



Artigo de Revisão Bibliográfica

Mestrado Integrado em Medicina Dentária

***STREPTOCOCCUS* ORAIS: PERFIL DE RESISTÊNCIA ANTIMICROBIANA**

Daniela Filipa Almeida Silva

Orientadora: Maria Benedita Sampaio Maia

Co-orientadora: Maria de Lurdes Ferreira Lobo Pereira

Porto, 2018



Artigo de Revisão Bibliográfica

Mestrado Integrado em Medicina Dentária

***STREPTOCOCCUS* ORAIS: PERFIL DE RESISTÊNCIA ANTIMICROBIANA**

Daniela Filipa Almeida Silva

Orientadora: Maria Benedita Sampaio Maia

Co-orientadora: Maria de Lurdes Ferreira Lobo Pereira

Porto, 2018

Artigo de Revisão Bibliográfica

Mestrado Integrado em Medicina Dentária

“STREPTOCOCCUS ORAIS: PERFIL DE RESISTÊNCIA ANTIMICROBIANA”

Autora:

Nome completo: Daniela Filipa Almeida Silva

Número de aluno: 201303372

E-mail: up201303372@fmd.up.pt ou dani.f.a.silva@hotmail.pt

Orientadora:

Maria Benedita Almeida Garrett de Sampaio Maia Marques

Professora auxiliar da Faculdade de Medicina Dentária da Universidade do
Porto

Co-orientadora:

Maria de Lurdes Ferreira Lobo Pereira

Professora auxiliar da Faculdade de Medicina Dentária da Universidade do
Porto

Área científica: Microbiologia

Agradecimentos

À minha orientadora, Professora Benedita, por ter aceite fazer parte desta jornada comigo, por toda as críticas e sugestões, paciência, rigor, disponibilidade, encorajamento e sobretudo, por toda a amizade.

À minha co-orientadora, Prof. Maria de Lurdes por todo o seu apoio, simpatia, disponibilidade e conhecimento.

À minha mãe, ao meu pai e restante família por todo o apoio, por acreditarem sempre que posso ir mais longe, por me acompanharem sempre e por me demonstrarem todo o orgulho que têm em mim.

Ao Miguel França por lhe roubar as horas vagas para me fazer companhia na elaboração deste artigo, por todo o apoio, afeto e ternura, por todos os bons momentos e por todas as palavras encorajadoras e reconfortantes.

Aos meus amigos que estiveram ao meu lado durante esta fase, por toda a cumplicidade, amizade, companheirismo e momentos que levo comigo para a vida.

Resumo

A cavidade oral é um dos ambientes mais colonizados por microrganismos no corpo humano. As bactérias são o grupo mais relevante e o género *Streptococcus* o mais prevalente do microbioma oral. A resistência antimicrobiana da microbiota oral pode ser devido à seleção de estirpes com suscetibilidade reduzida durante o tratamento antibiótico, à presença de genes que conferem resistência e também devido à aquisição de genes por transferência horizontal.

No que diz respeito aos *Streptococcus* da cavidade oral, a resistência às penicilinas é elevada, nomeadamente à penicilina G e V e à amoxicilina, sendo que o mecanismo de resistência principal é baseado na alteração das proteínas de ligação às penicilinas (PLP). A prevalência de resistência às cefalosporinas e aos carbapenems é menor, contudo relevante, sendo que a mutação das PLP parece estar também associada à resistência destes fármacos. A aquisição de genes que codificam proteínas que alteram os ribossomas, como os genes *tet(M)*, *tet(Q)* e *tet(O)*, está associada à resistência à tetraciclina e também à resistência aos macrólidos, como o gene *erm(B)*, *mef(A)* e *mef(B)*. Os *Streptococcus* orais mostram níveis relativamente moderados de suscetibilidade às lincosamidas e o mecanismo de resistência parece estar associado aos genes que conferem resistência aos macrólidos e tetraciclinas, como o gene *erm(B)*. *S. constellatus* e *S. intermedius* são as espécies que mais surgem em estudos apresentando resistência ao metronidazole.

Dada a prevalência de resistência antimicrobiana dos *Streptococcus* orais e a sua implicação na saúde oral e sistémica, é essencial que se tenha como fator de consideração aquando da prescrição de antibióticos, sendo ainda necessário explorar melhor os mecanismos de resistência destes microrganismos.

Palavras-chave: microbiota oral, resistência a antibióticos, antimicrobiano, *streptococcus*, suscetibilidade dos *streptococcus*

Abstract

The oral cavity is one of the environments most colonized by microorganisms in the human body. Bacteria are the most relevant group and the genus *Streptococcus* is the most prevalent. The antimicrobial resistance of the oral microbiota may be due to the selection of strains with reduced susceptibility during antibiotic treatment, the presence of genes that confer resistance and also due to the acquisition of genes by horizontal transfer.

Oral *Streptococcus*' resistant to penicillins is high, namely to penicillin G and V and amoxicillin, and the resistance mechanism is based on penicillin binding proteins (PBP) changes. The prevalence of cephalosporins and carbapenems resistance is lower, however relevant, and PBP mutation also appears to be associated with resistance this drugs. The acquisition of genes encoding proteins that alter the ribosome, such as *tet (M)*, *tet (Q)* and *tet (O)* genes, is associated with tetracycline resistance and macrolide resistance, such as *erm (B)*, *mef (A)* and *mef (B)*. Oral *Streptococcus* show relatively moderate levels of susceptibility to lincosamides and the mechanism of resistance seems to be associated with genes conferring resistance to macrolides and tetracyclines, such as the *erm (B)* gene. *S. constellatus* and *S. intermedius* are the species that most appear in studies presenting resistance to metronidazole.

Given the prevalence of antimicrobial resistance of oral *Streptococcus* and its implication in oral and systemic health, it is essential that it should be considered when prescribing antibiotics, and it is still necessary to better explore the mechanisms of resistance of these microorganisms.

Keywords: oral microbiota, antibiotic resistance, antimicrobial, *streptococcus*, *streptococcus* susceptibility

Índice

Agradecimentos	IV
Resumo	V
Abstract.....	VI
Lista de abreviaturas	VIII
Índice de Figuras.....	IX
Introdução.....	1
Materiais e métodos.....	5
Desenvolvimento.....	6
<i>Streptococcus</i> orais.....	6
• <i>Streptococcus</i> do grupo Mutans.....	7
• <i>Streptococcus</i> do grupo Anginosus.....	7
• <i>Streptococcus</i> do grupo Mitis	8
• <i>Streptococcus</i> do grupo Salivarius	8
Mecanismos de resistência antimicrobiana de <i>Streptococcus</i> orais.....	9
Conclusão	18
Referências bibliográficas:.....	20
Anexo I: Parecer do orientador	28
Anexo II: Declaração de autoria	30

Lista de abreviaturas

S. : *Streptococcus*

PLP : Proteínas de ligação à penicilina

PBP : Penicillin binding protein

Índice de Figuras

Figura 1 Mortes atribuídas à resistência antimicrobiana por ano e previsão para o ano 2050. Adaptado de O'neill, Jim (2014).....	9
Figura 2: Grupos de <i>Streptococcus</i> orais baseado na sequência genética do 16S rRNA.....	13
Figura 3: Mecanismos de resistência dos <i>Streptococcus</i> da cavidade oral.....	19

Introdução

O microbioma oral é constituído por vários grupos taxonómicos diferentes, incluindo bactérias, archaea, fungos, protozoários e vírus⁽¹⁾. Todos têm um importante papel na fisiopatologia oral, e apresentam relações simbióticas entre si e o hospedeiro. A alteração do microbioma oral tem sido observada em várias doenças, como diabetes, endocardite, cancro, doenças autoimunes e partos prematuros, evidenciando a sua influência nas doenças sistémicas tendo um papel cada vez mais importante no diagnóstico clínico e no tratamento, com base na informação da comunidade microbiana⁽²⁾. A cavidade oral é um dos ambientes mais colonizados por bactérias no corpo humano, tendo uma importância não só local, mas também sistémica, pois podem facilmente atingir outros locais do corpo humano (através p.e. da corrente sanguínea)⁽³⁾. A diversidade microbiana presente na cavidade oral é resultado dos muitos nichos ecológicos presentes⁽⁴⁾. Além do ambiente variado, há uma enorme variedade de substratos que promovem o crescimento das bactérias residentes proveniente da ingestão de alimentos. O aumento do açúcar na dieta, por exemplo, pode levar ao aumento de bactérias do género *Streptococcus* mais cariogénicas que por sua vez podem levar ao aparecimento de cárie dentária⁽⁵⁾.

