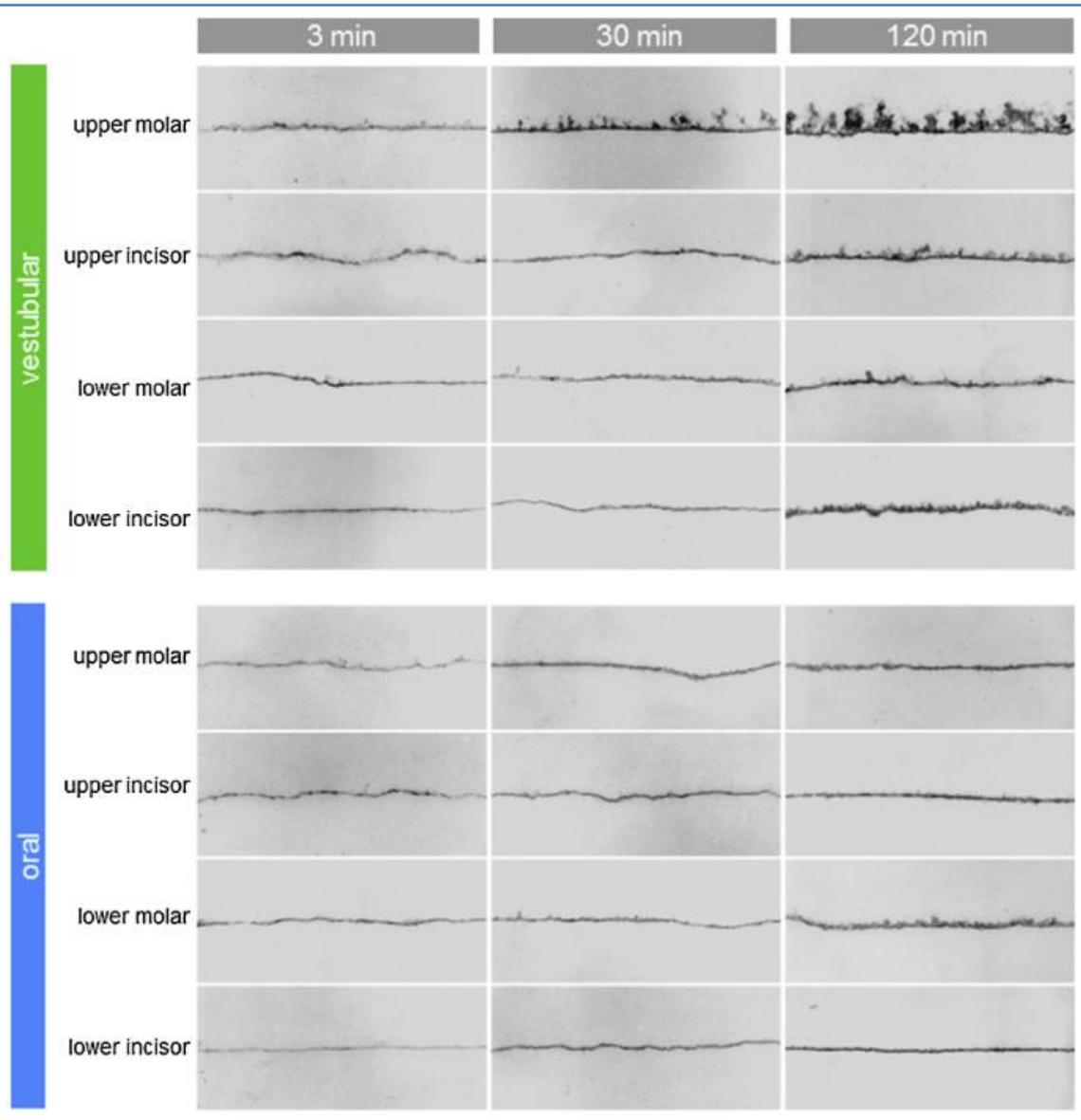
Camada acelular de proteínas que se ligam avida e rapidamente à hidroxiapatita quando exposta à cavidade oral (0,1-1,0  $\mu\text{m}$ )

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**

# Película adquirida do esmalte (PA)



Güth-Thiel et al. 2019

Espessura (nm) varia de acordo com :

- indivíduo
- região
- tempo

## Funções biológicas

1. Lubrificação da superfície do esmalte  
(mucinas, proteínas ricas em prolina)
2. Regulação da homeostase mineral  
(retarda a desmineralização)
3. Atividade antimicrobiana  
(lisozima, lactoferrina, lactoperoxidase, IgA-S)
4. Determina a colonização bacteriana  
(reconhecimento de receptores)

# Placa dental:

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



Cálculo dental

# Etapas e formação do biofilme dental

## A. Fase de colonização inicial

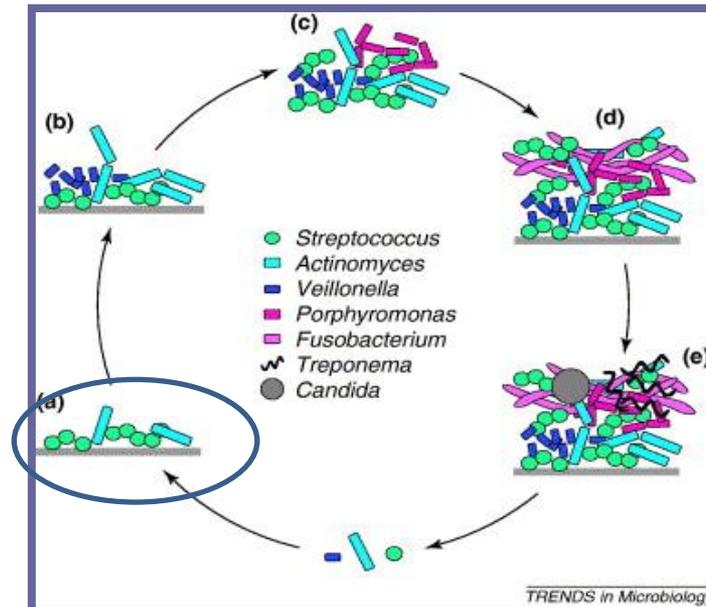
Adesão de micro-organismos à superfície da PA

## B. Fase de acumulação e maturação do biofilme

Crescimento bacteriano em microcolônias sésseis e sucessão microbiana

## C. Fase de dispersão

Bactérias são liberadas e podem colonizar outras superfícies



Jenkinson & Lamont.  
Trends in Microbiology, 2005.

# Etapas e formação do biofilme dental

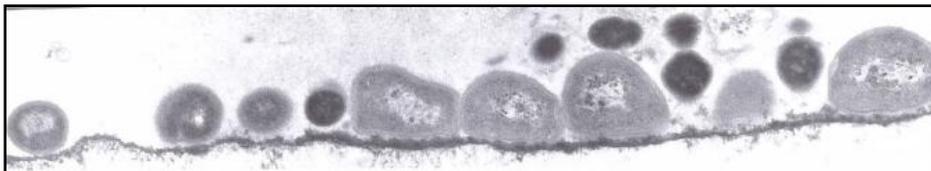
## A. Fase de colonização inicial - predominam ligações de bactérias à PA

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

∴ Reversível

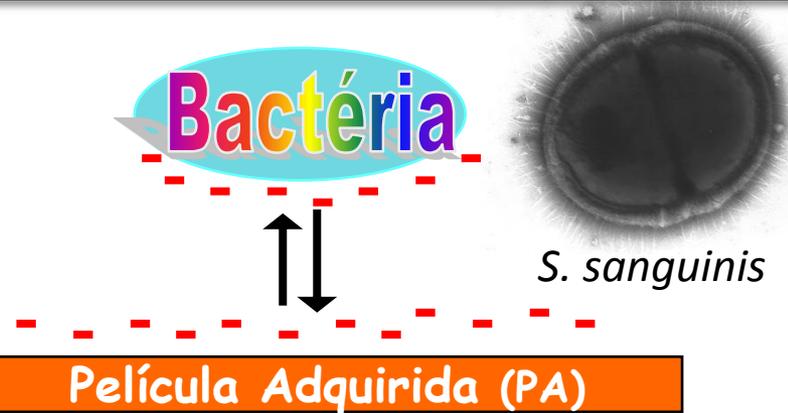
2. Células adsorvidas ligam-se à superfície da PA através de interações de **maior afinidade e eficiência**, usando **adesinas** específicas e seus **respectivos** receptores

∴ Irreversível

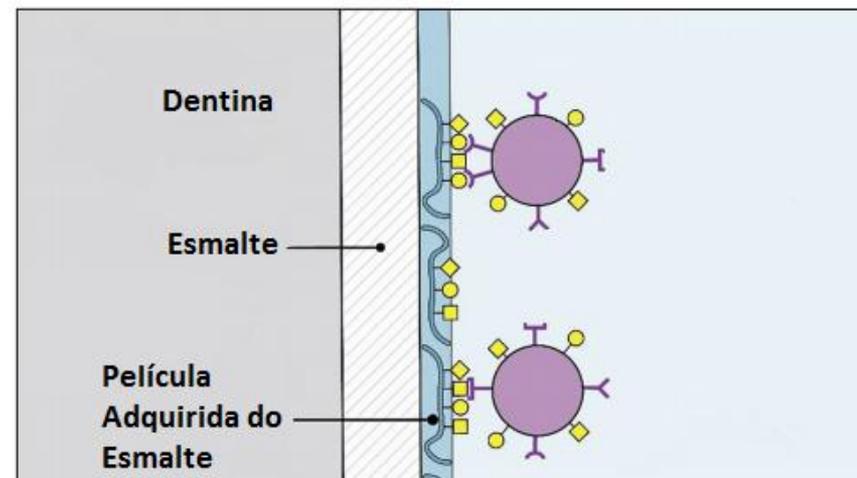


HD Schroeder, University of Zurich

In Lamont et al. Oral Microbiology and Immunology 2006



Ligações entre adesinas e receptores na PA



Modificado de Cross e Ruhl. Cell Immunol 2018

18

# A. Fase de colonização inicial

## COLONIZADORES INICIAIS

*Streptococcus spp* (> 60%)

*S. gordonii*

*S. sanguinis*

*S. oralis*

*S. mitis*

*S. cristatus*

*S. mutans*

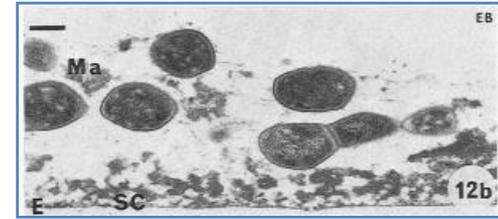
*Actinomyces spp*

*Veillonella spp*

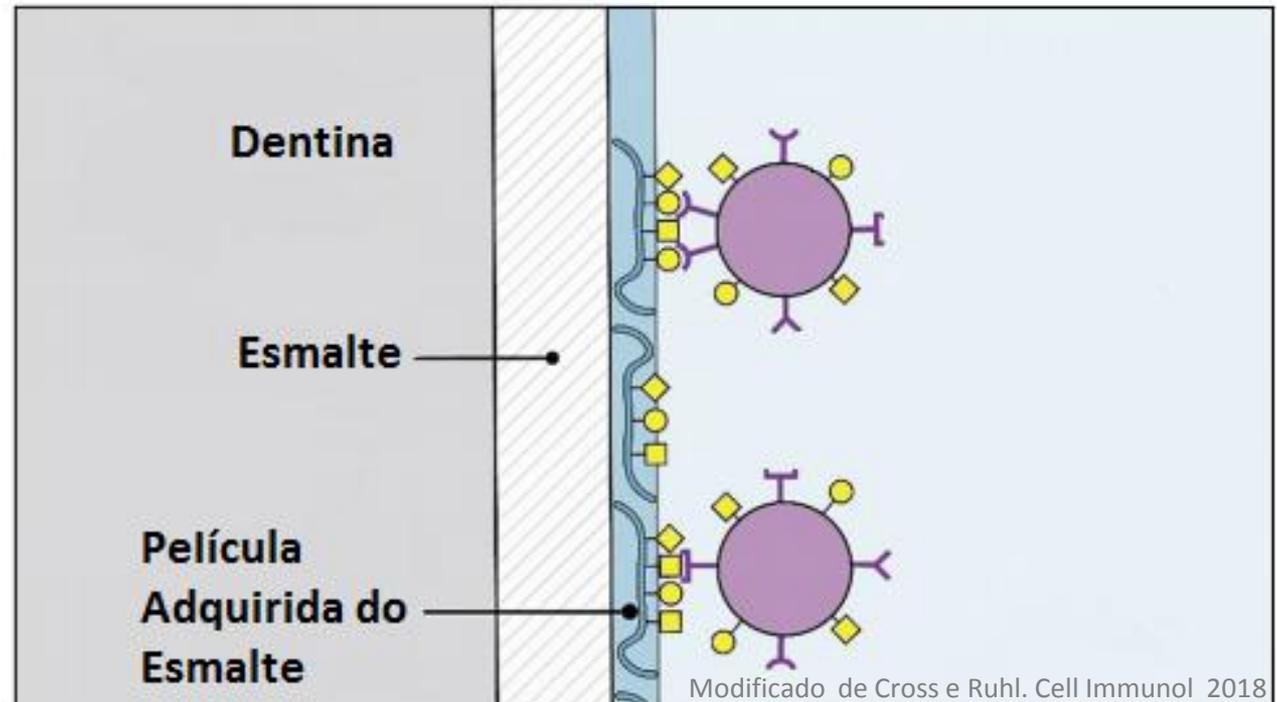
*Gemella spp*

*Granulicatella spp*

*Kingella spp*



HD Schroeder, University of Zurich  
In Lamont et al. Oral Microbiology and Immunology 2006



## Mecanismos de adesão inicial

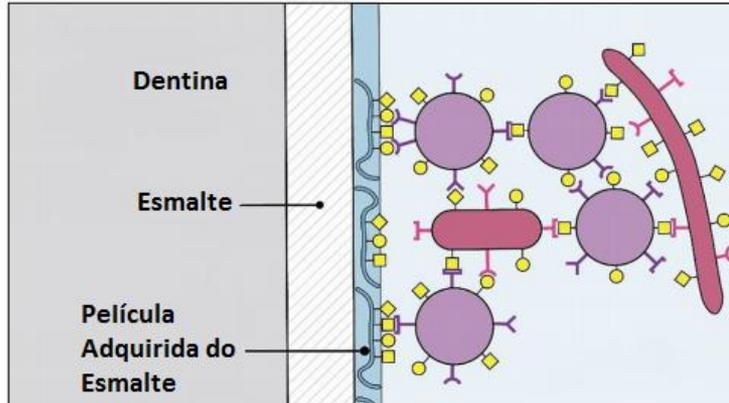
<b>Adesinas</b>	<b>Receptores</b>
Lectinas	Oligossacarídeos
Proteína	Proteína
Interações iônicas ou hidrofóbicas	