A dinâmica do ambiente oral leva os microrganismos do biofilme não só a ajustarem o seu nível metabólico, mas também a alterar o seu desenvolvimento e potencial genómico, criando interações bacterianas complexas, incluindo a troca de material genético através da transferência horizontal de genes, que confere resistência a vários antimicrobianos⁽⁶⁾.

A resistência tornou-se problema nos últimos anos, porque o ritmo da descoberta de novos antibióticos diminuiu drasticamente, enquanto que o uso de antibióticos está sucessivamente a aumentar. Um estudo realizado por Jim O'neill em 2014^(7, 8) estima que em 2050 morrerão mais 10 milhões de cidadãos por ano do que seria expectável se os níveis de resistência à data se mantivessem^(7, 8). Na figura 1 estão representadas as causas mais prevalentes de mortes por ano e a sua previsão para o ano 2050 (figura 1).

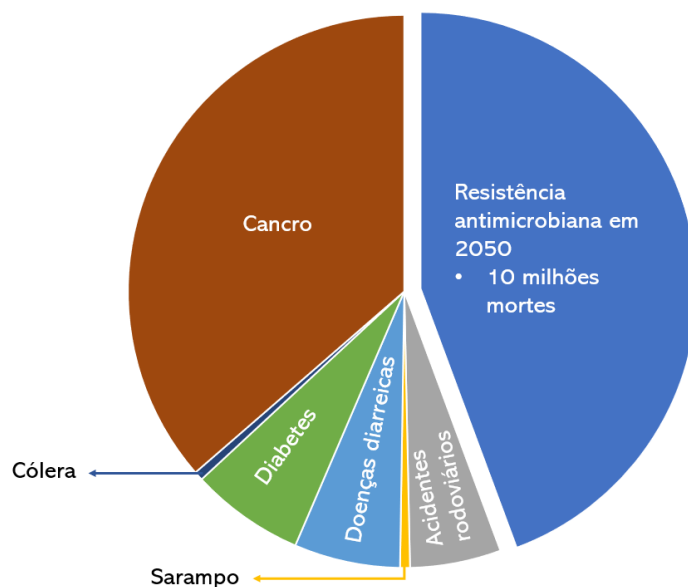


Figura 1 Mortes atribuídas à resistência antimicrobiana por ano e previsão para o ano 2050. Adaptado de O'Neill, Jim (2014)

Nos seus resultados O'Neill sugere que os países que já têm altas taxas de malária, HIV ou tuberculose irão, provavelmente, sofrer particularmente com o aumento da resistência aos tratamentos atuais, particularmente países em como a Índia, Nigéria e Indonésia devido à malária e Rússia devido à tuberculose. Acrescenta ainda que se a resistência associada ao HIV e à malária não for combatida, África como continente sofrerá um grande impacto, assim como a Ásia que pode ver limitado o seu progresso económico, e a China e o Brasil que podem ver revertida a erradicação da malária na segunda metade do século XX⁽⁸⁾.

O uso irracional de antibióticos tornou-se uma prática comum. Nos países em desenvolvimento são prescritos antibióticos a uma grande percentagem de doentes hospitalizados, sendo muitas vezes desnecessário. Para além disso, a automedicação inadequada de antibióticos agrava a situação⁽⁹⁾. Tem sido relatado em países como a Jordânia que as pessoas consomem antibióticos não prescritos para tratar uma simples constipação⁽¹⁰⁾. O uso incorreto e excessivo dos fármacos antimicrobianos está associado a um aumento dos tratamentos sem sucesso, morbidade, mortalidade e ainda a um aumento dos custos associados aos cuidados de saúde. Contudo, os antimicrobianos continuam a ser consumidos em todo o mundo em grande

escala e a sua prescrição continua a aumentar, sendo frequentemente indicados para uso profilático^(11, 12).

A resistência microbiana é uma resposta biológica natural dos microrganismos a uma pressão seletiva, como condições climáticas, disponibilidade de alimento, oxigênio ou água, ou à presença de um antimicrobiano⁽¹³⁾. Após a introdução de uma nova classe de antibióticos a sua eficácia vai diminuindo progressivamente havendo uma seleção da população bacteriana que possui um mecanismo de resistência intrínseco ou adquirido. A resistência intrínseca é inerente ao microrganismo, independente da exposição prévia a um antibiótico, sendo uma característica natural. Este mecanismo inclui genes que conferem resistência através de, por exemplo, impermeabilidade da parede celular, atividade de bombas de efluxo, a ausência de alvos do antimicrobiano, e até mesmo a atividade das transferases e das enzimas envolvidas nos processos metabólicos⁽¹³⁾.

Por outro lado, a resistência pode ser adquirida através da transferência horizontal de genes entre microrganismos ou devido a uma mutação nos genes denominados genes de resistência antimicrobiana. A transferência horizontal de genes tem sido reconhecida como uma importante via para a rápida disseminação de genes de resistência antimicrobiana. Este processo pode ocorrer por transdução, transformação ou conjugação, sendo este último processo o mais frequente⁽¹³⁻¹⁵⁾.

O microbioma oral apresenta um perfil particular de resistência antimicrobiana. Um estudo de Zaura et. al⁽¹¹⁾ comparou a composição do microbioma oral e fecal após a administração de clindamicina, ciprofloxacina, minociclina e amoxicilina e concluiu que o microbioma salivar era muito menos afetado e mais resistente à exposição a antibióticos do que a comunidade microbiana fecal, independentemente do fármaco utilizado.

O género *Streptococcus* é o mais prevalente na cavidade oral, e existem vários estudos que têm explorado a resistência a antimicrobianos deste grupo. Por exemplo, relativamente a mecanismos de resistência intrínseca os microrganismos do género *Streptococcus* não possuem as nitro-redutases necessárias para converter o metronidazole nos seus metabolitos ativos conferindo, portanto, resistência a este fármaco⁽¹⁴⁾. Relativamente a mecanismos de resistência adquirida, a disseminação de genes que conferem

resistência pode ocorrer entre bactérias de origem alimentar ou microrganismos patogênicos e a microbiota oral⁽¹⁶⁾. Com os sucessivos estudos sobre a transferências de genes resistentes a antibióticos entre, por exemplo, *Streptococcus* associados à cavidade oral e *Streptococcus pyogenes* ou *Streptococcus pneumoniae*, há cada vez mais evidências de que a microbiota comensal pode servir como um reservatório de resistência a antibióticos⁽¹⁶⁻¹⁸⁾.

Em medicina dentária o uso inapropriado de antibióticos inclui situações como a terapia com antibióticos após cirurgia para prevenir infecções com pouca probabilidade de ocorrerem, uso exagerado em situações em que os pacientes não estão em risco, o uso de antibióticos como analgésicos em endodontia, uso a longo prazo, abuso de administração de antibiótico na manutenção da doença periodontal e o uso de antibioterapia em vez da incisão e drenagem de abscessos⁽¹⁹⁾.

O objetivo desta revisão foi explorar o perfil de resistência dos *Streptococcus* associados à cavidade oral, evidenciando a importância na saúde humana e nas decisões de prescrições de certos fármacos.

Materiais e métodos

Este artigo trata-se de uma revisão sistemática de artigos científicos publicados entre os anos 2000 e 2018 que incidiram na relação entre as espécies do género *Streptococcus* associados à cavidade oral e a resistência antimicrobiana, nas línguas inglês e português. A base de dados utilizada foi a Pubmed e os termos aplicados foram “oral microbiota” / “oral microbiome” / “oral microorganisms” AND antibiotic resistance” e “antimicrobial streptococcus susceptibility” AND “oral”. A pesquisa decorreu em Fevereiro de 2018. Os critérios de inclusão basearam-se na conformidade dos limites do tema do trabalho, tendo sido excluídos os artigos não referentes aos *Streptococcus* orais ou ao tema da resistência antimicrobiana. Foram selecionados no total 77 artigos.

Desenvolvimento

Streptococcus orais

O género *Streptococcus* é constituído por bactérias cocos de Gram-positivo pertencentes ao filo Firmicutes, à ordem Lactobacillales e à família Streptococcaceae⁽²⁰⁾. A grande maioria das espécies pertencentes a este género são oxidase-negativa, catalase-negativa e anaeróbios facultativos. O género *Streptococcus* é dividido taxonomicamente em 6 grupos com base na sequência do gene 16S do RNA ribossomal: i) grupo Piogénico, ii) grupo Mitis,iii) grupo Anginosus, iv) grupo Bovis, v) grupo Salivarius e vi) grupo Mutans⁽²¹⁾.

As espécies de *Streptococcus* da cavidade oral são frequentemente denominados por *Streptococcus* do grupo viridans pois coram de verde em agar sangue, e os grupos mais prevalentes são o grupo Mitis, Anginosus, Salivarius e Mutans⁽²¹⁾. Na figura 2 estão descritos os grupos de *Streptococcus* mais relevantes da cavidade oral baseado na sequência genética do 16S rRNA.