## Locais preferenciais de colonização

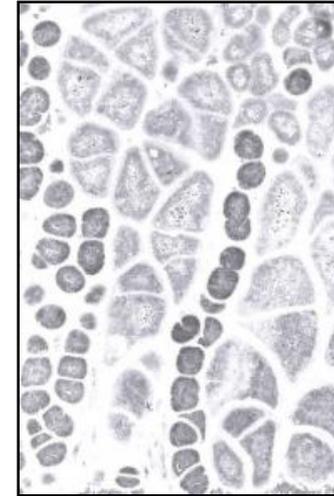
<b>Espécies</b>	<b>Locais de colonização</b>
<i>S. sanguinis</i>	Superfícies lisas (V ou L/P)
<i>Actinomyces spp</i>	Margem gengival
<i>S. mutans</i>	Superfícies lisas IP

# B. Fase de acumulação e maturação do biofilme

## DESENVOLVIMENTO DE MICROCOLÔNIAS



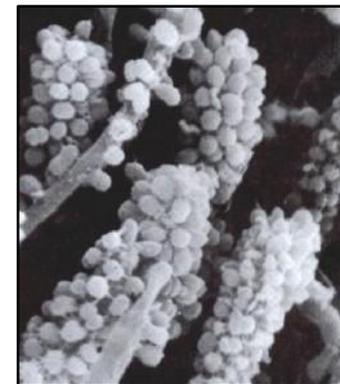
Modificado de Cross e Ruhl. Cell Immunol 2018



HD Schroeder, University of Zurich

In Lamont et al. Oral Microbiology and Immunology 2006

1. Divisão celular
2. Aderência interbacteriana (co-adesão de novas bactérias)
3. Crescimento rápido
4. Aumento da diversidade (sucessão)
5. Maturação → comunidade em equilíbrio



# Mecanismos de co-adesão

## ① Através de Polissacarídeos Extracelulares (PEC)

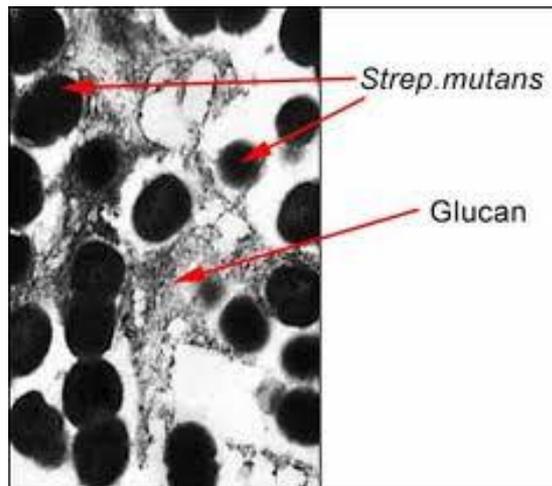
*S. mutans + S. mutans*

*Actinomyces + Actinomyces*



Mesma espécie

(Co-adesão intra-específica)



② Através de componentes de saliva e do fluido gengival

*S. sanguinis* + *S. sanguinis*

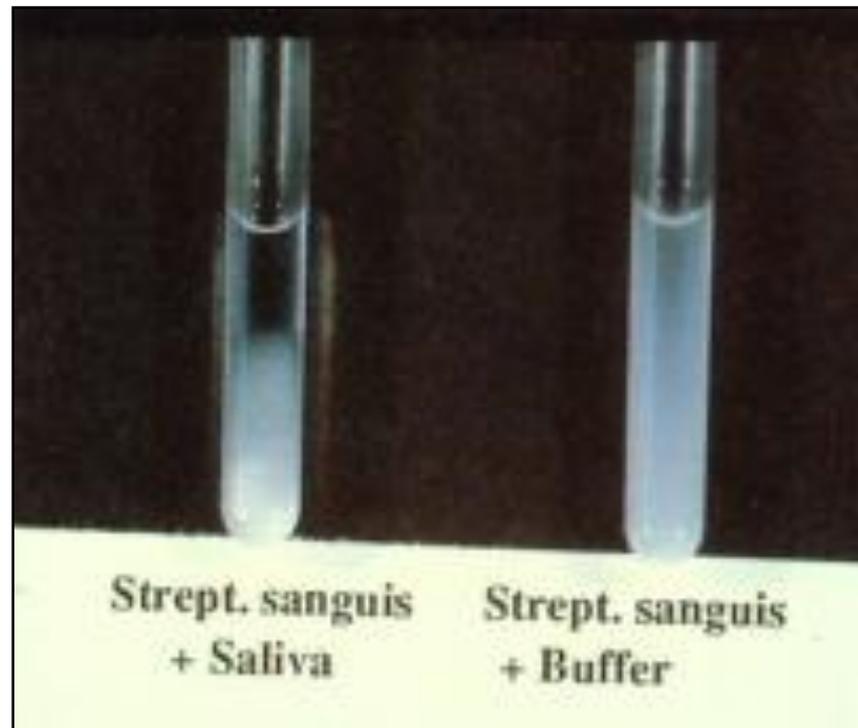
*S. gordonii* + *S. gordonii*

*S. oralis* + *S. oralis*

*Actinomyces spp* + *Actinomyces spp*

Mesma espécie

(Co-adesão intra-específica)



③ Através de constituintes de superfície de bactérias de diferentes espécies associados a fímbrias ou a fibrilas

*S. gordonii* + *P. gingivalis*

*Fusobacterium nucleatum* + *S. sanguinis*

Espécies ou gêneros diferentes

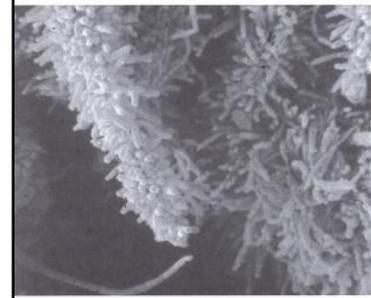
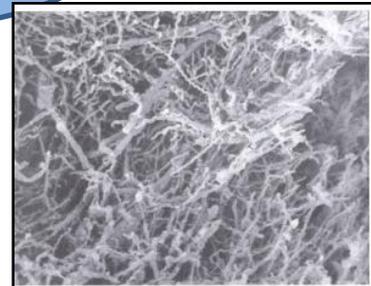


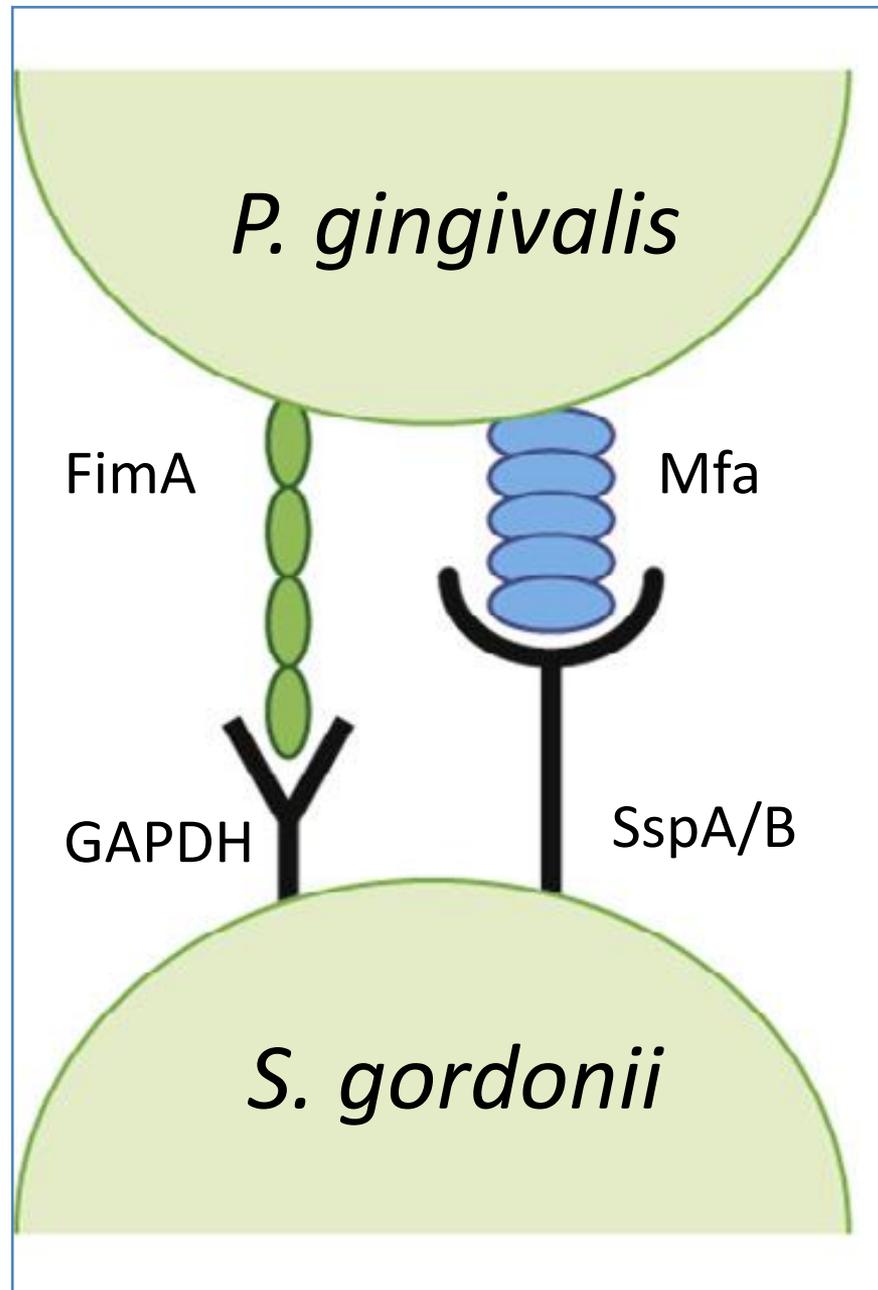
(Co-adesão inter-específica e inter-genérica)