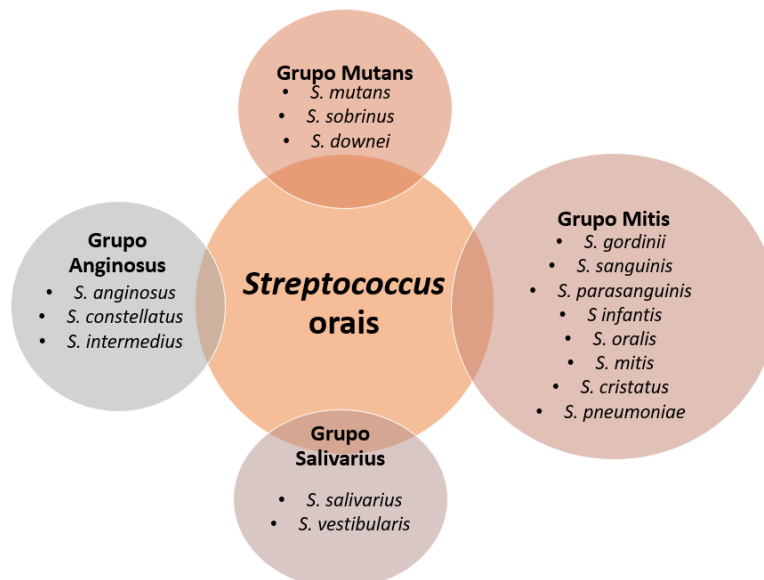


Figura 2: Grupos de *Streptococcus orais* baseado na sequência genética do 16S rRNA.

As bactérias do género *Streptococcus* formam uma parte importante do microbioma oral, pois são o género mais prevalente e o género mais significativo de microrganismos pioneiros orais, ou seja, os microrganismos capazes de ligar-se a recetores do hospedeiro e conseqüentemente lançar as bases do biofilme oral^(22, 23).

A grande diversidade observada nos *Streptococcus* orais, incluindo a série de mecanismos de virulência e patogenicidade, é provavelmente o resultado de uma transferência genética horizontal maciça entre *Streptococcus* dentro de um habitat partilhado, como a cavidade oral, assim como devido outros processos como a recombinação, a seleção de clones especializados e a modificação de circuitos reguladores⁽²³⁾. Em concordância, os genes de resistência antimicrobiana de *Streptococcus* associados à cavidade oral estão frequentemente localizados em elementos genéticos móveis⁽²⁴⁾. Por exemplo, os genes *mef(A)* e *mef(E)* estão associados à resistência à eritromicina e os genes *tetA(46)* e *tetB(46)* estão associados à resistência à tetraciclina^(25, 26).

- ***Streptococcus* do grupo Mutans**

O grupo Mutans inclui bactérias que colonizam a cavidade oral e que estão associadas ao desenvolvimento de cárie dentária, nomeadamente o *S. mutans*⁽²³⁾.

Embora *S. downei* possa ocasionalmente ser encontrado na placa bacteriana *S. mutans* e *S. sobrinus* são os únicos *Streptococcus* do grupo Mutans que são encontrados regularmente em humanos⁽²⁷⁾. As propriedades acidogénicas e acidúricas do *S. mutans* permitem a metabolização da sacarose em ácido láctico e permite o seu crescimento em valores baixos de pH. A formação de ácido leva à dissolução de cálcio e fosfato no esmalte dos dentes, causando cáries e promovendo a adesão de mais bactérias⁽²⁸⁾.

- ***Streptococcus* do grupo Anginosus**

O grupo Anginosus é constituído pelos *S. anginosus*, *S. intermedius* e *S. constellatus*. Estão associados a fenómenos como abscessos hepáticos e

esplênicos, endocardite infecciosa, infecções pulmonares e abscessos dentários⁽²³⁾.

S. anginosus é o microrganismo mais comum deste grupo encontrado em infecções e várias formas de cancro oral e intestinal⁽²⁹⁾. Na cavidade oral, *S. constellatus* e *S. intermedius* estão presentes nos biofilmes da placa subgengival de pacientes com periodontite⁽³⁰⁾. Além da relação com a doença periodontal, *S. intermedius* estão associados a abscessos cerebrais ou hepáticos e *S. constellatus* a infecções do trato respiratório⁽³¹⁾.

- ***Streptococcus* do grupo Mitis**

O grupo Mitis compreende espécies como *S. oralis*, *S. mitis* e *S. oralis* sendo geralmente os *Streptococcus* mais prevalentes da cavidade, e incluem muitos pioneiros na colonização da placa bacteriana e tecidos orais⁽²⁷⁾.

S. oralis, *S. mitis*, *S. gordonii* e *S. pneumoniae* estão altamente relacionados devido à extensa transferência horizontal de genes⁽²¹⁾. *S. pneumoniae* está associado à otite média, bronquite, sinusite, meningite e pneumonia, mas sem associação à cavidade oral⁽²¹⁾. *S. oralis* e *S. mitis* são principalmente microrganismos comensais da cavidade oral embora possam ser microrganismos patogênicos oportunistas que causam endocardite infecciosa^(32, 33). *S. gordinii* podem ser encontrados na cavidade oral e estão também associados à endocardite bacteriana⁽²³⁾.

- ***Streptococcus* do grupo Salivarius**

As espécies bacterianas do grupo Salivarius estão associadas com o estado de saúde (e não a doença), como por exemplo, *S. salivarius*, que é comumente encontrado nas superfícies da mucosa oral e na saliva⁽³⁴⁾. Contudo, vários estudos mostraram correlações entre os níveis de *S. salivarius* e cárie dentária^(35, 36). *S. vestibularis* são comensais que podem causar ocasionalmente infecções oportunistas⁽³⁷⁾. Como outros *Streptococcus* orais, os

do grupo *Salivarius* são ocasionalmente isolados da corrente sanguínea de pacientes com endocardite infecciosa⁽³³⁾.

Mecanismos de resistência antimicrobiana de *Streptococcus* orais

Os antimicrobianos afetam a viabilidade dos microrganismos através da inibição da síntese da parede celular, da alteração da integridade da membrana celular, da inibição da síntese proteica, da inibição da síntese de ADN assim como da inibição da síntese de metabolitos essenciais, podendo ser bacteriostáticos, impedindo o crescimento e multiplicação dos microrganismos, ou bactericidas, causando a morte dos microrganismos⁽¹⁹⁾.

Os médicos dentistas prescrevem 7% a 11% de todos os antibióticos comuns, em particular incidindo sobre os antibióticos β -lactâmicos, tetraciclina, macrólidos, clindamicina e metronidazole⁽¹⁹⁾.

A penicilina G, penicilina V e a amoxicilina são fármacos bastante usados no tratamento de abscessos, incluindo os abscessos dentários, endocardite infecciosa, infecções orofaciais, infecções periodontais, osteomielite, faringite e pneumonia⁽¹⁹⁾. As cefalosporinas têm uso terapêutico em infecções do trato gastrointestinal associado a *S. pneumoniae* e *S. pyogenes*, infecções do trato respiratório associadas também a *S. pneumoniae* e no tratamento de infecções como peritonite, faringite e pneumonia⁽¹⁹⁾. Têm também uma boa atividade contra alguns microrganismos patogênicos orais como *S. mutans* que podem promover a cárie dentária⁽³⁸⁾.

Os macrólidos são frequentemente indicados para o tratamento de pneumonia e infecções com cocos Gram-positivos. A eritromicina tem um historial de uso em infecções orofaciais e a azitromicina em abscessos periapicais. Os macrólidos são também úteis para a profilaxia de endocardite bacteriana⁽¹⁹⁾.

A clindamicina é usada no tratamento de infecções causadas por espécies de *streptococci*, *staphylococci*, *pneumococci* suscetíveis ou anaeróbios como *Bacteroides*⁽¹⁹⁾. Alguns ensaios clínicos demonstraram também a eficácia da clindamicina no tratamento de infecções odontogênicas⁽³⁹⁾.

As tetraciclina são comumente utilizadas no tratamento das infecções da pele como acne e devido ao aumento da resistência a certos antibióticos como macrólidos, β -lactâmicos e clindamicina o seu uso é crescente no tratamento de periodontite crônica. Outras indicações incluem cólera e tularemia⁽¹⁹⁾.

O metronidazole tem como principal indicação o tratamento de infecções abdominais, do sistema nervoso central, vaginais e infecções associadas ao *Helicobacter pylori*. Tem também atividade contra microrganismos gram-negativos anaeróbios responsáveis por infecções orofaciais e periodontite crônica⁽¹⁹⁾.