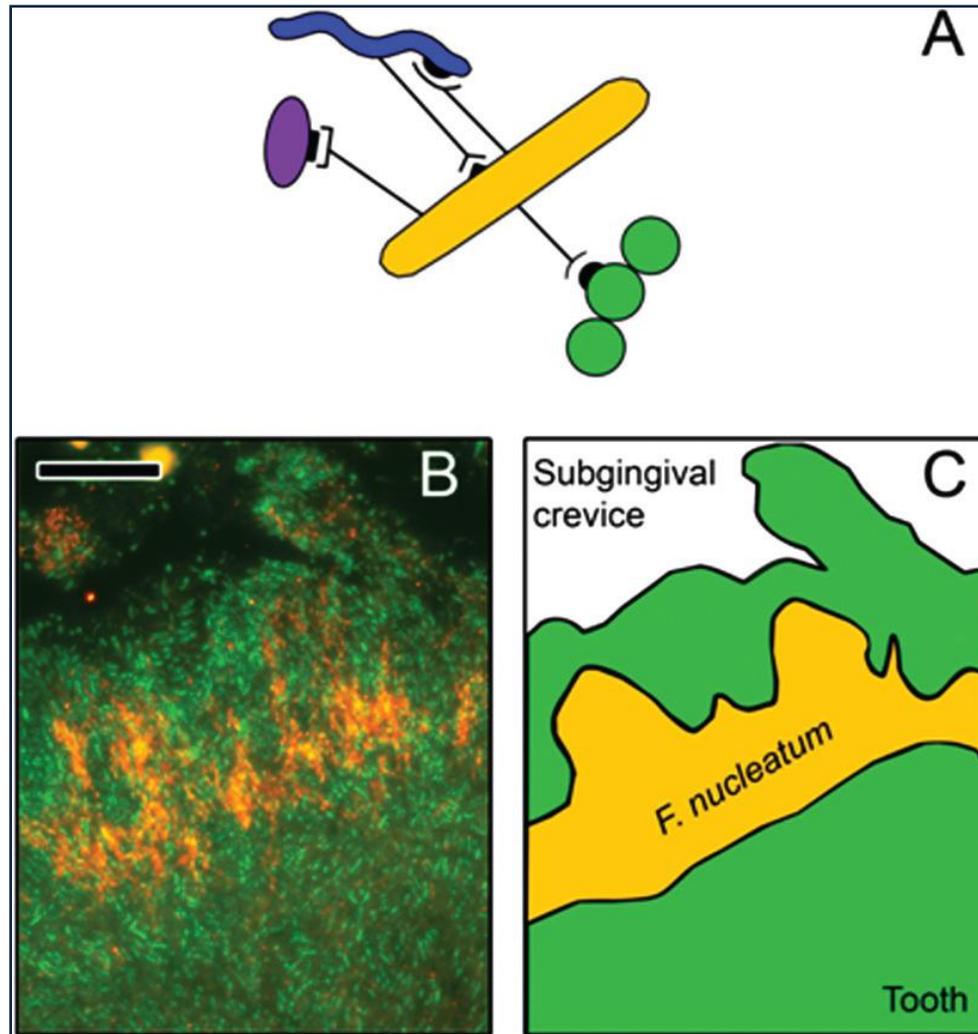
Aumento da diversidade

Espigas de milho, rosetas, cepilhos





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

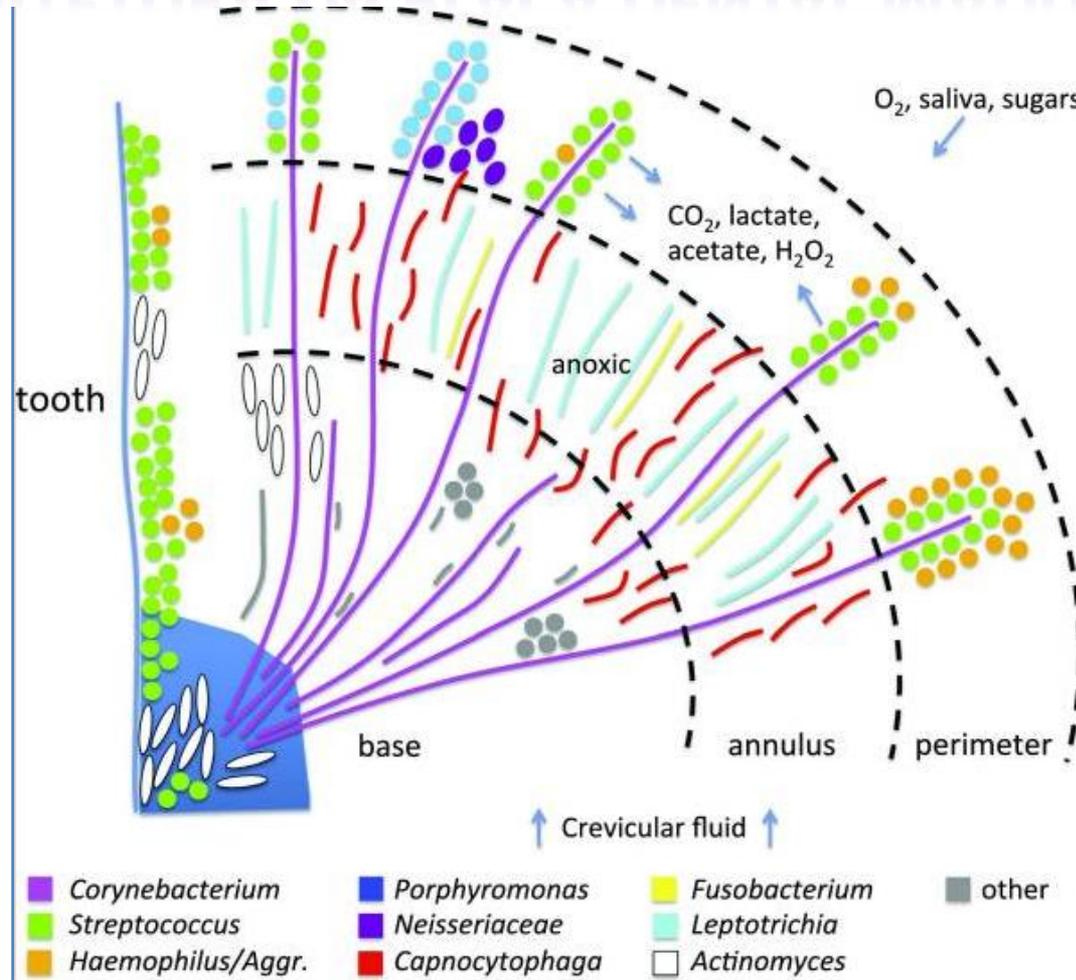


# MATURAÇÃO DO BIOFILME

Sucessão ecológica → Formação da placa dental madura

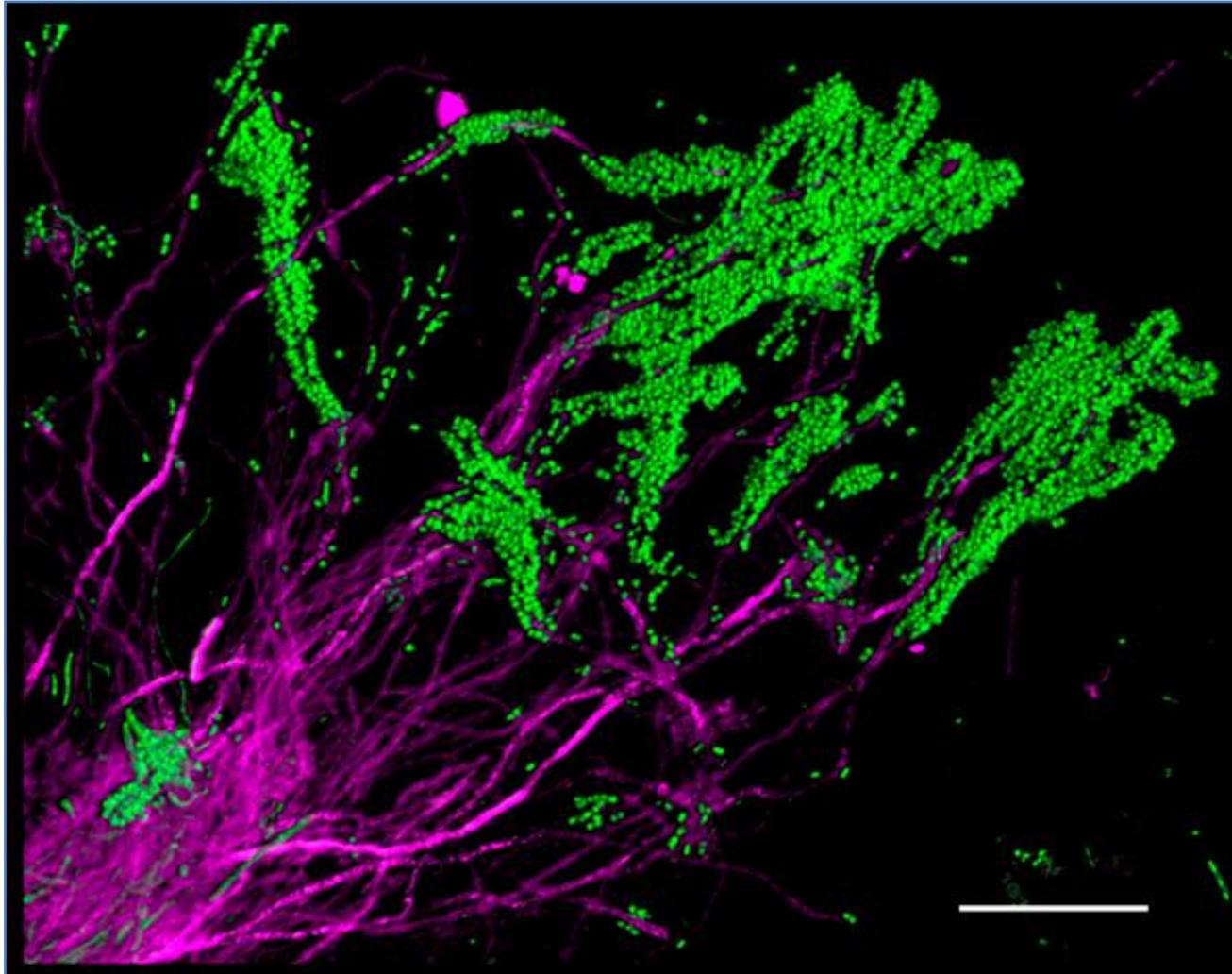
## ARQUITETURA DA PLACA DENTAL MADURA

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

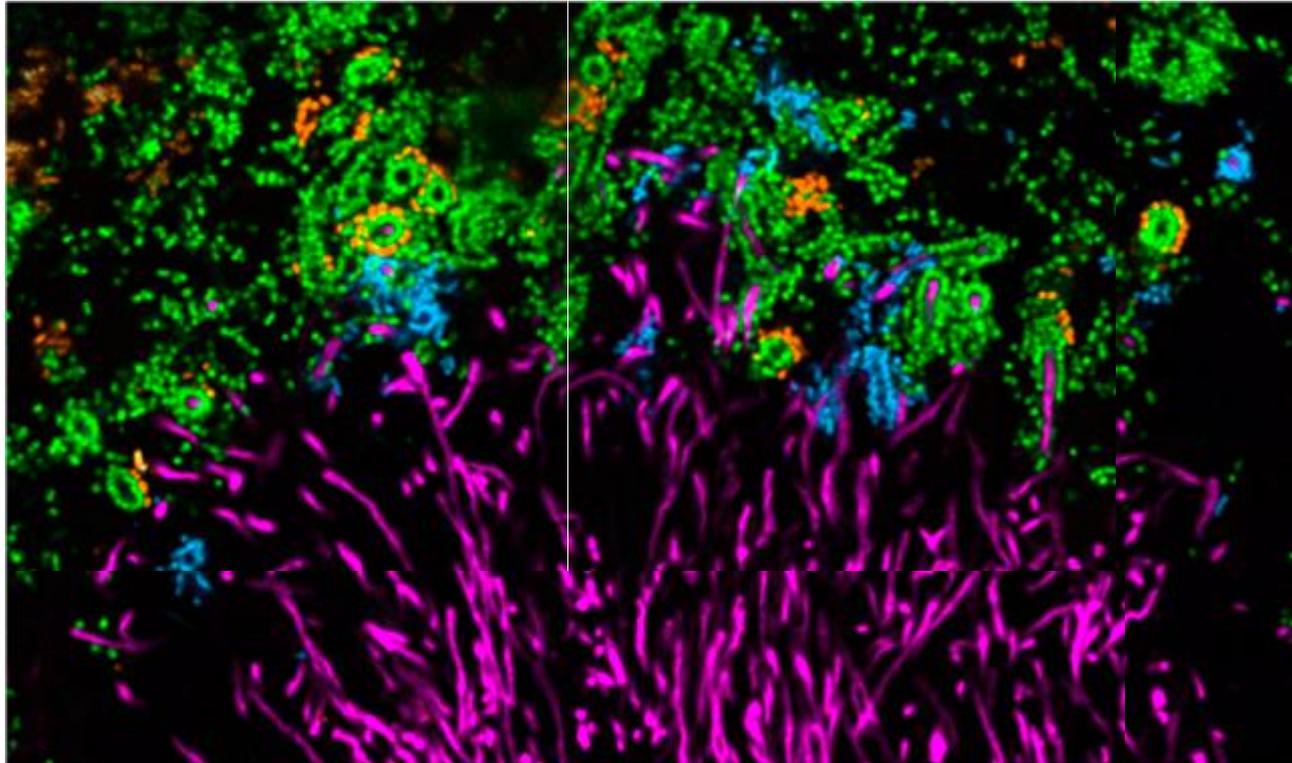


# PLACA DENTAL SUPRAGENGIVAL

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

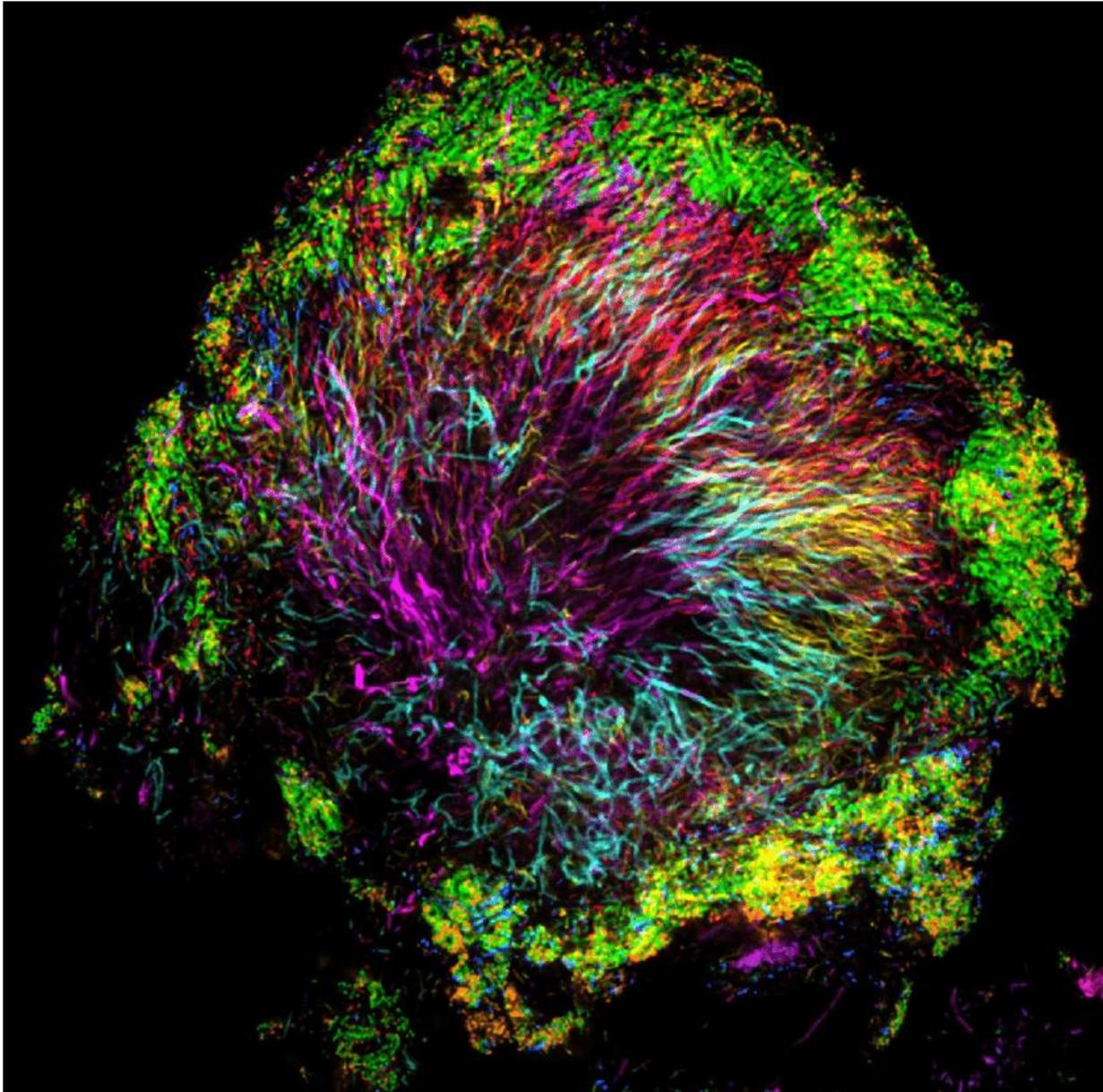


# PLACA DENTAL SUPRAGENGIVAL



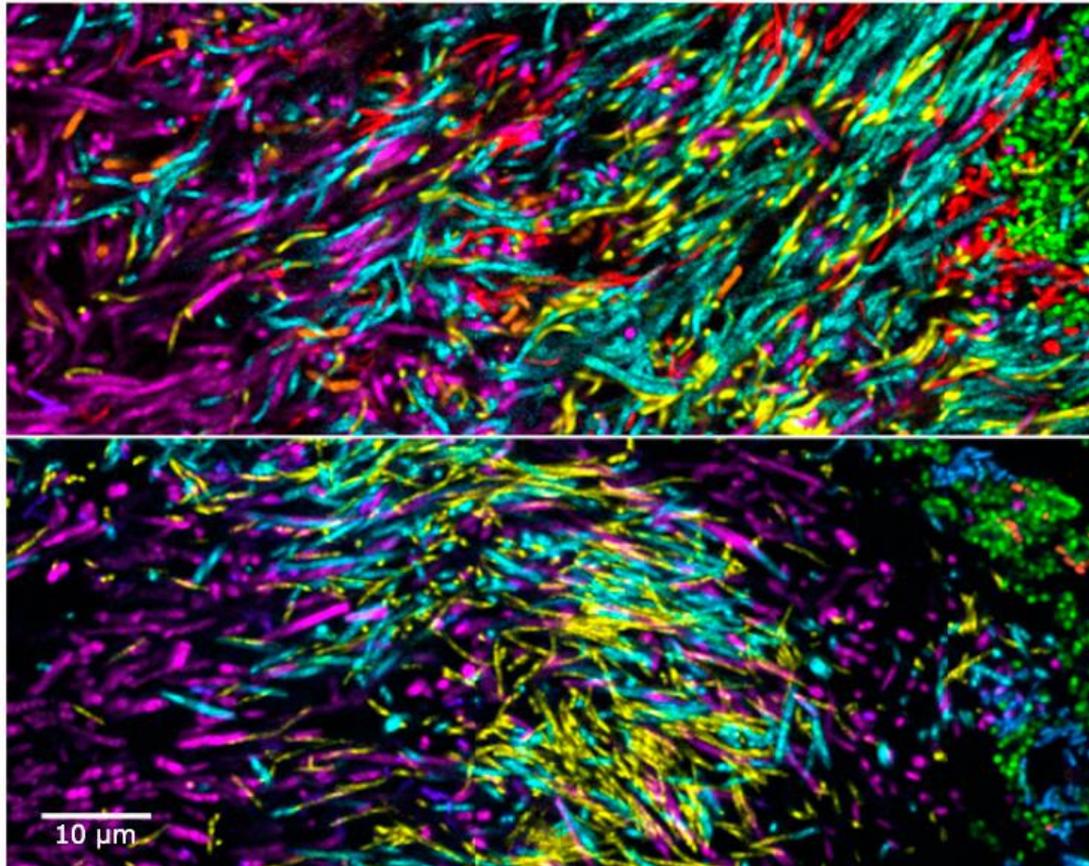
- |  |   |
|--|---|
|  <i>Corynebacterium</i>             |  <i>Fusobacterium</i>  |
|  <i>Streptococcus</i>               |  <i>Leptotrichia</i>   |