Para além destes fármacos existem também os péptidos antimicrobianos, integrantes da resposta imune inata encontrada em todas as classes de vida, que são antibióticos potentes de amplo espectro que demonstram potencial como novos agentes terapêuticos⁽⁴⁰⁾.

Os antibióticos β -lactâmicos são agentes antimicrobianos muito comumente prescritos em todo o mundo. O seu mecanismo de ação é a inibição da síntese da parede celular de peptidoglicanos das bactérias inibindo as proteínas de ligação às penicilinas responsáveis pela forma final tridimensional da parede celular. É sabido que a resistência das bactérias a estes fármacos está a aumentar a um ritmo crescente⁽¹⁹⁾. Os fármacos de maior relevância deste grupo são as penicilinas, as cefalosporinas e os carbapenem^(19, 41).

As penicilinas são um grupo de antibióticos que partilham um núcleo β -lactâmico em anel e mecanismos de ação semelhantes. A amoxicilina e a penicilina V são os fármacos de primeira escolha nas infecções orofaciais em pacientes não alérgicos. A penicilina G ou benzilpenicilina e a dicloxacilina estão também incluídas neste grupo. A penicilina G e V têm um espectro estreito tendo atividade contra cocos e bacilos de gram-positivo e cocos de gram-negativo. As restantes penicilinas têm um espectro mais abrangente mostrando atividade contra bacilos de gram-negativo⁽¹⁹⁾.

No início dos anos 2000 surgiram alguns estudos que avaliaram o perfil de suscetibilidade dos *Streptococcus* associados à cavidade oral a estes fármacos. Alguns estudos concluíram que estes *Streptococcus* eram suscetíveis à benzilpenicilina, ainda que algumas espécies mais suscetíveis que outras^(42, 43). Por outro lado, muitos outros estudos publicados evidenciam

a resistência deste grupo de microrganismos a estes fármacos tendencialmente crescente ao longo dos anos ⁽⁴⁴⁻⁴⁷⁾. Um estudo de Rotimi et al. ⁽⁴⁸⁾ que pretendia evidenciar a alta prevalência de *Streptococcus* do grupo Viridans resistentes a antibióticos em crianças demonstrou que dos 540 isolados da língua e dentes, 18,4% eram resistentes à penicilina, com especial destaque para os *Streptococcus salivarius*, *S. sanguis*, *S. mutans*, *S. oralis* e *S. anginosus* que apresentaram as maiores taxas de resistência para este fármaco. Mais recentemente, em 2016, Susuk et al. ⁽⁴⁹⁾, explorou a suscetibilidade dos *Streptococcus* do grupo Viridans à penicilina e à ampicilina, que é uma amino-penicilina. Numa amostra de 49 pacientes em risco de endocardite, dos isolados de *S. mitis*, *S. anginosus*, *S. sanguinis*, *S. mutans* e *S. salivarius*, 61,22% foram identificados como completamente resistentes ou com sensibilidade reduzida a ambos os fármacos. No que diz respeito à amoxicilina, também uma amino-penicilina, muitas vezes a primeira escolha para profilaxia para procedimentos invasivos orais, partilha de uma alta prevalência de resistência por parte das bactérias compreendendo uma grande variedade de estirpes de *Streptococcus* orais ^(45, 50, 51). Chardin et al. ⁽⁵²⁾, em 2009, comparou o perfil de suscetibilidade dos *Streptococcus* orais após administração de amoxicilina durante dois períodos diferentes de 3 e 7 dias. Em ambos os grupos a percentagem de *Streptococcus* com suscetibilidade reduzida à amoxicilina antes da toma do antibiótico era abaixo dos 2%, subindo para valores acima dos 20% após a administração do fármaco e baixando dos 7,7% no final do tratamento, sugerindo que a seleção de estirpes com suscetibilidade reduzida é rápida, aparecendo até em terapias de curta duração. Em 2016, Khalil et al. ⁽⁵³⁾ também verificou um aumento da proporção de *Streptococcus* com suscetibilidade reduzida à amoxicilina após uma administração única de 2g de amoxicilina em 29 pacientes saudáveis, dos quais 6 já apresentavam *Streptococcus* resistentes à amoxicilina e penicilina V previamente à administração do antibiótico.

O mecanismo de resistência dos *Streptococcus* da cavidade oral às penicilinas é baseado em alterações nas proteínas de ligação às penicilinas, que são enzimas alvo dos antibióticos β -lactâmicos, resultando numa afinidade reduzida das PLP a estes fármacos ⁽⁵⁴⁻⁵⁶⁾. Nakayama et al. ⁽⁵⁷⁾, em todas as estirpes de *S. mitis* com suscetibilidade reduzida à ampicilina que isolou da

saliva de 52 adultos saudáveis, encontrou mutações nos genes que codificam as PLP: pbp1a, pbp2b e pbp2x. Palma et al. ⁽⁵⁶⁾, num estudo sobre a prevalência e mecanismos de resistência dos *S. salivarius* encontrou altas percentagens de resistência à penicilina G e à amoxicilina que estavam associadas não só polimorfismos em genes que codificam quatro proteínas de ligação à penicilina (pbp1a, pbp1b, pbp2b e pbp2x), mas também à presença de genes que codificavam β -lactamases classe A e B, que estão envolvidas na inativação das penicilinas.

A suscetibilidade à penicilina pode diminuir progressivamente com as sucessivas aquisições de PLP modificadas por transferência horizontal de genes, sendo que pode ocorrer a troca de material entre a mesma espécie ou espécies diferentes como entre *S. pneumoniae*, *S. mitis*, *S. oralis* e *S. sanguinis* ^(54, 58).

Relativamente às cefalosporinas, estas têm uma estrutura idêntica às penicilinas partilhando o mesmo mecanismo principal de ação. São classificadas por gerações dividindo-se em quatro gerações, sendo as de primeira geração mais eficazes contra bactéria de gram-positivo, as de segunda geração contra bactérias de gram-negativo. O uso massivo deste fármaco devido ao seu largo espetro e baixa toxicidade resultaram num aumento da resistência antimicrobiana ⁽¹⁹⁾.

Apesar de não terem grande relevância nos tratamentos orais há evidências, ainda que poucas, de resistência dos *Streptococcus* orais a este grupo de antibióticos não estando ainda explorado o mecanismo específico de resistência por parte deste grupo de bactérias ^(42, 48). Em 2007, Salako et al. ⁽⁴⁵⁾ num estudo com 330 isolados de *Streptococcus Viridans* de crianças saudáveis e 441 de crianças com deficiências averiguou o perfil de resistência da cefalotina, uma cefalosporina de primeira geração. Neste estudo, 29% dos isolados de *S. salivarius*, *S. sanguis*, *S. mitis*, *S. oralis* e *S. mutans* apresentavam resistência à cefalotina, com maior proporção de estirpes resistentes no grupo de crianças com deficiência por possivelmente estarem mais expostas a antibióticos.

Concomitantemente, há outros relatos que constataam a boa atividade das cefalosporinas contra *Streptococcus* orais ⁽³⁸⁾, nomeadamente *S. mutans*, *S. sanguis*, *S. mitis*, *S. anginosus* e *S. salivarius*, com percentagens de

suscetibilidade razoavelmente elevadas, rondando os 90% no estudo de Pasquantonio et al. ⁽⁵⁹⁾ e os 96% no estudo de Kuryiama et al. ⁽³⁹⁾.

A alteração das PLP é também o mecanismo subjacente à resistência dos *Streptococcus* da cavidade às cefalosporinas⁽⁶⁰⁾.

Os carbapenems são antibióticos β -lactâmicos com espectro maior que a maioria dos outros antibióticos desta classe, com grande atividade contra microrganismos de gram-positivo e de gram-negativo. Incluem o imipenem, meropenem, entre outros ^(19, 41).

São antimicrobianos eficazes contra os *Streptococcus* orais, sendo que estes apresentam grandes percentagens de suscetibilidade e baixas taxas de resistência ^(39, 44, 59). De entre 11 antimicrobianos testados numa amostra de 102 indivíduos e 540 isolados da placa bacteriana por Rotimi et al. ⁽⁴⁸⁾, o imipenem apresentava a menor taxa de resistência, abaixo dos 9.4%. Pasquantonio et al. ⁽⁵⁹⁾ constatou que o imipenem foi o antibiótico mais eficaz de entre 12 antibióticos β -lactâmicos contra *S. mitis*, *S. anginosus*, *S. sanguis*, *S. salivarius* e *S. mutans*. Saputo et al. ⁽³⁸⁾ também verificou a suscetibilidade dos *S. mutans* a vários carbapenems, sendo que estes mostraram uma grande atividade contra microrganismos organizados em biofilmes. Quanto ao mecanismo de resistência, acredita-se que, à semelhança das penicilinas, a mutação das PLP, desempenha um papel importante em resistência aos carbapenems ⁽⁶¹⁾.

Relativamente às tetraciclinas, são antibióticos bacteriostáticos que inibem a síntese proteica das bactérias ligando-se à subunidade 30 do ribossoma impedindo a ligação do RNA de transferência (tRNA) ao codão do RNA mensageiro (mRNA) e ao sitio A consequentemente impedindo a tradução. Incluem entre outros, a minociclina e a doxiciclina. Apesar do seu uso não ser o mais indicado para infeções orofaciais, o sucessivo aumento da resistência dos microrganismos a antibióticos β -lactâmicos, macrólidos e clindamicina, está a mudar este conceito^(19, 41).

São comumente usadas no tratamento de infeções por *Streptococcus*, mas nas últimas décadas têm sido observadas altas taxas de resistência entre *Streptococcus* patogénicos e comensais, nomeadamente nos associados à cavidade oral ^(45, 48, 56, 62). O mecanismo de resistência dos *Streptococcus* orais é baseado na aquisição de genes que codificam proteínas de proteção dos

ribossomas, como os genes *tet(M)*, *tet(Q)* e *tet(O)*, sendo o *tet(M)* o mais prevalente ^(3, 56, 63).

Um estudo de Kouidhi et al. ⁽⁶⁴⁾ encontrou uma relação entre *S. mutans*, *S. oralis*, *S. mitis*, *S. sanguis*, *S. anginosus* e *S. constellatus* resistentes à tetraciclina e genes de resistência *tet(M)*, *tet(O)*. Villadieu et al. ⁽⁶³⁾ pretendendo avaliar a prevalência de genes que conferem resistência à tetraciclina nas bactérias orais verificou a presença de *tet(W)* e *tet(M)* nos isolados dos *Streptococcus*. Ciric et al. ⁽⁶⁵⁾ verificou que a resistência de *S. infantis* isolados da cavidade oral à minociclina estava relacionada com o gene *tet(S)*. Lancaster et al. ⁽³²⁾, em treze crianças portadoras de *Streptococcus* resistentes à tetraciclina, sem recente exposição à mesma, isolou pela primeira vez o gene *tet(32)* em *S. parasanguinis* proveniente de uma criança e o gene *tet(S)* em *S. mitis* proveniente de outra criança, observando-se que a resistência dos restantes *Streptococcus* estavam associados ao gene *tet(M)*. Este estudo concluiu que mesmo sem exposição direta à tetraciclina, genes como o gene *tet(M)* persistem no microbioma oral ⁽¹⁴⁾.

Palma et al. ⁽⁵⁶⁾ encontrou *S. salivarius* isolados da mucosa oral resistentes à tetraciclina e à doxiciclina. A este perfil de resistência associou a presença dos genes *tet(M)* e *tet(O)*, o que está em acordo com um estudo de Chaffanel et al. ⁽⁶⁶⁾.

No que diz respeito aos macrólidos, são antibióticos que com mecanismo semelhante às tetraciclina interferindo na síntese proteica ligando-se reversivelmente ao sítio P da subunidade 50s do ribossoma, estimulando a dissociação do tRNA do ribossoma. Incluem, entre outros, a eritromicina, a claritromicina e a azitromicina. A eritromicina é bastante prescrita para infeções orofaciais, nomeadamente em pacientes alérgicos a antibióticos β-lactâmicos, sendo eficaz contra microrganismos aeróbios de gram-positivo. A claritromicina é mais eficaz contra anaeróbios de gram-positivo e a azitromicina contra anaeróbios de gram-negativo ^(19, 41).

Os *Streptococcus* orais apresentam uma menor suscetibilidade a este grupo de fármacos, nomeadamente à eritromicina, sendo crescentes os relatos de resistência ^(39, 43, 45, 48). Também a azitromicina demonstra não ser totalmente eficaz contra os *Streptococcus* orais. Tomita et al. ⁽⁶⁷⁾ num estudo com 30 pacientes com periodontite, 24 dos participantes tinham bactérias subgingivais

resistentes à azitromicina, levofloxacina ou claritromicina. A prevalência de *S. mitis* resistente a qualquer um desses antimicrobianos foi entre 57% e 65% e entre 33% e 64% para os *S. oralis*. Já *S. intermedius* e *S. constellatus* isolados do espaço subgengival demonstraram ser suscetíveis⁽⁶⁸⁾.

O perfil de resistência dos *Streptococcus* orais aos macrólidos está muitas vezes relacionado com o uso concomitante de outros fármacos. Ready et al.⁽⁵⁰⁾ num estudo comparativo de crianças expostas e não expostas a amoxicilina nos últimos 3 meses encontrou grandes percentagens de *S. mitis*, *S. oralis*, *S. salivarius* e *S. sanguis* resistentes à eritromicina, entre outros, e relacionou a resistência da amoxicilina com a resistência da eritromicina, estando a última aumentada em pacientes expostos previamente à amoxicilina.

Os *Streptococcus* orais apresentam, à semelhança da resistência às tetraciclina, genes que estão associados à resistência aos macrólidos e são encontrados frequentemente em simultâneo^(62, 69). Chaffanel et al.⁽⁶⁶⁾ encontrou, de entre os isolados de *Streptococcus* resistentes à eritromicina, alguns portadores de genes *erm(B)* e outros portadores dos genes *erm(B)*, *mef(A)* e *mef(E)* coexistentes nas mesmas bactérias. Também verificou que a maioria das estirpes portadoras dos genes *erm(B)* era também portadoras do gene *tet(M)*, sendo também resistentes às tetraciclina. Este resultado vai de encontro ao estudo de Brenciani et al.⁽²⁶⁾ que para além de encontrar *erm(B)* e *tet(M)* em *S. mitis*, *S. oralis*, *S. salivarius*, *S. sanguinis* e *S. constellatus*, encontrou também a presença em simultâneo de *mef(E)* e *tet(M)*, *mef(E)* e *tet(O)*, e *mef(A)* e *tet(M)*, que relaciona a resistência dos macrólidos com a resistência das tetraciclina.

No que concerne às lincosamidas, são agentes antimicrobianos bacteriostáticos e ligam-se ao mesmo sitio P da subunidade 50s dos macrólidos impedindo a síntese proteica, podendo deste modo competir com os macrólidos⁽¹⁹⁾. Assim sendo, há uma relação entre a resistência destes dois fármacos. Deste grupo fazem parte a clindamicina e a lincomicina, sendo a primeira mais eficaz contra microrganismos anaeróbios e aeróbios de gram-positivo. Apesar de não serem fármacos de primeira escolha nas infeções orofaciais o uso, nomeadamente da clindamicina, está a aumentar à medida que a resistência a antibióticos como os β -lactâmicos aumenta⁽¹⁹⁾.

Os *Streptococcus* mostram níveis relativamente moderados de suscetibilidade à clindamicina, sendo este um fármaco eficaz no tratamento de infecções provocadas por estes agentes⁽³⁹⁾. No entanto, já foram relatadas na literatura resistência de *Streptococcus* a este grupo de fármacos. Rams et al.⁽⁶⁸⁾ num estudo com isolados de *S. constellatus* e *S. intermedius* da placa subgengival verificou que a clindamicina foi o antibiótico mais eficaz entre a amoxicilina, azitromicina, doxiciclina e metronidazole contra *S. constellatus*, encontrando, contudo, percentagens de *Streptococcus* resistentes à clindamicina, ainda que baixas. No estudo de Rotimi et al.⁽⁴⁸⁾ também foram encontradas proporções de *Streptococcus* resistentes à clindamicina, sendo os *S. anginosus*, *S. intermedius*, *S. mitis*, *S. oralis* e *S. mutans* os isolados com maior taxa de resistência, variando entre os 14,3% e os 35,0%.

O mecanismo de resistência das lincosamidas parece estar associado aos genes que conferem resistência aos macrólidos e tetraciclinas, como o gene *erm(B)*⁽⁶⁶⁾.

O metronidazole é um derivado nitroimidazol que se tornou uma escolha para infecções protozoárias sendo que também tem atividade contra anaeróbios obrigatórios de gram-negativo envolvidos nas infecções orofaciais, nomeadamente, periodontite e gengivite ulceronecrosante. A combinação de metronidazole com antibióticos β -lactâmicos parece ser indicada no tratamento de algumas infecções orofaciais⁽¹⁹⁾.

Apesar de não ser o fármaco de primeira escolha para o tratamento de infecções com *Streptococcus* têm surgido alguns estudos que incidem no perfil de suscetibilidade destes microrganismos a este fármaco, nomeadamente em *S. constellatus*^(68, 70). Rams et al.⁽⁶⁸⁾ num estudo com 33 isolados de *S. constellatus* e 17 de *S. intermedius*, 90% mostraram-se resistentes ao metronidazole. Dois outros estudos do mesmo autor também encontraram altas taxas de resistência a este fármaco. Um com uma amostra de 37 pacientes com periodontite com 70% dos *S. constellatus* e 40% dos *S. intermedius* resistentes e outro também com *S. constellatus* isolados de 400 pacientes com periodontite 89,1% eram resistentes ao metronidazole^(71, 72). Concomitantemente, outros estudos como o de Ready et al.⁽⁷³⁾ não encontrou nenhum isolado resistente ao metronidazole.

Por fim, em relação aos péptidos antimicrobianos são produzidos por várias células imunocompetentes, como granulócitos, macrófagos, neutrófilos, células epiteliais e células semelhantes a fibroblastos, como as encontradas nas glândulas salivares ou tecidos conjuntivos gengivais. Os péptidos antimicrobianos na saliva parecem ter um papel importante nos mecanismos de proteção do hospedeiro contra patógenos microbianos, como bactérias de gram-positivo e de gram-negativo, leveduras e vírus⁽⁷⁴⁾. A saliva contém α -defensinas (HNP-1,2,3) e β -defensinas (HBD- 1,2,3) assim como a catelicidina LL-37^(74, 75).

Ainda que não seja prevalente a resistência de *Streptococcus* orais a estes péptidos, alguns estudos averiguaram esta relação, mostrando suscetibilidades variadas a estes fármacos⁽⁷⁴⁾. Goeke et al.⁽⁷⁴⁾ num estudo com 105 isolados de *S. mutans* da placa subgengival concluiu que *S. mutans* era mais suscetível a HNP-1 e HBD-2 do que HNP-3. Nishimura et al.⁽⁷⁶⁾ estudou os efeitos antimicrobianos da β -defensina humana 2 em *Streptococcus* orais e concluiu que *S. mutans* e *S. sobrinus* mostraram-se suscetíveis ao péptido, indicando que é um potencial agente terapêutico para prevenir a cárie dentária. *S. anginosus* e *S. mitis* exibiram baixas taxas de suscetibilidade sendo que *S. mitis* apresentou a menor suscetibilidade, sugerindo que pode possuir um certo mecanismo de resistência contra a hBD-2.

Rukke et al.⁽⁷⁷⁾ relacionou a expressão de cápsula em *S. mitis* com a suscetibilidade aos péptidos antimicrobianos. As estirpes capsuladas de *S. mitis* apresentam resistência aumentada à hBD-3 e a LL-37 em comparação com estirpes não capsuladas, sugerindo um forte papel da cápsula na resistência aos péptidos antimicrobianos.

Conclusão

A cavidade oral, contém uma grande variedade de microrganismos, sendo um grande reservatório de bactérias resistentes aos antibióticos. As bactérias orais podem facilmente atingir outros locais do corpo permitindo a disseminação rápida destes microrganismos e ter oportunidade de transferirem os seus genes de resistência para outras espécies bacterianas.

A aquisição de resistências por aquisição de genes pode ocorrer por transmissão vertical, mas principalmente por via horizontal através de elementos genéticos móveis, como acontece entre os *S. mitis*, *S. oralis* e *S. pneumoniae*⁽⁵⁴⁾.

Os *Streptococcus* da cavidade oral apresentam taxas de resistência diversas aos vários grupos de antibióticos sendo um fator de crescente preocupação pois o uso excessivo dos antimicrobianos é acompanhado pelo aumento da capacidade de resistência dos microrganismos. No que diz respeito aos *Streptococcus orais* a presença de polimorfismos nos genes que codificam as PLP é determinante para a resistência aos antibióticos β -lactâmicos, nomeadamente às penicilinas. Também a aquisição de genes que modificam o ribossoma confere resistência às tetraciclinas, macrólidos e lincosamidas. Contudo, muitos mecanismos de resistência dos *Streptococcus* da cavidade oral estão por desvendar, uma vez que se verifica a resistência a alguns fármacos como o metronidazole ainda sem uma causa associada. Na figura 3 está esquematizado o conjunto de mecanismos de resistência dos *Streptococcus* orais aos antibióticos β -lactâmicos, tetraciclinas, macrólidos e lincosamidas sendo que estão ainda por descobrir os mecanismos que conferem resistência aos péptidos antimicrobianos e ao metronidazole dos *Streptococcus* orais em específico.

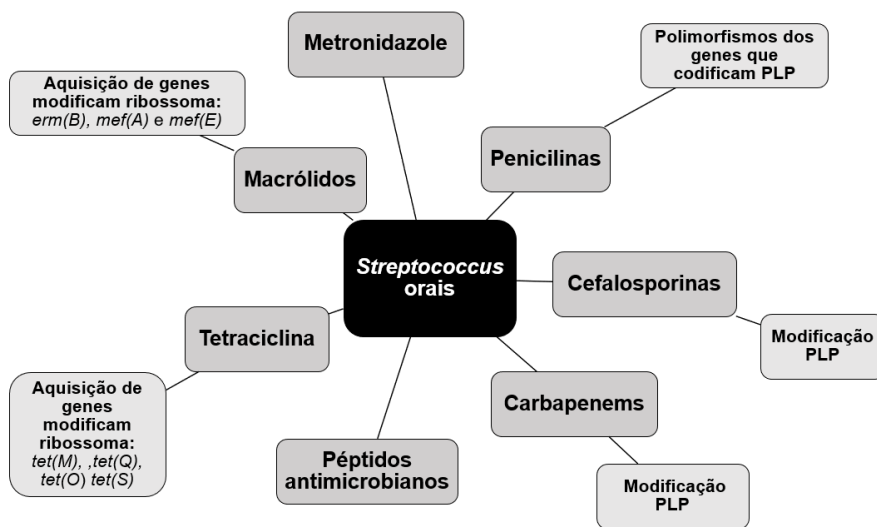


Figure 2 Mecanismos de resistência associados aos *Streptococcus orais*. (PLP - proteínas de ligação à penicilina)

O conhecimento das estratégias de defesa dos *Streptococcus orais* é determinante para a decisão de prescrição dos fármacos e do sucesso de atuação dos mesmos. Poderá também ser importante para o desenvolvimento de novos fármacos com uma maior eficácia.

Referências bibliográficas:

1. Wade WG. The oral microbiome in health and disease. *Pharmacological research*. 2013;69(1):137-43.
2. Jia G, Zhi A, Lai PFH, Wang G, Xia Y, Xiong Z, et al. The oral microbiota - a mechanistic role for systemic diseases. *British dental journal*. 2018;224(6):447-55.
3. Diaz-Torres ML, Villedieu A, Hunt N, McNab R, Spratt DA, Allan E, et al. Determining the antibiotic resistance potential of the indigenous oral microbiota of humans using a metagenomic approach. *FEMS microbiology letters*. 2006;258(2):257-62.
4. Roberts AP, Mullany P. Oral biofilms: a reservoir of transferable, bacterial, antimicrobial resistance. *Expert Review of Anti-infective Therapy*. 2010;8(12):1441-50.
5. Parisotto TM, Steiner-Oliveira C, Duque C, Peres RC, Rodrigues LK, Nobre-dos-Santos M. Relationship among microbiological composition and presence of dental plaque, sugar exposure, social factors and different stages of early childhood caries. *Arch Oral Biol*. 2010;55(5):365-73.
6. Roberts AP, Kreth J. The impact of horizontal gene transfer on the adaptive ability of the human oral microbiome. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. 2014;4(124).
7. Cantas L, Shah S, Cavaco L, Manaia C, Walsh F, Popowska M, et al. A brief multi-disciplinary review on antimicrobial resistance in medicine and its linkage to the global environmental microbiota. *Frontiers in Microbiology*. 2013;4(96).
8. O'Neill J. *Antimicrobial Resistance: Tackling a crisis for the health and wealth of nations* London2014 [Review on Antimicrobial Resistance]. Available from: amr-review.org/sites/default/files/AMR%20Review%20Paper%20-%20Tackling%20a%20crisis%20for%20the%20health%20and%20wealth%20of%20nations_1.pdf.
9. Abdulah R. Antibiotic Abuse in Developing Countries. *Pharmaceutical Regulatory Affairs*. 2012;1(2): 1000e106.

10. Al-Azzam SI, Al-Husein BA, Alzoubi F, Masadeh MM, Al-Horani MA. Self-medication with antibiotics in Jordanian population. *International journal of occupational medicine and environmental health*. 2007;20(4):373-80.
11. Zaura E, Brandt BW, Teixeira de Mattos MJ, Buijs MJ, Caspers MP, Rashid MU, et al. Same Exposure but Two Radically Different Responses to Antibiotics: Resilience of the Salivary Microbiome versus Long-Term Microbial Shifts in Feces. *MBio*. 2015;6(6):e01693-15.
12. Ferrer M, Mendez-Garcia C, Rojo D, Barbas C, Moya A. Antibiotic use and microbiome function. *Biochemical pharmacology*. 2017;134:114-26.
13. Soares GM, Figueiredo LC, Faveri M, Cortelli SC, Duarte PM, Feres M. Mechanisms of action of systemic antibiotics used in periodontal treatment and mechanisms of bacterial resistance to these drugs. *Journal of applied oral science : revista FOB*. 2012;20(3):295-309.
14. Walker CB. The acquisition of antibiotic resistance in the periodontal microflora. *Periodontology 2000*. 1996;10:79-88.
15. Zhang G, Feng J. The intrinsic resistance of bacteria. *Yi chuan = Hereditas*. 2016;38(10):872-80.
16. Wang HH, Manuzon M, Lehman M, Wan K, Luo H, Wittum TE, et al. Food commensal microbes as a potentially important avenue in transmitting antibiotic resistance genes. *FEMS microbiology letters*. 2006;254(2):226-31.
17. Cerda Zolezzi P, Laplana LM, Calvo CR, Cepero PG, Erazo MC, Gomez-Lus R. Molecular basis of resistance to macrolides and other antibiotics in commensal viridans group streptococci and *Gemella* spp. and transfer of resistance genes to *Streptococcus pneumoniae*. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2004;48(9):3462-7.
18. Jonsson M, Swedberg G. Macrolide resistance can be transferred by conjugation from viridans streptococci to *Streptococcus pyogenes*. *International journal of antimicrobial agents*. 2006;28(2):101-3.
19. Yagiela JA, Dowd FJ, Mariotti A, Neidle EA. *Pharmacology and Therapeutics for Dentistry - E-Book*: Elsevier Health Sciences; 2010.
20. NCBI. [Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi?id=1301>.

21. Nobbs AH, Lamont RJ, Jenkinson HF. Streptococcus adherence and colonization. *Microbiology and molecular biology reviews* : MMBR. 2009;73(3):407-50, Table of Contents.
22. Verma D, Garg PK, Dubey AK. Insights into the human oral microbiome. *Archives of microbiology*. 2018.
23. Sitkiewicz I. How to become a killer, or is it all accidental? Virulence strategies in oral streptococci. *Molecular oral microbiology*. 2018;33(1):1-12.
24. Santoro F, Vianna ME, Roberts AP. Variation on a theme; an overview of the Tn916/Tn1545 family of mobile genetic elements in the oral and nasopharyngeal streptococci. *Front Microbiol*. 2014;5:535.
25. Sukumar S, Roberts AP, Martin FE, Adler CJ. Metagenomic Insights into Transferable Antibiotic Resistance in Oral Bacteria. *Journal of dental research*. 2016;95(9):969-76.
26. Warburton PJ, Ciric L, Lerner A, Seville LA, Roberts AP, Mullany P, et al. TetAB46, a predicted heterodimeric ABC transporter conferring tetracycline resistance in *Streptococcus australis* isolated from the oral cavity. *The Journal of antimicrobial chemotherapy*. 2013;68(1):17-22.
27. Jakubovics NS, Yassin SA, Rickard AH. Community interactions of oral streptococci. *Advances in applied microbiology*. 2014;87:43-110.
28. Wen ZT, Burne RA. Functional genomics approach to identifying genes required for biofilm development by *Streptococcus mutans*. *Applied and environmental microbiology*. 2002;68(3):1196-203.
29. Sasaki M, Yamaura C, Ohara-Nemoto Y, Tajika S, Kodama Y, Ohya T, et al. *Streptococcus anginosus* infection in oral cancer and its infection route. *Oral diseases*. 2005;11(3):151-6.
30. Colombo AP, Teles RP, Torres MC, Souto R, Rosalem WJ, Mendes MC, et al. Subgingival microbiota of Brazilian subjects with untreated chronic periodontitis. *Journal of periodontology*. 2002;73(4):360-9.
31. Whiley RA, Beighton D, Winstanley TG, Fraser HY, Hardie JM. *Streptococcus intermedius*, *Streptococcus constellatus*, and *Streptococcus anginosus* (the *Streptococcus milleri* group): association with different body sites and clinical infections. *Journal of clinical microbiology*. 1992;30(1):243-4.
32. Rasmussen LH, Hojholt K, Dargis R, Christensen JJ, Skovgaard O, Justesen US, et al. In silico assessment of virulence factors in strains of

Streptococcus oralis and *Streptococcus mitis* isolated from patients with Infective Endocarditis. *Journal of medical microbiology*. 2017.

33. Doyuk E, Ormerod OJ, Bowler ICJW. Native Valve Endocarditis due to *Streptococcus vestibularis* and *Streptococcus oralis*. *Journal of Infection*. 2002;45(1):39-41.

34. Burton JP, Drummond BK, Chilcott CN, Tagg JR, Thomson WM, Hale JD, et al. Influence of the probiotic *Streptococcus salivarius* strain M18 on indices of dental health in children: a randomized double-blind, placebo-controlled trial. *Journal of medical microbiology*. 2013;62(Pt 6):875-84.

35. Aas JA, Griffen AL, Dardis SR, Lee AM, Olsen I, Dewhirst FE, et al. Bacteria of dental caries in primary and permanent teeth in children and young adults. *Journal of clinical microbiology*. 2008;46(4):1407-17.

36. Becker MR, Paster BJ, Leys EJ, Moeschberger ML, Kenyon SG, Galvin JL, et al. Molecular analysis of bacterial species associated with childhood caries. *Journal of clinical microbiology*. 2002;40(3):1001-9.

37. Delorme C, Abraham AL, Renault P, Guedon E. Genomics of *Streptococcus salivarius*, a major human commensal. *Infection, genetics and evolution : journal of molecular epidemiology and evolutionary genetics in infectious diseases*. 2015;33:381-92.

38. Saputo S, Faustoferri RC, Quivey RG, Jr. A Drug Repositioning Approach Reveals that *Streptococcus mutans* Is Susceptible to a Diverse Range of Established Antimicrobials and Nonantibiotics. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2018;62(1).

39. Kuriyama T, Karasawa T, Nakagawa K, Yamamoto E, Nakamura S. Bacteriology and antimicrobial susceptibility of gram-positive cocci isolated from pus specimens of orofacial odontogenic infections. *Oral microbiology and immunology*. 2002;17(2):132-5.

40. Reddy KV, Yedery RD, Aranha C. Antimicrobial peptides: premises and promises. *International journal of antimicrobial agents*. 2004;24(6):536-47.

41. Brunton L, Chabner BA, Knollman B. Goodman and Gilman's *The Pharmacological Basis of Therapeutics*, Twelfth Edition: McGraw-Hill Education; 2011.

42. Hirasawa M, Takada K. Susceptibility of *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sobrinus* to cell wall inhibitors and development of a novel selective medium for *S. sobrinus*. *Caries research*. 2002;36(3):155-60.
43. Sullivan A, Wretling B, Nord CE. Will triclosan in toothpaste select for resistant oral streptococci? *Clinical microbiology and infection : the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*. 2003;9(4):306-9.
44. Mokaddas EM, Salako NO, Philip L, Rotimi VO. Discrepancy in antimicrobial susceptibility test results obtained for oral streptococci with the Etest and agar dilution. *Journal of clinical microbiology*. 2007;45(7):2162-5.
45. Salako NO, Rotimi V, Philip L, Haidar HA, Hamdan HM. The prevalence and antibiotic sensitivity of oral Viridans streptococci in healthy children and children with disabilities in Kuwait. *Special care in dentistry : official publication of the American Association of Hospital Dentists, the Academy of Dentistry for the Handicapped, and the American Society for Geriatric Dentistry*. 2007;27(2):67-72.
46. Kityamuwesi R, Muwaz L, Kasangaki A, Kajumbula H, Rwenyonyi CM. Characteristics of pyogenic odontogenic infection in patients attending Mulago Hospital, Uganda: a cross-sectional study. *BMC microbiology*. 2015;15:46.
47. Orzechowska-Wylegala B, Wylegala A, Bulinski M, Niedzielska I. Antibiotic therapies in maxillofacial surgery in the context of prophylaxis. *BioMed research international*. 2015;2015:819086.
48. Rotimi VO, Salako NO, Mokaddas E, Philip L, Rajan P. High frequency of isolation of antibiotic-resistant oral Viridans streptococci from children in Kuwait. *Journal of chemotherapy (Florence, Italy)*. 2005;17(5):493-501.
49. Suzuk S, Kaskatepe B, Cetin M. Antimicrobial susceptibility against penicillin, ampicillin and vancomycin of viridans group *Streptococcus* in oral microbiota of patients at risk of infective endocarditis. *Le infezioni in medicina : rivista periodica di eziologia, epidemiologia, diagnostica, clinica e terapia delle patologie infettive*. 2016;24(3):190-3.
50. Ready D, Lancaster H, Qureshi F, Bedi R, Mullany P, Wilson M. Effect of amoxicillin use on oral microbiota in young children. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2004;48(8):2883-7.

51. Nemoto H, Nakano K, Masuda K, Wada K, Ardin AC, Nomura R, et al. Distribution of oral streptococci highly resistant to amoxicillin in dental plaque specimens from Japanese children and adolescents. *Journal of medical microbiology*. 2011;60(Pt 12):1853-9.
52. Chardin H, Yasukawa K, Nouacer N, Plainvert C, Aucouturier P, Ergani A, et al. Reduced susceptibility to amoxicillin of oral streptococci following amoxicillin exposure. *Journal of medical microbiology*. 2009;58(Pt 8):1092-7.
53. Khalil D, Hultin M, Rashid MU, Lund B. Oral microflora and selection of resistance after a single dose of amoxicillin. *Clinical microbiology and infection : the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*. 2016;22(11):949.e1-.e4.
54. Chi F, Nolte O, Bergmann C, Ip M, Hakenbeck R. Crossing the barrier: evolution and spread of a major class of mosaic pbp2x in *Streptococcus pneumoniae*, *S. mitis* and *S. oralis*. *International journal of medical microbiology : IJMM*. 2007;297(7-8):503-12.
55. Delorme C, Poyart C, Ehrlich SD, Renault P. Extent of horizontal gene transfer in evolution of *Streptococci* of the *salivarius* group. *Journal of bacteriology*. 2007;189(4):1330-41.
56. Palma TH, Harth-Chu EN, Scott J, Stipp RN, Boisvert H, Salomao MF, et al. Oral cavities of healthy infants harbour high proportions of *Streptococcus salivarius* strains with phenotypic and genotypic resistance to multiple classes of antibiotics. *Journal of medical microbiology*. 2016;65(12):1456-64.
57. Nakayama A, Takao A. Beta-lactam resistance in *Streptococcus mitis* isolated from saliva of healthy subjects. *Journal of infection and chemotherapy : official journal of the Japan Society of Chemotherapy*. 2003;9(4):321-7.
58. Jensen A, Valdorsson O, Frimodt-Moller N, Hollingshead S, Kilian M. Commensal streptococci serve as a reservoir for beta-lactam resistance genes in *Streptococcus pneumoniae*. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2015;59(6):3529-40.
59. Pasquantonio G, Condo S, Cerroni L, Bikiqu L, Nicoletti M, Prenna M, et al. Antibacterial activity of various antibiotics against oral streptococci isolated in the oral cavity. *International journal of immunopathology and pharmacology*. 2012;25(3):805-9.

60. Clemente JC, Pehrsson EC, Blaser MJ, Sandhu K, Gao Z, Wang B, et al. The microbiome of uncontacted Amerindians. *Science Advances*. 2015;1(3).
61. Abe M, Kamijo T, Matsuzawa S, Miki J, Nakazawa Y, Sakashita K, et al. High incidence of meropenem resistance among alpha-hemolytic streptococci in children with cancer. *Pediatrics international : official journal of the Japan Pediatric Society*. 2009;51(1):103-6.
62. Lancaster H, Ready D, Mullany P, Spratt D, Bedi R, Wilson M. Prevalence and identification of tetracycline-resistant oral bacteria in children not receiving antibiotic therapy. *FEMS microbiology letters*. 2003;228(1):99-104.
63. Villedieu A, Diaz-Torres ML, Hunt N, McNab R, Spratt DA, Wilson M, et al. Prevalence of tetracycline resistance genes in oral bacteria. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2003;47(3):878-82.
64. Kouidhi B, Zmantar T, Hentati H, Najjari F, Mahdouni K, Bakhrouf A. Molecular investigation of macrolide and Tetracycline resistances in oral bacteria isolated from Tunisian children. *Archives of Oral Biology*. 2011;56(2):127-35.
65. Ciric L, Brouwer MS, Mullany P, Roberts AP. Minocycline resistance in an oral *Streptococcus infantis* isolate is encoded by tet(S) on a novel small, low copy number plasmid. *FEMS microbiology letters*. 2014;353(2):106-15.
66. Chaffanel F, Charron-Bourgoin F, Libante V, Leblond-Bourget N, Payot S. Resistance Genes and Genetic Elements Associated with Antibiotic Resistance in Clinical and Commensal Isolates of *Streptococcus salivarius*. *Applied and environmental microbiology*. 2015;81(12):4155-63.
67. Tomita S, Kasai S, Ihara Y, Imamura K, Kita D, Ota K, et al. Effects of systemic administration of sitafloxacin on subgingival microflora and antimicrobial susceptibility profile in acute periodontal lesions. *Microbial pathogenesis*. 2014;71-72:1-7.
68. Rams TE, Feik D, Mortensen JE, Degener JE, van Winkelhoff AJ. Antibiotic susceptibility of periodontal *Streptococcus constellatus* and *Streptococcus intermedius* clinical isolates. *Journal of periodontology*. 2014;85(12):1792-8.
69. Malhotra-Kumar S, Lammens C, Piessens J, Goossens H. Multiplex PCR for simultaneous detection of macrolide and tetracycline resistance

determinants in streptococci. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2005;49(11):4798-800.

70. Mombelli A, Cionca N, Almaghlouth A, Cherkaoui A, Schrenzel J, Giannopoulou C. Effect of Periodontal Therapy With Amoxicillin-Metronidazole on Pharyngeal Carriage of Penicillin- and Erythromycin-Resistant Viridans Streptococci. *Journal of periodontology*. 2016;87(5):539-47.

71. Rams TE, Degener JE, van Winkelhoff AJ. Antibiotic resistance in human chronic periodontitis microbiota. *Journal of periodontology*. 2014;85(1):160-9.

72. Rams TE, Dujardin S, Sautter JD, Degener JE, van Winkelhoff AJ. Spiramycin resistance in human periodontitis microbiota. *Anaerobe*. 2011;17(4):201-5.

73. Ready D, Bedi R, Spratt DA, Mullany P, Wilson M. Prevalence, proportions, and identities of antibiotic-resistant bacteria in the oral microflora of healthy children. *Microbial drug resistance (Larchmont, NY)*. 2003;9(4):367-72.

74. Goeke JE, Kist S, Schubert S, Hickel R, Huth KC, Kollmuss M. Sensitivity of caries pathogens to antimicrobial peptides related to caries risk. *Clinical oral investigations*. 2018.

75. Jurczak A, Kościelniak D, Papież M, Vyhouskaya P, Krzyściak W. A study on β -defensin-2 and histatin-5 as a diagnostic marker of early childhood caries progression. *Biological Research*. 2015;48:61.

76. Nishimura E, Eto A, Kato M, Hashizume S, Imai S, Nisizawa T, et al. Oral streptococci exhibit diverse susceptibility to human beta-defensin-2: antimicrobial effects of hBD-2 on oral streptococci. *Current microbiology*. 2004;48(2):85-7.

77. Rukke HV, Engen SA, Schenck K, Petersen FC. Capsule expression in *Streptococcus mitis* modulates interaction with oral keratinocytes and alters susceptibility to human antimicrobial peptides. *Molecular oral microbiology*. 2016;31(4):302-13.

Anexo I: Parecer do orientador

PARECER

Informo que o Trabalho de Monografia desenvolvido pela Estudante Daniela Filipa Almeida Silva com o título: *Streptococcus* orais: perfil de resistência antimicrobiana, está de acordo com as regras estipuladas na FMDUP, foi por mim conferido e encontra-se em condições de ser apresentado em provas públicas.

Porto, 18 de Maio de 2018

A orientadora

A horizontal line is drawn across the page, with the handwritten signature 'Bárbara Sequeira' written above it.

Anexo II: Declaração de autoria

DECLARAÇÃO

Declaro que o presente trabalho, no âmbito da Monografia de Investigação/Relatório de Atividade Clínica, integrado no MIMD, da FMDUP, é da minha autoria e todas as fontes foram devidamente referenciadas.

Porto, 18 de Maio de 2018

Daniela Silva

(A autora)