|  <i>Porphyromonas</i>               |  <i>Capnocytophaga</i> |
|  <i>Haemophilus/Aggregatibacter</i> |  <i>Neisseriaceae</i>  |

Hibridização do DNA com sondas específicas marcados cpm  
corantes fluorescentes - FISH



# PLACA DENTAL SUPRAGENGIVAL

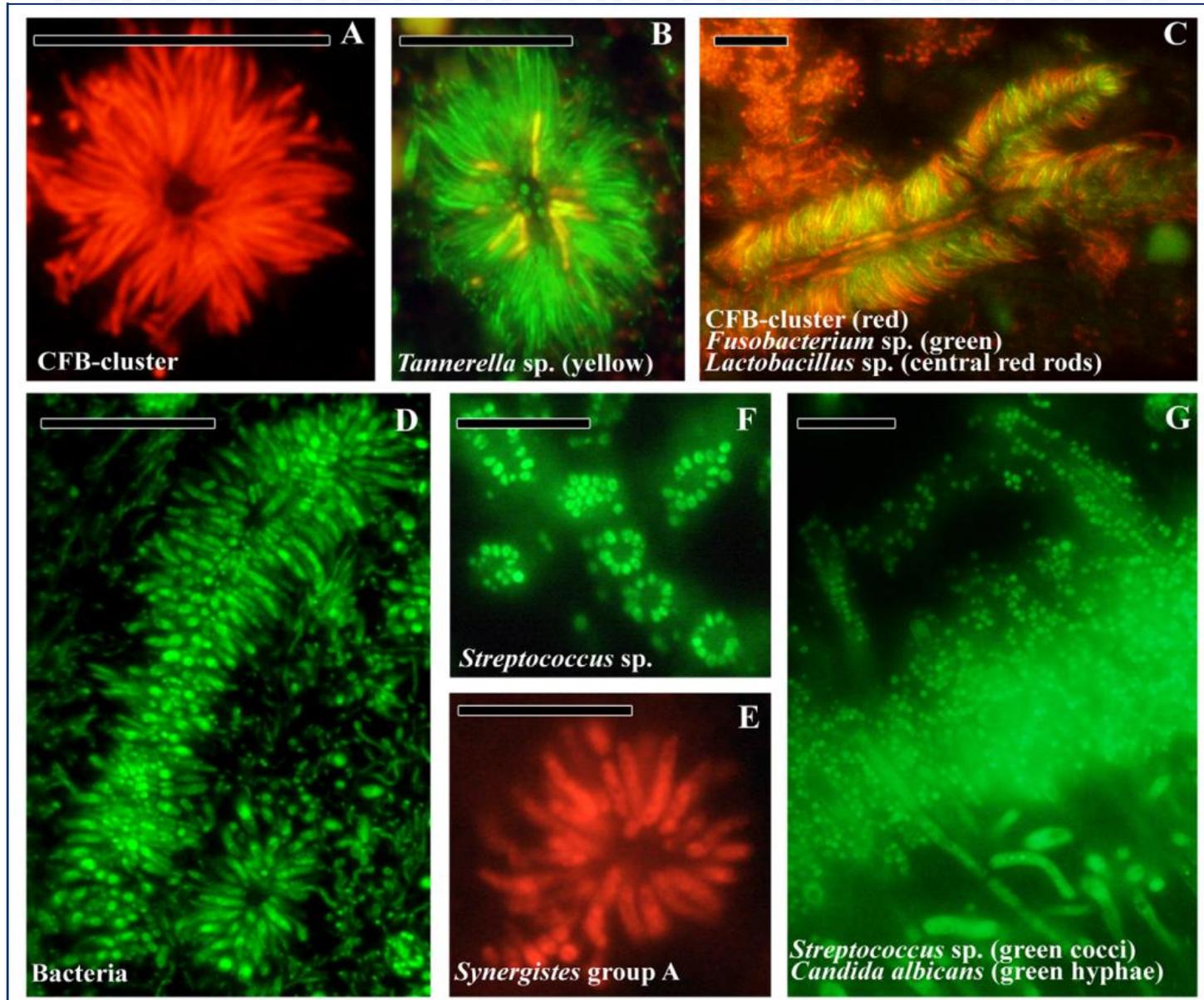
Filamentos e bacilos de vários gêneros formando estrutura na forma de ouriço



 <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



Jones SJ. Dent Practit. 1972



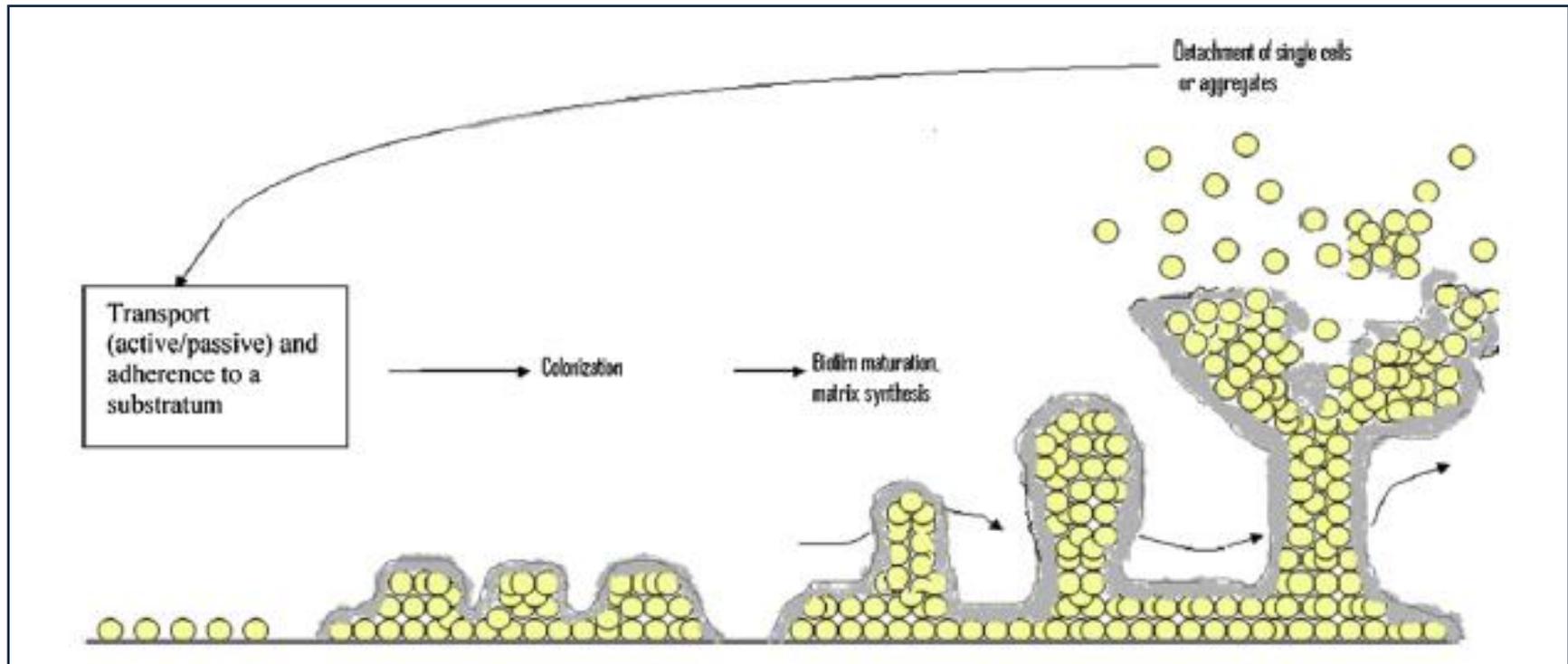
Jakubovics e Kolenbrander, 2010

## C. Fase de dispersão

Bactérias são liberadas e podem colonizar outras superfícies

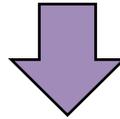
### Liberação de células bacterianas

Bactérias associadas ao biofilme retornam à existência planctônica

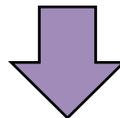


*S. mutans*: Proteína P1 é proteína formadora de amilóides

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

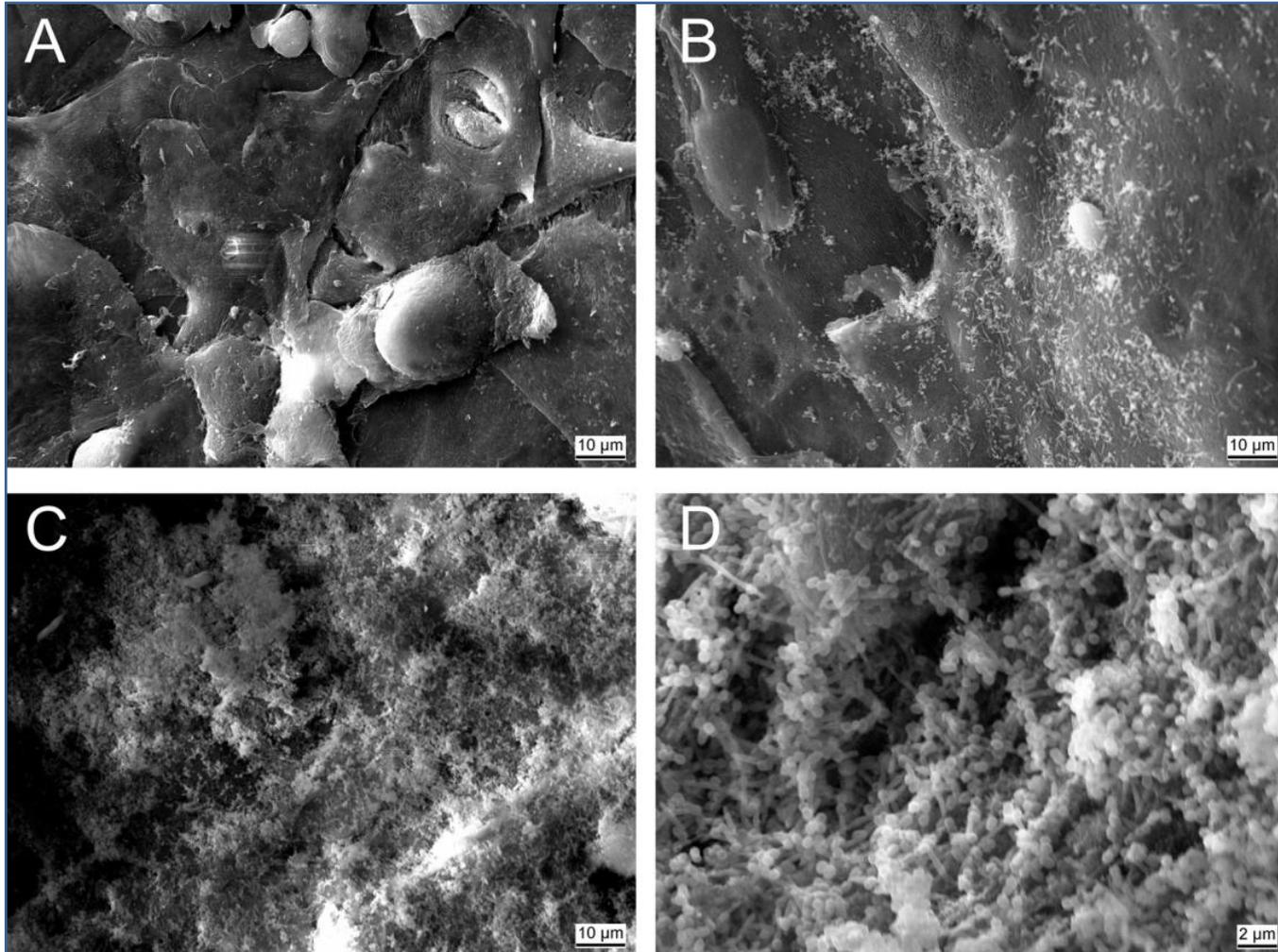


Liberação de fibras amilóides bacterianas  
ancoradas pela matriz extracelular



Dispersão do biofilme de *S. mutans*

# Biofilme sobre epitélio gengival



# Biofilme sobre epitélio gengival

Legend:

