



UNIVERSIDADE D  
COIMBRA

Margarida dos Santos Ferreira

Relatório de Estágio e Monografia intitulada “Compostos bioativos de frutos vermelhos uma alternativa terapêutica na prevenção e tratamento da cárie?” referentes à Unidade Curricular “Estágio”, sob a orientação da Dra. Maria Cacilda Borges e do Professor Doutor Artur Figueirinha e apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

Setembro de 2020



UNIVERSIDADE D  
COIMBRA

**Margarida dos Santos Ferreira**

Relatório de Estágio e Monografia intitulada “Compostos bioativos de frutos vermelhos uma alternativa terapêutica na prevenção e tratamento da cárie?” referentes à Unidade Curricular “Estágio”, sob a orientação da Dra. Maria Cacilda Borges e do Professor Doutor Artur Figueirinha, apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas.

Setembro de 2020

Eu, Margarida dos Santos Ferreira, estudante do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, com o nº 2015230408, declaro assumir toda a responsabilidade pelo conteúdo do Documento Relatório de Estágio e Monografia intitulada “Compostos bioativos de frutos vermelhos uma alternativa terapêutica na prevenção e tratamento da cárie?” apresentadas à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, no âmbito da unidade de Estágio Curricular.

Mais declaro que este Documento é um trabalho original e que toda e qualquer afirmação ou expressão, por mim utilizada, está referenciada na Bibliografia, segundo os critérios bibliográficos legalmente estabelecidos, salvaguardando sempre os Direitos de Autor, à exceção das minhas opiniões pessoais.

Coimbra, 1 de setembro de 2020.

Margarida dos Santos Ferreira

(Margarida dos Santos Ferreira)

# AGRADECIMENTOS

À Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra por me ter acolhido ao longo destes 5 anos.

A todos os professores que contactei ao longo da minha formação por terem contribuído para a pessoa que sou hoje.

Ao meu orientador Professor Doutor Artur Figueirinha por todo o profissionalismo e disponibilidade.

A toda a incrível equipa da Farmácia Lima Natário por todos os ensinamentos e toda a simpatia com que me acolheram.

A todos os meus amigos por todo o conforto e todo o apoio nas fases mais difíceis.

À Raquel, à Rita e à Rute, por terem feito parte destes 5 anos e por tudo o que fizeram por mim, foram incansáveis comigo!

Aos meus tios, Ana e Rui e à minha prima Mariana por toda a preocupação e toda a ajuda.

Aos meus avós paternos, avó Lurdes e avô Almerindo por todo o carinho que me dão.

Às minhas três estrelinhas, avó Libânia, avô António e à minha “tia madrinha” ...

Por último, aos meus Pais e à minha irmã, sem vocês não teria conseguido.  
Será sempre a nossa vitória!

# Índice

## PARTE I - Relatório de Estágio em Farmácia Comunitária

Lista de Abreviaturas.....	7
1. Introdução.....	8
2. Análise SWOT.....	9
2.1. Pontos Fortes ( <i>Strenghts</i> ) .....	9
2.1.1 Localização da farmácia e horário de funcionamento alargado .....	9
2.1.2 Única estagiária.....	9
2.1.3 Integração na equipa técnica .....	9
2.1.4 Diversidade nas tarefas desempenhadas .....	10
2.2. Pontos Fracos ( <i>Weaknesses</i> ) .....	12
2.2.1 Aconselhamento farmacêutico.....	12
2.2.2 Planos de participação.....	12
2.2.3 Associação das marcas comerciais.....	13
2.3. Oportunidades ( <i>Opportunities</i> ).....	13
2.3.1 <i>Software</i> SIFARMA 2000® .....	13
2.3.2 Programa Valormed .....	13
2.3.3 Colaboração com instituições.....	13
2.4. Ameaças ( <i>Threats</i> ).....	14
2.4.1 Estagiária/Jovem vista aos olhos da população.....	14
2.4.2 Medicamentos esgotados .....	14
2.4.3 Limitação em determinadas categorias .....	14
2.4.4 Locais de venda de Medicamentos Não Sujeitos a Receita Médica (MNSRM) .....	15
3. Casos Clínicos .....	16
4. Conclusão.....	18
5. Bibliografia .....	19
6. Anexo I - Ficha de preparação do medicamento manipulado.....	20

## PARTE 2 - Monografia “Compostos bioativos de frutos vermelhos uma alternativa terapêutica na prevenção e tratamento da cárie?”

Resumo.....	23
Abstract.....	24
Lista de Abreviaturas.....	25
1. Introdução.....	26
2. Afeções orais/bucodentárias.....	27
2.1. Cárie dentária.....	27
3. Principais microrganismos da cavidade oral .....	29
3.1. <i>Fusobacterium nucleatum</i> .....	29
3.2. <i>Streptococcus mutans</i> .....	30

4. Biofilme dentário.....	31
4.1. Sistema de comunicação célula-célula ( <i>Quorum Sensing</i> ).....	33
5. Tratamentos convencionais na prevenção da cárie.....	34
6. Compostos fenólicos presentes em frutos vermelhos.....	35
6.1. Antocianidinas e antocianinas.....	35
6.2. Proantocianidinas.....	37
7. Atividade antimicrobiana de compostos fenólicos presentes em frutos vermelhos.....	38
7.1. Estudo com extrato de <i>Prunus cerasus L.</i> .....	39
7.2. Outros estudos .....	41
7.3. Vantagens do uso destes extratos .....	42
8. Possíveis novas estratégias terapêuticas/alvos contra a cárie .....	42
9. Conclusões.....	44
10. Bibliografia.....	45

# PARTE I

## RELATÓRIO DE ESTÁGIO EM FARMÁCIA COMUNITÁRIA

### Farmácia Lima Natário



Orientadora: Dra. Maria Cacilda Lima Natário Lourenço Borges

## **Lista de Abreviaturas**

**DCI** - Denominação Comum Internacional

**FEFO** - *First-Expired, First-Out*

**FFUC** - Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra

**FLM** - Farmácia Lima Natário

**MICF** - Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

**MNSRM** - Medicamento Não Sujeito a Receita Médica

**MSRM** - Medicamento Sujeito a Receita Médica

**PVPs** - Preços de Venda ao Público

**SWOT** - *Strenghts, Weaknesses, Opportunities, Threats*



## **I. Introdução**

“O farmacêutico é um agente de saúde pública”. Ouvi esta frase numa das minhas primeiras aulas de História da Farmácia. Hoje, após a realização do meu estágio, aprendi verdadeiramente o sentido de ser um agente de saúde pública, realmente o farmacêutico tem um papel importantíssimo na promoção da saúde pública e no bem-estar da população.

As farmácias são o primeiro local onde as pessoas recorrem quando têm um problema de saúde. Cada vez mais as pessoas depositam a sua confiança e sentem-se à vontade quando a esta recorrem. A farmácia é então o local de prestação de cuidados de saúde que mais proximidade apresenta para com a população, sendo o primeiro elo de ligação dos utentes para com a cadeia da Saúde.

Os farmacêuticos são instruídos a identificar necessidades que não estão percecionadas pelo utente e assim conseguir recomendar e aconselhar. Assim, a farmácia torna-se num local cada vez mais de aconselhamento.

O culminar do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas (MICF) exige a realização de um estágio curricular, inserido no plano de estudos, em farmácia comunitária, por esta ser uma das saídas mais usual no curso e pela aplicação a casos práticos que este permite.

O presente relatório pretende ilustrar o estágio curricular em farmácia comunitária que realizei na Farmácia Lima Natário, localizada na minha área de residência. O meu estágio, ao contrário do que inicialmente estava previsto, teve início a 6 de janeiro de 2020 e termo a 20 de junho de 2020 com uma duração de 810 horas. Durante o estado de emergência proclamado devido à pandemia, o meu estágio teve um interrégno.

## **2. Análise SWOT**

O presente relatório encontra-se na forma de análise SWOT (*Strenghts, Weaknesses, Opportunities, Threats*). A análise SWOT é feita a dois níveis, interno e externo, onde se identificam 4 vertentes. Internamente irei focar os pontos fortes e os pontos fracos enquanto que a nível externo as oportunidades e as ameaças sentidas ao longo do meu estágio.

### **2.1. Pontos Fortes (*Strenghts*)**

#### **2.1.1 Localização da farmácia e horário de funcionamento alargado**

A Farmácia Lima Natário encontra-se situada na vila de Miranda do Corvo, mais concretamente na Rua do Cruzeiro. Está em funcionamento desde 2003 e encontra-se inserida numa zona comercial (próxima da Caixa Geral de Depósitos) mas também numa zona residencial. Esta localização é então vantajosa, visto que, acarreta elevada afluência e provoca elevado número de utentes fidelizados. Devido à proximidade de várias aldeias, os utentes maioritariamente eram idosos, mas tive contacto com utentes de todas as faixas etárias. Assim, contactei com diferentes necessidades terapêuticas e diferentes tipos de utentes.

O horário de funcionamento da FLM na semana de serviço é de segunda a sexta-feira das 8h às 22h e nos fins de semana e feriados das 9h às 22h. Nas semanas de não serviço é de segunda a sexta-feira das 9h às 20h e aos sábados das 9h às 13h. Este horário de funcionamento alargado permitiu-me estagiar em diferentes momentos do dia e contactar com pedidos diversos.

#### **2.1.2 Única estagiária**

Penso que o facto de ser apenas um estagiário trás grandes vantagens. Menos tempos mortos, as tarefas não são divididas e claro, todo o foco se encontra em mim. Assim, consegui tirar o máximo de proveito do meu estágio.

#### **2.1.3. Integração na equipa técnica**

A equipa da FLM é composta pela Diretora Técnica Dra. Maria Cacilda Lima Natário Lourenço Borges, pelos farmacêuticos Dr. João Tiago Costa (farmacêutico adjunto), Dra. Joana Cortez, Dra. Cristina Carvalho, pelos ajudantes técnicos Sr. Manuel António Borges e Sra. Suzana Santos e, por fim, pelo Eng. Luís Miguel Borges responsável pela parte burocrática e com funções indiferenciadas. Toda a equipa técnica da FLN, desde o primeiro dia se mostrou bastante recetiva, fui acolhida com grande hospitalidade. Demorei algum tempo a desinibir,

próprio da minha personalidade, mas graças a esta familiarização rapidamente me senti à vontade em colocar qualquer questão. Toda a equipa é muito unida e desde o primeiro dia me fez sentir parte integrante desta, o que contribui muito para o desempenho ao longo do meu estágio.

Existiram momentos de trabalho, mas também momentos de descontração e confraternização. Penso que evoluí tanto profissionalmente como pessoalmente.

#### **2.1.4 Diversidade nas tarefas desempenhadas**

Penso que é pertinente contactarmos com todo o tipo de tarefas de responsabilidade de um farmacêutico comunitário. Ao longo do meu estágio pude realizar um leque de tarefas que me permitiram alcançar seguramente, preparação para o futuro profissional.

Contactei com todo o percurso do medicamento dentro da farmácia, desde dar entrada das encomendas até à sua venda ao público.

As tarefas desempenhadas foram as seguintes:

- A gestão de encomendas e armazenamento dos produtos, com a receção das encomendas onde se conferiam os prazos de validade e caso necessário eram atualizados no SIFARMA, conferiam-se também os PVPs (Preços de Venda ao Público) e se as quantidades rececionadas seriam iguais às faturadas. Só após deste procedimento é que se procedia ao armazenamento dos produtos, excetuando os medicamentos que necessitavam de condições especiais de armazenamento, como os produtos de frio, que eram de imediato rececionados e armazenados. Quando se verificava alguma irregularidade, como produtos danificados ou com prazos de validade muito curtos procedia-se à sua reclamação. O armazenamento de medicamentos é uma tarefa muitas vezes desvalorizada, mas que contribui para a memorização das caixas, o que muitas vezes é importante quando os utentes nos pedem, aquele medicamento da “caixa verde”. Também contribui para a agilidade e rapidez no atendimento pois conseguimos dirigir-nos diretamente para o local onde este se encontra. Por último também desenvolvemos a competência em associar a marca ao princípio ativo e a perceção dos medicamentos que se encontram em stock e dos que têm maior volume de vendas.
- Reconstituição de alguns medicamentos por se tratarem de preparações extemporâneas. Alguns antibióticos encontram-se na forma de pó liofilizado, apenas aquando da sua dispensa é feita a sua reconstituição com água purificada.

- Manipulação de substâncias no laboratório da farmácia. Durante o meu estágio, inicialmente observei a preparação de alguns manipulados. Posteriormente eu própria procedi à manipulação sempre com a supervisão de algum farmacêutico, onde consegui colocar em prática o que aprendi nas aulas de Farmácia Galénica e Tecnologia Farmacêutica. Trataram-se sempre de medicamentos manipulados para afeções cutâneas. A ficha de preparação de um dos manipulados vem demonstrada no Anexo I.
- Gestão de *stocks*, onde se procedia à reposição de *stocks* de modo a agilizar o atendimento, reduzir o tempo de procura no atendimento e colocar os produtos em falta nos seus locais. Era realizado nos tempos mortos. Para tal, segui a regra do FEFO (*First-Expired, First-Out*), onde os produtos com menor prazo de validade são os primeiros a sair. Ao efetuar esta tarefa, conseguíamos, por conseguinte, ter a noção dos produtos que são necessários encomendar.
- O controlo dos prazos de validade. O SIFARMA gera listas de prazos de validade dos produtos a expirar num prazo definido por nós. Esta função é uma mais valia uma vez que conseguimos ter a perceção dos produtos com menor rotação e além disso, permite-nos assegurar que todos os produtos vendidos se encontram dentro do prazo.
- É na realização de montras e lineares que conseguimos pôr em prática e consolidar conhecimentos que nos foram transmitidos nas aulas de Marketing e Comunicação Farmacêutica e Gestão e Organização Farmacêutica. Aqui conseguimos tirar partido das zonas quentes e assim potenciar as compras por impulso e conseguir fazer sobressair os produtos com menor rotatividade.
- A farmácia também é um local onde se prestam serviços diferenciados. Assim, as pessoas vêm à farmácia não só com o intuito do medicamento, mas também em busca de outro tipo de serviços. Durante o meu estágio tive a possibilidade de presenciar a administração de vacinas e medicamentos injetáveis. Desde início a equipa alertou-me para a mais valia em tirar o curso de administração de vacinas e injetáveis.
- Também pude contribuir na realização de serviços farmacêuticos. Eles foram, a determinação de parâmetros bioquímicos, como a colesterolemia e a glicémia e a medição da tensão arterial. Estes serviços permitem a identificação de possíveis doentes não diagnosticados e posterior reencaminhamento para o seu médico.
- Faturação dos organismos. Ao longo do mês, as receitas materializadas vão sendo corrigidas e agrupados de acordo com o organismo a que pertencem. Cada lote é constituído por 30 receitas. Apesar de ser uma tarefa mais burocrática, também diz

respeito às funções do farmacêutico e como tal foi vantajoso poder assistir mesmo só participando no agrupamento das receitas consoante o organismo.

- Por último, o atendimento ao público. Considero a possibilidade de desde o primeiro dia de estágio observar os atendimentos bastante vantajosa, pois foi essencial para me ir ambientando a esta tarefa imprevisível e desafiante. Lembro-me que nessa fase, achei desde logo fascinante o contacto com o utente e o diálogo que se gerava. Posteriormente, comecei eu a efetuar atendimentos ao público, sempre acompanhada por um farmacêutico. Sem dúvida é a tarefa que nos coloca mais à prova, e uma das mais difíceis uma vez que envolve pôr em prática tudo o que nos foi transmitido nas Farmacologias, Indicação Farmacêutica, Farmácia Clínica acrescido à interação que se tem que estabelecer com o cliente.

## **2.2. Pontos Fracos (*Weaknesses*)**

### **2.2.1 Aconselhamento farmacêutico**

A falta de confiança que tinha em mim dificultou alguns dos meus atendimentos. Além disso, existe um mundo de suplementos, produtos de cosmética e medicamentos não sujeitos a receita médica (MNSRM) ou medicamentos não sujeitos a receita médica de dispensa exclusiva em farmácia (MNSRM-EF) o que causa alguma indecisão no momento de aconselhar o produto mais indicado.

É a capacidade em aconselhar e o conhecimento pormenorizado dos produtos que distingue os farmacêuticos das pessoas sem formação que se encontram em estabelecimentos onde se podem também comprar estes produtos.

### **2.2.2 Planos de participação**

A prescrição manual só é permitida em situações excecionais, em caso de falência informática, inadaptação do prescriptor, prescrição no domicílio e cada médico pode prescrever até 40 receitas por mês. Ao longo do estágio contactei poucas vezes com receitas manuais, uma vez que estão a cair em desuso, sendo apenas autorizado o seu uso nas situações acima descritas. Ao contrário das receitas desmaterializadas, as receitas materializadas não assumem automaticamente o regime especial de participação. Tendo em conta que existem inúmeros planos de participação, muitas vezes senti dificuldade em reconhecer qual plano selecionar. Alguns dos planos de participação são os seguintes: regime geral correspondente ao 01; Pensionistas corresponde ao 48; o SAVIDA corresponde ao A97.

### **2.2.3 Associação das marcas comerciais**

Uma das grandes dificuldades com que me deparei quando iniciei o atendimento foi a associação das designações das marcas comerciais ao respetivo princípio ativo. Mesmo os Medicamentos Sujeitos a Receita Médica (MSRM) estando prescritos através da Denominação Comum Internacional (DCI), muitas vezes são solicitados através do nome da marca. Assim, o atendimento não era tão rápido porque tinha de pedir ajuda a um colega, o que também dificultava o fluir da comunicação com o utente.

## **2.3. Oportunidades (*Opportunities*)**

### **2.3.1 Software SIFARMA 2000®**

Este software foi uma ferramenta bastante útil durante o estágio. Com ele, executamos todas as tarefas inerentes ao exercício da profissão farmacêutica numa farmácia.

Este dá-nos acesso a toda a informação científica sobre determinado medicamento, como a indicação terapêutica, interações, composição, reações adversas.

### **2.3.2 Programa Valormed**

Posso afirmar com toda a certeza que todos os dias em que estagiei os utentes traziam os seus medicamentos já não utilizados ou a embalagens e os *blisters* para colocarem no contentor da Valormed. Fiquei bastante surpreendida com a adesão a este programa por parte da população. Durante os atendimentos tive a oportunidade em incentivar a população a participar e transmitir a importância que acarreta para a saúde pública bem como para a preservação do ambiente.

### **2.3.3 Colaboração com instituições**

A FLM colabora com várias instituições pertencentes ao concelho de Miranda do Corvo, nomeadamente lares e unidades de cuidados continuados, fornecendo toda a medicação necessária e todo o tipo de produtos.

Antes de iniciar o atendimento ao público, acho que o aviamento destas receitas sem a presença do utente foi bastante vantajoso. Permitiu-me trabalhar com o SIFARMA® e ter um maior contacto com os medicamentos sem a pressão do utente.

## **2.4. Ameaças (*Threats*)**

### **2.4.1 Estagiária/Jovem vista aos olhos da população**

Muitas vezes senti-me bastante acarinhada e senti a responsabilidade e a credibilidade que muitos utentes depositavam em mim principalmente os mais idosos. O que me deixava muito contente e orgulhosa da profissão que irei exercer. Contudo nem sempre foi assim, muitas vezes os utentes preferiam ser atendidos pelos meus colegas o que muitas vezes me deixava frustrada, ou faziam questão em confirmar as indicações que lhes prestava no meu atendimento.

### **2.4.2 Medicamentos esgotados**

Cada vez mais é uma realidade a quebra de *stock* de alguns medicamentos. Durante o meu estágio os seguintes medicamentos entraram em rutura: Adalat CR<sup>®</sup> 30mg, Victan<sup>®</sup>, Permadoze oral<sup>®</sup>, Cipralax<sup>®</sup> 10mg e Serenal<sup>®</sup> 50mg. Isto provoca ansiedade tanto a nível dos utentes como também a nós próprios pois de certa forma sentimo-nos impotentes mesmo que consigamos oferecer outras alternativas. Muitas pessoas já estão habituadas e recusam-se a substituir para um medicamento genérico correspondente. Nestes casos, resta-nos encaminhar os utentes ao seu médico para que seja prescrita uma alternativa.

### **2.4.3 Limitação em determinadas categorias**

Penso que uma das causas para a minha dificuldade no aconselhamento é a limitação de conhecimentos em determinadas categorias. Produtos de ortopedia muitos vezes solicitados, como meias elásticas ou pulsos, em que temos que saber tirar as medidas ao utente, são tópicos que não constam no plano de estudos. Sempre que a necessidade do utente se relacionava com produtos de ortopedia, o farmacêutico que me acompanhava era obrigado a intervir. Muitas vezes fui confrontada com pedidos de produtos de veterinária ou aconselhamento para animais. Acho que o programa da cadeira de Preparações de Uso Veterinário está mais focado noutros aspetos em detrimento de casos concretos e reais de pedidos em farmácia comunitária. No que respeita à Dermofarmácia, existem inúmeras linhas de produtos com as quais nunca contactei, o que também me dificultou o atendimento.

#### **2.4.4 Locais de venda de Medicamentos Não Sujeitos a Receita Médica (MNSRM)**

O Decreto-Lei n.º 134/2005 de 16 de agosto veio legalizar a venda de MNSRM fora das farmácias. (1) Estes locais de venda têm vindo a crescer consideravelmente e posto em causa o propósito da profissão farmacêutica assim como a saúde da população.

Como as grandes superfícies efetuam um grande volume de encomendas, conseguem implementar PVPs inferiores aos da farmácia, o que leva a que os utentes optem por se deslocar a estes estabelecimentos e conseqüentemente contribui para a diminuição das vendas nestes medicamentos por parte das farmácias.

Além de afetar a rentabilidade da farmácia também prejudica a saúde da população. Torna-se mais fácil a automedicação que muitas vezes não é ajustada às verdadeiras necessidades terapêuticas e há falta de acompanhamento farmacoterapêutico que permite um uso racional e em segurança do medicamento.



### 3. Casos Clínicos

#### Caso 1

A utente A, do sexo feminino e com aproximadamente 50 anos, dirigiu-se à farmácia com queixas de dores abdominais e episódios diarreicos há já 2 dias. Solicita uma solução rápida uma vez que é uma situação que lhe causa bastante transtorno a nível profissional. Primeiro garanti que a senhora não apresentava estados febris ou sangue e muco nas fezes. Como não apresentava nenhum destes sintomas, dispensei uma embalagem de Imodium Rapid<sup>®</sup>, comprimidos orodispersíveis com 2mg de loperamida - agente obstipante que diminui o peristaltismo propulsivo, aumentando o tempo de trânsito intestinal e a reabsorção de água. (2) Este medicamento é indicado para o tratamento sintomático das diarreias agudas e crónicas. Aconselhei a toma imediata de 2 comprimidos seguida de 1 comprimido após cada dejeção diarreica, até ao máximo de 6 comprimidos por dia. Por último, ressaltar como medida não farmacológica de extrema importância a hidratação que pode ser complementada com a toma de Dioralyte<sup>®</sup> - pó para solução oral - para uma reposição dos eletrólitos mais eficaz. Cada saqueta deve ser dissolvida em 200ml e tomada após cada dejeção diarreica. (3)

#### Caso 2

O utente B, do sexo masculino e com aproximadamente 40 anos, dirigiu-se à farmácia com queixas de dores musculares nas pernas. Em conversa inicial refere que depois de ter dado a sua corrida habitual começou a sentir uma dor no gêmeo que revela um estiramento deste. Primeiro garanti que não apresentava nenhuma patologia associada, como diabetes, hipertensão arterial ou asma. De seguida, dispensei uma embalagem de Ilgesin<sup>®</sup>, comprimidos que contêm 200mg de naproxeno como princípio ativo, um Anti-Inflamatório Não Esteróide (AINE). Aconselhei a toma de 1 comprimido de 8 em 8 horas sempre após as refeições, no máximo durante 3 dias.(4)

### Caso 3

O utente C, do sexo masculino e com aproximadamente 30 anos, dirigiu-se à farmácia com queixas de ardor no peito e mau estar no estômago após grandes refeições. Primeiro questionei o utente sobre a frequência desta sintomatologia ao qual ele me responde que só costuma acontecer quando “come demais”. Também questionei se também apresentava flatulência tendo obtido uma resposta positiva. Sendo assim, optei por dispensar uma embalagem de Kompensam-S<sup>®</sup>, comprimidos com 340mg de carbonato de di-hidróxido de alumínio e sódio (antiácidos) e 3mg de dimeticone (antiflatulento). Aconselhei a toma de 1 a 2 comprimidos no intervalo ou após as refeições, ao deitar ou se os sintomas assim o exigirem.(5) Alertei para o facto dos antiácidos que contém alumínio poderem provocar sintomas de obstipação. Como medidas não farmacológicas aconselhei: evitar alimentos muito condimentados, bebidas gaseificadas, álcool, café e fazer várias refeições leves ao longo do dia.

## **4. Conclusão**

Concluído o meu estágio curricular na Farmácia Lima Natário, reconheço que este foi uma experiência enriquecedora tanto a nível pessoal, pelo contacto com os utentes e equipa técnica, como a nível profissional, pois pude colocar em prática todos os conhecimentos que adquiri ao longo destes 5 anos de curso. Considero que a realização do estágio é um ponto extremamente importante da nossa formação pois, mais que tudo, permite-nos perceber o papel do farmacêutico na sociedade.

Após esta etapa sinto-me melhor preparada para enfrentar novos desafios e entrar no mercado de trabalho como uma profissional de saúde especialista no medicamento.

Resta-me agradecer à Dra. Cacilda e a toda a equipa que compõe a Farmácia Lima Natário pela oportunidade de estagiar e por todos os momentos de boa disposição, o carinho, a paciência e todos os ensinamentos que me transmitiram. Sem dúvida que serão sempre lembrados como parte integrante do meu percurso académico!

## 5. Bibliografia

1. Decreto-Lei n.º 134/2005 de 16 de agosto de 2005 do Ministério da Saúde, Diário da República, 1ª Série, n.º. 156 de 16 de agosto de 2005.
2. INFARMED, I.P. - **Resumo das Características do Medicamento Imodium Rapid® 2mg, Comprimidos Orodispersíveis** [Consultado a 10 de julho 2020]. Disponível em <https://extranet.infarmed.pt/INFOMED-fo/detalhes-medicamento.xhtml>
3. INFARMED, I.P. - **Resumo das Características do Medicamento Dioralyte®, Pó para Solução Oral** [Consultado a 10 de julho 2020]. Disponível em <https://extranet.infarmed.pt/INFOMED-fo/detalhes-medicamento.xhtml>
4. INFARMED, I.P. - **Resumo das Características do Medicamento Ilgesin®, Comprimidos revestidos por película** [Consultado a 10 de julho 2020]. Disponível em <https://extranet.infarmed.pt/INFOMED-fo/detalhes-medicamento.xhtml>
5. INFARMED, I.P. - **Resumo das Características do Medicamento Kompensan-S®, Comprimidos** [Consultado a 10 de julho 2020]. Disponível em <https://extranet.infarmed.pt/INFOMED-fo/detalhes-medicamento.xhtml>

## 6. Anexo I – Ficha de preparação do medicamento manipulado



**FARMÁCIA LIMA NATÁRIO**

Rua do Cruzeiro nº 67 Loja 10  
3220-209 Miranda do Corvo  
Tel. 239532080 Fax. 239532071

Ficha de preparação

Dir.Téc. Drª Maria Cacilda Borges

Utente:	[REDACTED]	Nº Utente:
Médico:	[REDACTED]	
Manipulado: Ácido Salicílico+ Dermovate+ Vaselina		

Forma Farmacêutica: Pomada	Data de preparação: 17-01-20	Prazo de validade: 01-08-21
Nº Lote: 01-01-20	Qtd. Total medicamento: 100g	Número Doses: 1

Advertências: MANTER FORA DO ALCANCE DAS CRIANÇAS	Condições de Conservação:
------------------------------------------------------	---------------------------

Tipo de Aplicação: USO EXTERNO	Obs:	Honorários: 5,03 €
		Factor Multiplicativo: 3
		Gramas Adicional 15,09 €

Matérias Primas	Nº Lote	Qtd. Usada	Un.	Preço Mat. Prima
Ácido Salicílico	RAS1810400	5	g	0,13 €
Dermovate Pomada	BM9F	30	g	4,23 €
Dermovate Pomada	VX2P	30	g	4,23 €
Vaselina	15.024518	35	g	0,35 €

Embalagens e Rótulos	Nº Lote	Qtd. Usada	Preço embalagem
Unguator 100		1	1,35 €

Método de Preparação
Pesagem do ácido salicílico
Tarar o recipiente Unguator e pesar a quantidade total de Dermovate
Incorporar o ácido salicílico ao Dermovate
Adicionar a vaselina à mistura prévia
Homogeneizar a pomada
Acondicionar e rotular adequadamente.

Ensaio	Especificação	Conforme	Utilizador	Assinatura
Cor		<input checked="" type="checkbox"/>		
Odor		<input checked="" type="checkbox"/>		
Aspecto		<input checked="" type="checkbox"/>		
Textura		<input type="checkbox"/>		
pH		<input type="checkbox"/>		



**FARMÁCIA LIMA NATÁRIO**  
Rua do Cruzeiro n° 67 Loja 10  
3220-209 Miranda do Corvo  
Tel. 239532080 Fax. 239532071

Ficha de preparação

Dir.Téc. Dr<sup>a</sup> Maria Cacilda Borges

Observações				
-------------	--	--	--	--

Operador: \_\_\_\_\_

Verificação: Director Técnico

Valor s/IVA: 25,38 €

Supervisão: \_\_\_\_\_

Valor IVA 6% 1,52 €

Valor Factor 30% 8,07 €

\_\_\_\_\_/\_\_\_\_\_/\_\_\_\_\_

**Valor PVP:** 34,97 €

## **PARTE 2**

### **MONOGRAFIA**

**“COMPOSTOS BIOATIVOS DE FRUTOS VERMELHOS UMA  
ALTERNATIVA TERAPÊUTICA NA PREVENÇÃO E  
TRATAMENTO DA CÁRIE?”**

## Resumo

A cavidade oral é colonizada por centenas de bactérias e outros microrganismos. Entre eles destaca-se a bactéria *Streptococcus mutans* como a bactéria com elevado potencial cariogénico. A cárie é a doença oral que mais afeta a população mundialmente, tem origem na quebra da homeostase da microflora oral e é provocada por vários fatores. As bactérias organizam-se em estruturas denominadas biofilmes. Biofilmes são estruturas organizadas de diferentes espécies de bactérias e outros microrganismos envolvidos numa rede de polissacarídeos, proteínas e ADN, e são os responsáveis pela maioria das infeções crónicas e recorrentes. Todos os biofilmes apresentam um sistema de comunicação designado por *Quorum Sensing*. Este tem um papel fulcral no desenvolvimento do biofilme. Vários compostos presentes em frutos vermelhos, nomeadamente em bagas de *Vaccinium macrocarpon* e *Vaccinium corymbosum* e no fruto de *Prunus cerasus* L., apresentam propriedades antimicrobianas, na medida que interferem com a formação de biofilme e com o *Quorum Sensing*. Estes compostos são principalmente as antocianidinas e seus glicósidos, as antocianinas, e as proantocianidinas. Os estudos realizados até ao momento sugerem que estes compostos poderão constituir uma possível alternativa terapêutica na prevenção e tratamento da cárie.

**Palavras-chave:** *Streptococcus mutans*, biofilme, cárie, antocianidinas, antocianinas, proantocianidinas, *Quorum Sensing*.



## **Abstract**

The oral cavity is colonized by hundreds of bacteria and other microorganisms. Among them stands out the bacterium *Streptococcus mutans* as the bacterium with high cariogenic potential. Caries is the oral disease that most affects the population worldwide, originates in the breakdown of oral microflora homeostasis and is caused by several factors. Bacteria are organized into structures called biofilms. Biofilms are organized structures of different species of bacteria and other microorganisms wrapped in a network of polysaccharides, proteins and DNA, and are responsible for most chronic and recurrent infections. All biofilms have a communication system called Quorum Sensing. This has a key role in the development of biofilm. Several compounds present in red fruits, particularly berries of *Vaccinium macrocarpon* and *Vaccinium corymbosum* and in fruits of *Prunus cerasus L.*, have antimicrobial properties, as they interfere with the formation of biofilm and *Quorum Sensing*. These compounds are anthocyanidins, their glycosides, anthocyanins, and proanthocyanidins. In my opinion, these compounds will be a possible therapeutic alternative in the prevention and treatment of caries.

**Keywords:** *Streptococcus mutans*, biofilm, caries, anthocyanidins, anthocyanins, proanthocyanidins, *Quorum Sensing*.

## **Lista de Abreviaturas**

**ADN** - ácido desoxirribonucleico

**EPS** - exopolissacarídeo

**LAH** - N-acil-homoserina

**NDM-TCJ** - *nondialyzable material from tart cherry juice*

**QS** - *Quorum Sensing*

## **I. Introdução**

A problemática das infecções repetidas e recorrentes é abordada cada vez mais pelos investigadores. A resistência aos antibióticos cada vez mais se torna evidente tornando-se alvo de diversas investigações. Será que nos aproximamos de um mundo pré Era da penicilina? Será que uma infecção facilmente tratável nos dias de hoje poderá ter outro desfecho num futuro próximo?

A procura por novos agentes antimicrobianos é algo bastante estudado. Existem diversos estudos com o foco em componentes bioativos de plantas que revelaram propriedades antimicrobianas. As infecções orais não são exceção, a problemática das resistências também se aplica a estas.

As afeções orais, nomeadamente a cárie, afetam negativamente a vida e prejudicam significativamente a qualidade de vida da população.(1)

Apesar dos avanços na medicina, infecções orais e cáries dentárias continuam a revelar-se sérios problemas de saúde pública principalmente em países desenvolvidos.(2)

O principal objetivo deste trabalho será apresentar e discutir os estudos que suportam o uso de compostos bioativos presentes em alguns frutos vermelhos como alternativas terapêuticas para a prevenção e tratamento da cárie dentária.

## 2. Afeções orais/bucodentárias

A cavidade oral é um dos ecossistemas microbianos mais complexos presente em humanos. Estima-se que contenha mais de 600 espécies microbianas, contudo apenas uma pequena parte tem capacidade para causar infeções orais.(3) O epitélio oral ajuda na manutenção de uma cavidade oral saudável, uma vez que funciona como barreira física eficiente.(4)

A cavidade oral é colonizada por uma microflora que se encontra em equilíbrio com a mucosa oral. A microflora é benéfica para o hospedeiro, uma vez que protege contra a colonização de microrganismos exógenos. Contudo, quando o equilíbrio é perturbado, a composição do biofilme é alterada, as bactérias mais virulentas tornam-se dominantes, e consequentemente desencadeando o aparecimento de várias doenças. Concretamente, no caso do biofilme dentário, a sua perturbação leva ao aparecimento/ desenvolvimento de cáries e doenças periodontais.(5)

Algumas das afeções orais são: as aftas, lesões muito comuns na mucosa oral; estomatite aftosa (vulgarmente conhecida por sapinhos), afeta principalmente crianças e é causada por um fungo designado *Candida albicans*; doenças periodontais, a gengivite (inflamação da gengiva) e a periodontite (inflamação de todos os tecidos periodontais, ocorrendo destruição irreversível do osso e dos ligamentos que suportam os dentes;(5), e a cárie dentária, que ocorre quando as bactérias fermentam hidratos de carbono e produzem ácidos orgânicos que provocam a desmineralização do esmalte, seguida da destruição da dentina. Se não tratada, vai migrando para o interior do dente e causa a destruição proteolítica da polpa, o tecido mole situado no centro do dente, provocando um abscesso dentário.(6)

As infeções orais mais comuns são a doença periodontal, candidíase e a cárie dentária.(1)

### 2.1. Cárie dentária

O dente é composto por 3 zonas, o esmalte, a dentina, e a polpa. O esmalte é a parte mais exterior e é considerado o tecido mais duro e mineralizado do corpo humano. A polpa, em condições normais é estéril, contudo, cáries profundas ou traumas podem contaminar este ambiente. As bactérias presentes na cárie e saliva ao penetrarem na polpa, iniciam um processo inflamatório designado pulpíte.(5)

A cárie dentária é a doença oral mais comum e afeta todas as idades, etnias e grupos socioeconómicos. Embora a presença de bactérias cariogénicas seja crucial para desenvolvimento da cárie, esta é uma doença multifatorial. Cárie é o resultado da quebra da homeostase da microflora oral, mas outros fatores contribuem para o seu desenvolvimento. A qualidade da hidroxiapatita (mineral de fosfato de cálcio que integra a estrutura do esmalte), a quantidade de hidratos de carbono ingeridos, o fluxo salivar e os seus constituintes, são também fatores relevantes no seu desenvolvimento.(7)

Ao fermentarem hidratos de carbono, as bactérias produzem ácidos orgânicos (principalmente lactato) que provocam a desmineralização do esmalte, seguida de destruição da dentina e por último de destruição proteolítica da polpa.(6)

A desmineralização do dente ocorre quando o pH no biofilme é inferior a 5,5, o chamado pH crítico.(5)

O equilíbrio da microflora controla o aparecimento da cárie. Ao ser perturbado, por um aumento da ingestão de hidratos de carbono, higiene oral insuficiente ou diminuição do fluxo salivar, dá-se a proliferação das bactérias cariogénicas que passam a dominar o biofilme e que provocam a desmineralização do esmalte e conseqüentemente à cárie dentária.(5)(8)

As bactérias presentes no biofilme dentário podem ser responsáveis pelo aparecimento de doenças sistémicas. A infeção sistémica mais conhecida provocada por bactérias dentárias é a endocardite. Maioritariamente, bactérias do género *Streptococcus* colonizam o endocárdio iniciando a formação de um biofilme neste tecido.(9)

Existem diversos estudos epidemiológicos que apontam uma relação entre periodontite e *Diabetes Mellitus*.(10)

### **3. Principais microrganismos da cavidade oral**

A cavidade oral é colonizada por centenas de espécies bacterianas. As bactérias presentes no biofilme dentário não se encontram organizadas aleatoriamente, aliás, apresentam um elevado nível de estruturação. Durante o processo de colonização podemos subdividir as bactérias em colonizadores iniciais e colonizadores tardios. As primeiras, como o nome indica são os primeiros colonizadores e aderem à superfície do dente. Os colonizadores tardios, por sua vez, ligam-se aos colonizadores primários já aderidos. Além desta divisão, as bactérias da cavidade oral encontram-se agrupadas em 6 complexos tendo em conta o seu grau de patogenicidade. Alguns exemplos encontram-se na Tabela I.

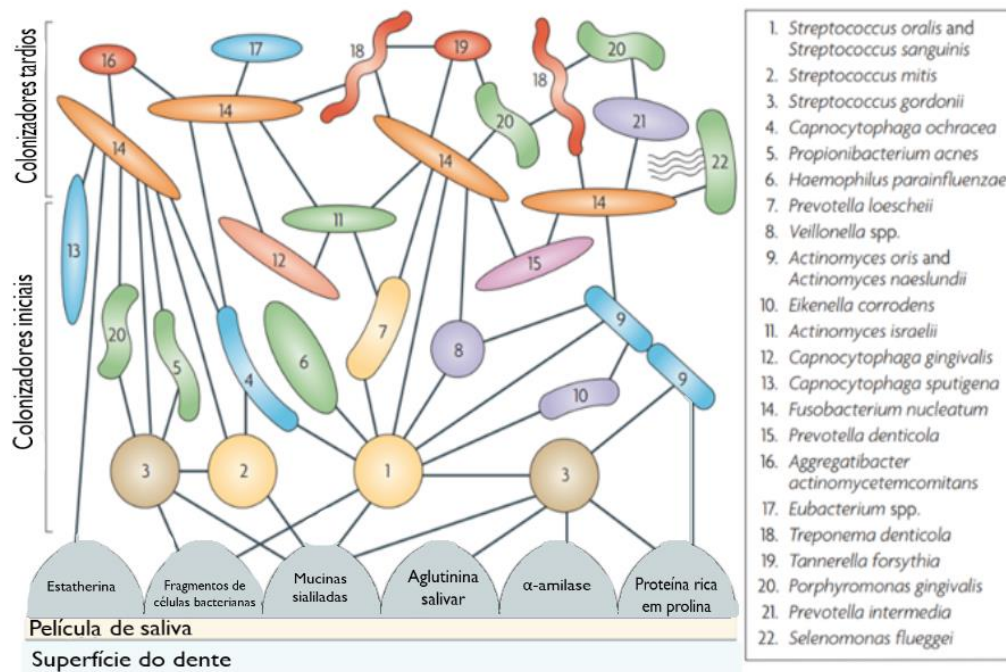
**Tabela I.** Complexos microbianos detetados no biofilme dentário. Adaptado de (11)

<b>Grupo</b>	<b>Espécies</b>
<b>Colonizadores iniciais</b>	
Complexo amarelo	<i>Streptococcus oralis</i> , <i>S. sanguinis</i> , <i>S. mitis</i> , <i>S. gordonii</i> , <i>S. intermedius</i>
Complexo azul	<i>Actinomyces</i> spp. <i>Capnocytophaga</i> spp., <i>Eikenella corrodens</i> ,
Complexo verde	<i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i>
Complexo roxo	<i>Veillonella parvula</i> , <i>Actinomyces odontolyticus</i>
<b>Colonizadores tardios</b>	
Complexo laranja	<i>Fusobacterium nucleatum</i> subsp., <i>Prevotella intermedia</i> , <i>P. nigrescens</i> , <i>Peptostreptococcus micros</i> , <i>Camphylobacter</i> spp., <i>Eubacterium nodatum</i> , <i>Streptococcus constellatus</i>
Complexo vermelho	<i>Porphyromonas gingivalis</i> , <i>Tannerella forsythia</i> , <i>Treponema denticola</i>

Do conjunto das bactérias da flora da cavidade oral, salientam-se as espécies bacterianas *Fusobacterium nucleatum* e *Streptococcus mutans* uma vez que, constituindo a base de grande parte dos estudos seguidamente abordados, o seu conhecimento é essencial para melhor compreensão dos correspondentes estudos. Além disto, *Streptococcus mutans* possui elevado potencial em causar a cárie.

### **3.1. *Fusobacterium nucleatum***

*F. nucleatum* é um microrganismo ponte entre as colónias iniciais e as espécies anaeróbias colonizadoras secundárias que compreendem os patogénicos periodontais, uma vez que a ligação dos colonizadores tardios aos colonizadores iniciais se faz através destes. (12) As espécies do género *Fusobacterium* têm um papel importante na formação do biofilme dental maduro pois coagregam com as bactérias iniciais (gram-positivas) e com as bactérias que colonizam posteriormente (gram-negativas) e bactérias móveis.(5)



**Figura I.** Colonização bacteriana oral. Encontram-se representados os colonizadores iniciais e os colonizadores tardios. Adaptado de (12)

### 3.2. *Streptococcus mutans*

*Streptococcus mutans*, bactéria pertencente ao grupo dos  $\beta$ -hemolíticos, é um dos principais constituintes da microflora oral e do biofilme dentário.(7) É conhecida como a maior bactéria cariogénica por possuir elevado potencial em causar a cárie. Contudo, a cárie pode ser detetada na ausência de *S. mutans*, e a sua presença não indica obrigatoriamente a existência de cárie. Tal facto significa que outras bactérias também contribuem para a desmineralização do dente.(5)

*S. mutans* produz polissacarídeos extracelulares que contribuem para a formação do biofilme dentário.(13) Além disso, esta bactéria é acidúrica (tolerante ao ácido), o que a torna capaz de fermentar hidratos de carbono e continuar a desmineralização do esmalte mesmo sob condições ácidas.(5)

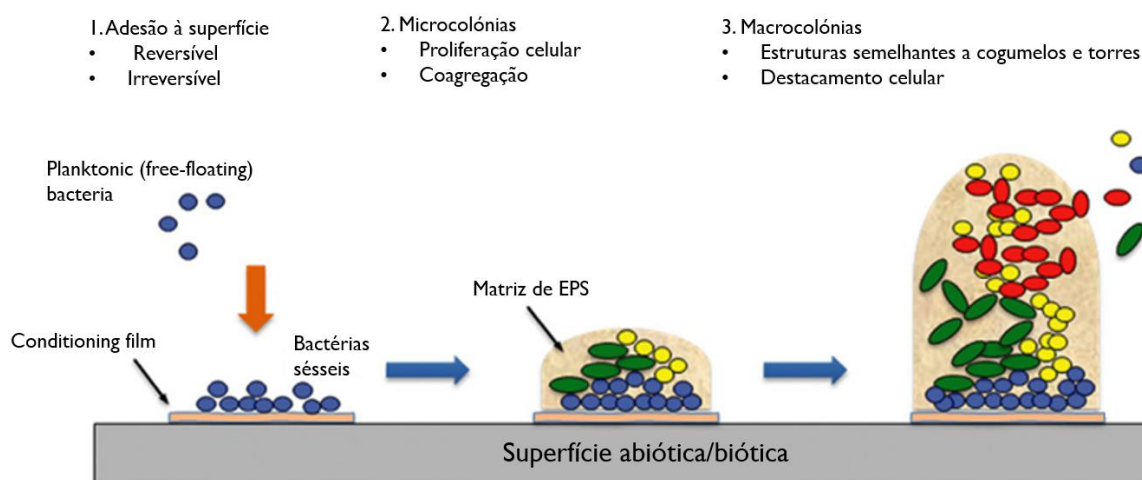
## 4. Biofilme dentário

Biofilmes são grupos estruturados e organizados de bactérias de diferentes espécies que se encontram aderidas em superfícies e envoltas numa rede de polissacarídeos, proteínas e ADN (ácido desoxirribonucleico) e que são responsáveis pela maioria das infeções crónicas e recorrentes. Aproximadamente 65-80% das infeções repetidas são relacionadas com esta estrutura.(11) Apesar das bactérias dominarem os biofilmes, não são os únicos microrganismos presentes.(5)

O biofilme dentário é similar aos biofilmes existentes em outras partes do corpo. É parte da microflora oral e estabelece uma interação com o sistema imunitário compatível com o conceito de saúde. A composição do biofilme não é igual, ela varia consoante os diferentes locais da cavidade oral, mas também entre diferentes indivíduos. O biofilme dentário foi o primeiro tipo de biofilme humano a ser estudado.(5)

Para as bactérias conseguirem colonizar com sucesso a cavidade oral, necessitam de expressar adesinas que irão permitir um ligamento inicial à superfície do esmalte ou à mucosa oral. Com o tempo, estas microcolónias vão se tornando num biofilme maduro.(1) Este consiste em mais de 100 diferentes espécies microbianas.(5) Este processo encontra-se ilustrado na Figura 2. Com a maturação do biofilme, este vai migrando e acumula-se na zona subgingival o que contribui frequentemente para o início da doença periodontal.(14) As bactérias dos biofilmes são a causa primária de doenças dentais.(5)

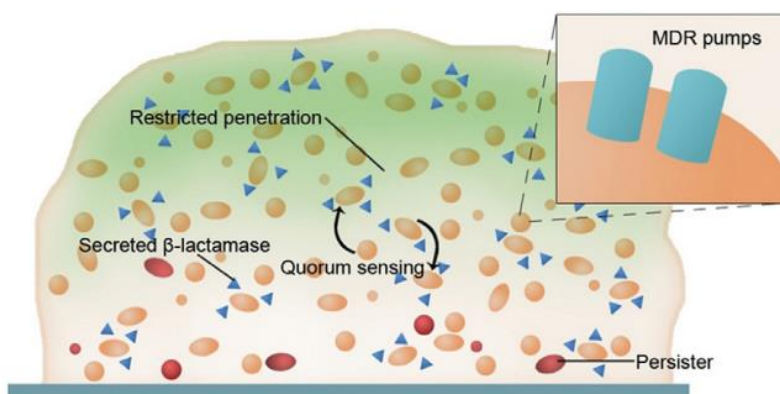
Biofilmes podem resultar em vários tipos de infeção consoante o local onde este se localize. Periodontite, endocardite, osteomielite e infeções do trato urinário são alguns exemplos.(15)



**Figura 2.** Representação esquemática dos passos no desenvolvimento do biofilme. Os três principais estágios incluem a adesão à superfície, formação de uma monocamada de microcolónias e a formação de uma estrutura tridimensional (maturação do biofilme) com dispersão de células. Adaptado de (11)



Muitas bactérias que são sensíveis à antibioterapia, quando pertencentes a esta rede complexa desenvolvem resistência. Bactérias presentes no biofilme são altamente resistentes a antibióticos. Esta resistência deve-se sobretudo à matriz de exopolissacarídeo (EPS) que as envolve. Apenas as bactérias que se encontram fora desta matriz são alvo do antibiótico.(16) O biofilme confere então proteção contra condições adversas, agentes antimicrobianos e as defesas do hospedeiro.(1) Confere um ambiente protetor para os microrganismos uma vez que diminui a penetração dos agentes antimicrobianos, permite uma baixa atividade metabólica (como se estivessem adormecidos) e permite a concentração de enzimas que inativam antibióticos, conforme ilustrado na Figura 3. Isto contribui para a recorrência de infeções e falha no tratamento, consequentemente levando ao aumento das resistências. Assim, o estudo de novos compostos que afetem a formação do biofilme é considerado promissor no desenvolvimento de novas terapêuticas.(16)



**Figura 3.** Representação esquemática dos diferentes mecanismos envolvidos no aumento das resistências aos antibióticos. A matriz de exopolissacarídeo dificulta a penetração de agentes antimicrobianos. A secreção e acumulação de  $\beta$ -lactamases e a expressão de bombas de efluxo. O *Quorum Sensing* como via de comunicação. Adaptado de (11)

As infeções orais também não são exceção. Uma vez que cada vez mais os patógenos orais estão a tornar-se também mais resistentes aos antibióticos, há uma procura acelerada e urgente por novos compostos com propriedades antimicrobianas. As plantas medicinais são uma fonte potencial destes compostos.(7)

A aderência ao esmalte dentário é de facto, o primeiro passo na formação da placa dentária. Ao inibir/diminuir a aderência conseguiremos prevenir as cáries dentárias. Assim, compostos com esta atividade são realmente promissores na prevenção da cárie dentária.(1)(7)

Em locais estéreis em condições de saúde, o biofilme deve ser erradicado, mas em locais onde saudavelmente há uma microflora, o biofilme não deve ser eliminado, apenas se

deve restabelecer a homeostase. Assim sendo, em relação à flora da cavidade oral, o biofilme deve manter-se em equilíbrio.(5)

Todos os biofilmes apresentam um sistema de comunicação chamado *Quorum Sensing*, o biofilme dental não é exceção.(5)

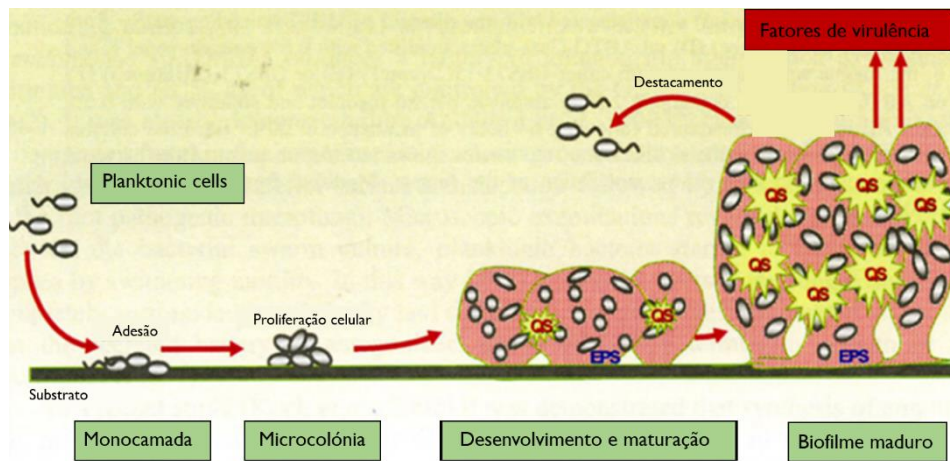
#### **4.1. Sistema de comunicação célula-célula (*Quorum Sensing*)**

*Quorum Sensing* (QS) é um sistema de comunicação célula a célula através de pequenas moléculas que irá resultar na expressão de determinado fenótipo consoante a densidade celular. Baseia-se na produção e percepção de pequenas moléculas responsáveis pela regulação de genes alvo.(17)

Este fenómeno é sobretudo investigado entre bactérias gram-negativas e as moléculas de sinalização mais encontradas são as lactonas N-acil-homoserina (LAHs). (18) Estes sistemas reguladores baseados em LAHs normalmente compreendem duas proteínas, uma LAH sintase e um recetor LAH.(17) As moléculas de sinalização, no caso de bactérias gram-positivas são péptidos com grupos metilo.(16)

O nível de LAH em situação de baixa densidade encontra-se basal, com o aumento da densidade celular as LAHs acumulam no meio. Quando atingem um limite crítico de concentração, vão ligar-se ao recetor. Esta ligação irá ativar ou inibir a expressão de determinado gene alvo. (16)(17)

Esta forma de regulação génica permite que as bactérias adquiram fatores de virulência apenas detetados pelo sistema imunitário do hospedeiro quando a densidade bacteriana é suficientemente elevada para estabelecer uma infeção com sucesso.(17) Este sistema de comunicação tem assim um papel significativo na estrutura e virulência do biofilme.(5)(1) A representação esquemática da Figura 4 retrata o processo de formação de fatores de virulência.



**Figura 4.** Representação esquemática da formação do biofilme com destaque para o QS e fatores de virulência. Adaptado de (18)

QS tem um papel fulcral na formação do biofilme. Se o tivermos como alvo, conseguiremos erradicar o biofilme.(16)

De acordo com (17), compostos fenólicos como o ácido elágico, ácido tânico e epigalocatequina esterificada com ácido gálico interferem especificamente com a sinalização mediada por LAH, isto é, interferem com o QS. Além disso, também mostra que mutantes LAH-negativo produzem biofilmes significativamente mais finos, assim, consequentemente, é expectável que a inibição do QS previna a colonização de superfícies.

## 5. Tratamentos convencionais na prevenção da cárie

O tratamento da cárie é muito dispendioso, mas a sua prevenção é muito simples e eficaz. Alguns métodos utilizados atualmente na prevenção da cárie dentária são: o uso de pastas dos dentes e colutórios fluoretados; o combate à placa dentária através de agentes químicos como por exemplo colutórios com clorhexidina; modificações na dieta, isto é, diminuição do consumo de alimentos açucarados e aumento do consumo de fibras para estimular o fluxo salivar; e intervenções de prevenção por profissionais como o uso de selantes e a aplicação de verniz fluoretado.(6)

## 6. Compostos fenólicos presentes em frutos vermelhos

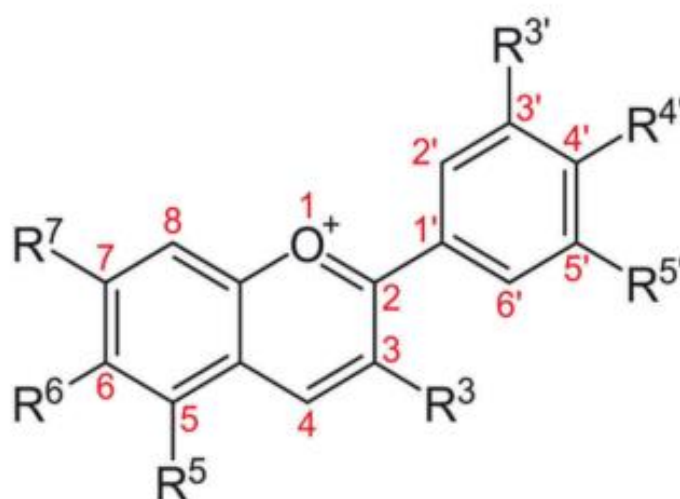
### 6.1. Antocianidinas e antocianinas

As antocianidinas são compostos fenólicos que pertencem à classe dos flavonóides (C6-C3-C6).(19) Encontram-se em flores e frutos vermelhos de muitas plantas, e são as responsáveis pelo tom azul, roxo e vermelho destas. São muito abundantes em todo o tipo de bagas. Além das bagas, existem outras fontes deste composto como groselhas, uvas, romãs, mirtilos, arandos.(20)

O perfil de composição em compostos fenólicos varia consoante a espécie da baga. Além disso, a sua composição é também influenciada por vários fatores, incluindo o estado de maturidade do fruto, espécie, condições de cultivo, tempo de armazenamento.(21) A cianidina-3-glucosido é a principal antocianina encontrada na maioria das plantas.(20)

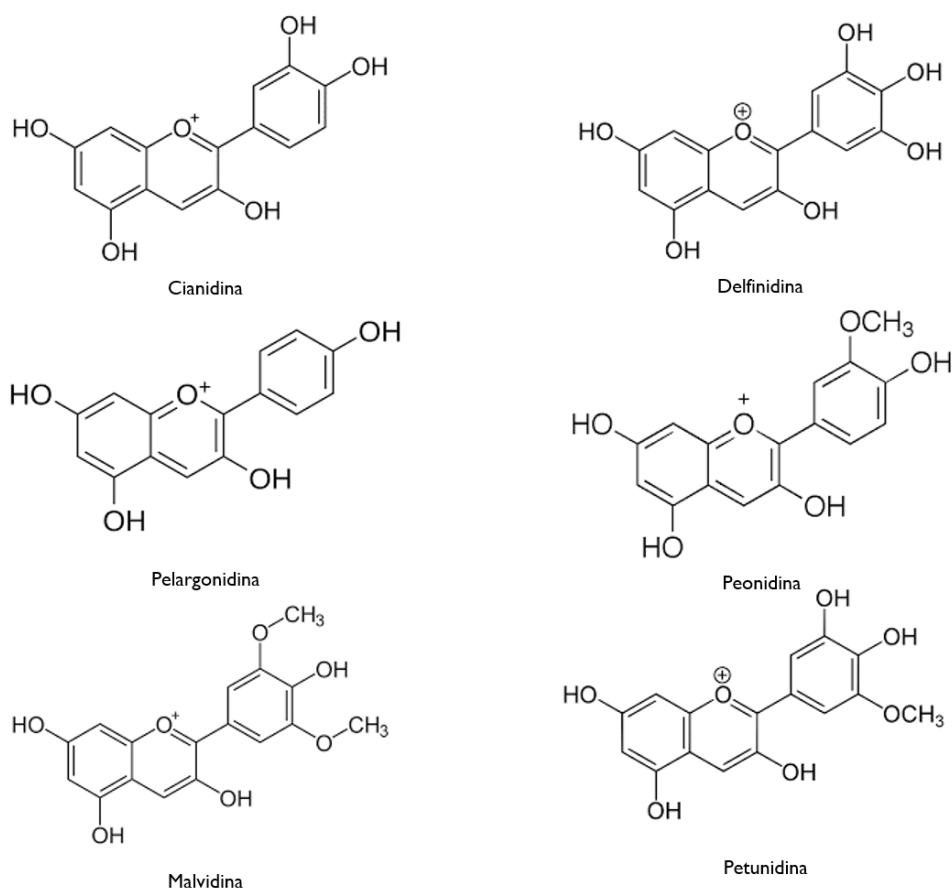
Na natureza aparecem frequentemente glicosiladas, designando-se por antocianinas. Por outras palavras, antocianinas são antocianidinas glicosiladas. As moléculas ligantes são normalmente, a glucose, ramnose, xilose, galactose, arabinose e frutose. Podem estar ligadas nas posições 3, 5, 7, 3' e 5'. Tipicamente são mono, di ou triglicosiladas. (22)

Embora seja considerada um flavonóide, a antocianina apresenta uma estrutura peculiar. Apresenta a estrutura base de um flavonóide contudo tem carga positiva no átomo de oxigénio.(20) A estrutura básica da antocianina é representada na Figura 5.



**Figura 5.** Estrutura básica da antocianina. Adaptado de (20)

As antocianidinas mais comuns são a cianidina, delphinidina, pelargonidina, peonidina, malvidina e petunidina. A cianidina é um pigmento magenta, o qual se encontra em maior percentagem nas bagas. A delphinidina é a responsável pelo tom azulado das flores. A pelargonidina provoca um tom alaranjado nas flores e avermelhado em alguns frutos e bagas. A peonidina é uma antocianidina O-metilada. A malvidina é também O-metilada e encontra-se em elevada quantidade no vinho tinto. Por último, a petunidina é uma antocianidina C-metilada. É detetada em groselhas e nas flores roxas.(20)



**Figura 6.** Principais antocianidinas. Adaptado de (20)

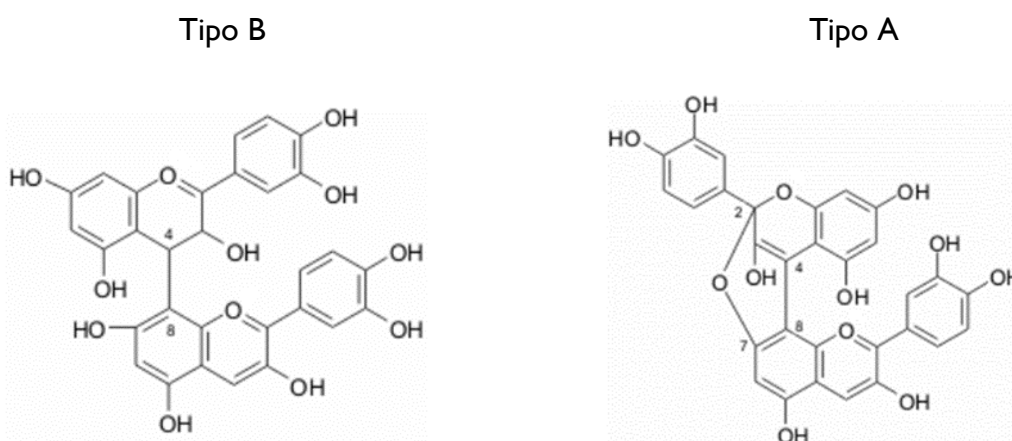
A síntese destes flavonoides ocorre na membrana citoplasmática do retículo endoplasmático. Seguidamente, são armazenados no vacúolo.

As antocianidinas são pigmentos solúveis em água que consoante o pH apresentam diferente coloração. A pH ácido são um pigmento vermelho enquanto que em pH mais alcalino, tornam-se pigmentos azul-arroxeados. Esta paleta de cores aliada à baixa toxicidade torna-as atrativas na indústria alimentar como corantes naturais.(20)

Estes compostos apresentam um leque variado de diferentes atividades biológicas: atividade anti-inflamatória, antioxidante, anticancerígena, antidiabética, antimicrobiana e efeitos anti-obesidade. Além disso, parecem também exercer alguma atividade no sistema cardiovascular. Tem sido demonstrado através de vários estudos a capacidade de inibir o crescimento de algumas bactérias patogênicas, nomeadamente *S. mutans*.(23)(19)

## 6.2. Proantocianidinas

As proantocianidinas ou taninos condensados são oligômeros ou polímeros de flavanos (sem carbonilo em C4). As mais comuns são constituídas por monómeros de 3-flavanóis.(24) Consoante o tipo de ligação interflavânica designam-se proantocianidinas de tipo A ou de tipo B. As proantocianidinas de tipo A são menos comuns, apresentam ligações interflavânicas entre os C4-C8 e uma ligação éter C2-O-C7. No tipo B apenas uma ligação interflavânica é formada, normalmente entre os C4-C8 (mais comum) ou C4-C6, como se vê na Figura 7.(19)



**Figura 7.** Tipos de proantocianidinas. Adaptado de (19)

Estas proantocianidinas ao sofrerem clivagem libertam determinada antocianidina, consoante a unidade superior/flavanol do polímero, por exemplo, se o flavanol superior for a afzelequina, a antocianidina libertada após clivagem, será a pelargonidina, como está representado na Tabela 2. Dada toda esta diversidade estrutural, o estudo destes compostos é bastante complexo.(24)

**Tabela 2.** Tabela resumo.

<b>Flavanol</b>	<b>Proantocianidina</b>	<b>Antocianidina</b>
Afzelequina	Propelargonidina	Pelargonidina
Catequina	Procianidina	Cianidina
Galhocatequina	Prodelfinidina	Delfinidina

## **7. Atividade antimicrobiana de compostos fenólicos presentes em frutos vermelhos**

Cada vez mais existe a aposta nos compostos polifenólicos como antimicrobianos, estando as antocianidinas e as antocianinas em destaque. A atividade antimicrobiana dos compostos fenólicos, nos últimos anos, tem vindo a sofrer um aumento de interesse dos investigadores. Em destaque, encontram-se as antocianinas.(25)

Bagas são uma importante fonte de compostos polifenólicos os quais apresentam inúmeras propriedades benéficas para a saúde.

As *blueberries* (mirtilo da espécie *Vaccinium corymbosum*) são conhecidos pelos compostos fenólicos com propriedades antimicrobianas, antioxidantes, anticancerígenas. Os mais representativos são as antocianinas. Entre todos os frutos que contêm antocianinas, são as *blueberries* e as *bilberries* (mirtilo, fruto da espécie *Vaccinium myrtillus*) que apresentam uma composição mais completa.(26)

Foram identificadas até 15 antocianinas diferentes. As *bilberries* têm um teor mais elevado em antocianinas, contudo as *blueberries* acumulam elevada quantidade de malvidina. A malvidina possui apenas 3 grupos hidroxilo o que a torna a mais hidrofóbica, portanto, atravessa mais facilmente a membrana. Como é mais facilmente transportada para o interior das células e tecidos apresenta melhor biodisponibilidade e consequente bioatividade. (19)(26)

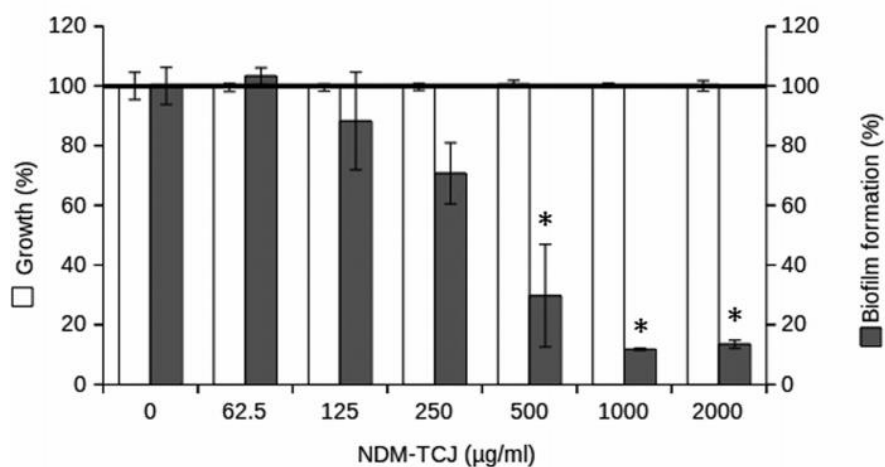
Estudos recentes sugerem que compostos bioativos de bagas têm potencial preventivo e terapêutico contra infeções orais. Polifenóis de *Vaccinium macrocarpon*, *Vaccinium corymbosum* e *Vaccinium angustifolium*, mais especificamente proantocianidinas, em diversos estudos exibiram atividade antimicrobiana, antibiofilme e antiaderência contra patógenos orais. (27)(28)

## 7.1 Estudo com extrato de *Prunus cerasus* L.

*Prunus cerasus* L. contém quantidades substanciais de compostos polifenólicos. As Prociandinas foram o constituinte encontrado em maior quantidade no extrato utilizado neste estudo. Este estudo *in vitro* incidiu no efeito de um extrato de *P. cerasus* L. em três patogênicos orais, *Candida albicans*, *Streptococcus mutans* e *Fusobacterium nucleatum*. O crescimento microbiano foi quantificado através da densidade ótica usando um leitor de microplacas. O ensaio de biofilme foi quantificado através da leitura da absorvância a 550 nm. O extrato foi obtido através da diálise do sumo do fruto de *Prunus cerasus* L. por uma membrana com peso molecular de corte de 1 kDa, da qual resultou o NDM-TCJ (*nondialyzable material from tart cherry juice*). (1)

### *Candida albicans*

O crescimento de fungos, como por exemplo de *Candida albicans*, não é afetado pelo extrato. (25) Contudo, há inibição da formação de biofilme por *C. albicans*, como podemos comprovar na Figura 8.

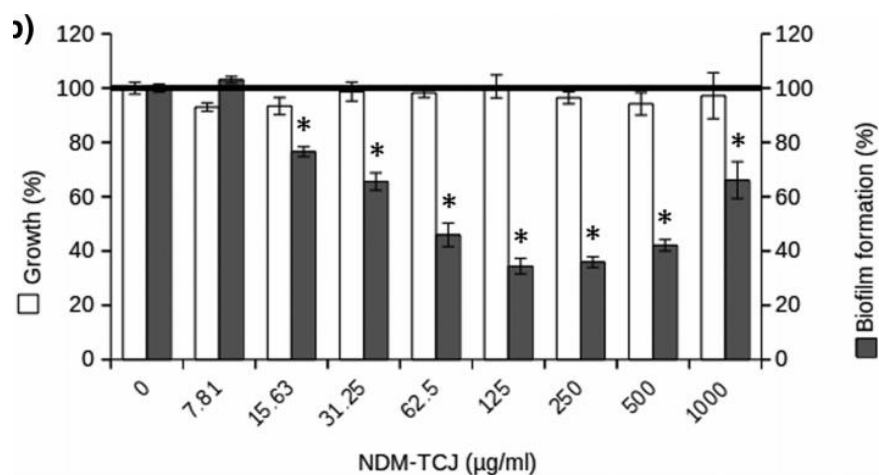


**Figura 8.** Efeitos de NDM-TCJ no crescimento e formação de biofilme de *Candida albicans*. (NDM-TCJ, *nondialyzable material from tart cherry juice*). Adaptado de (1)



### S. mutans

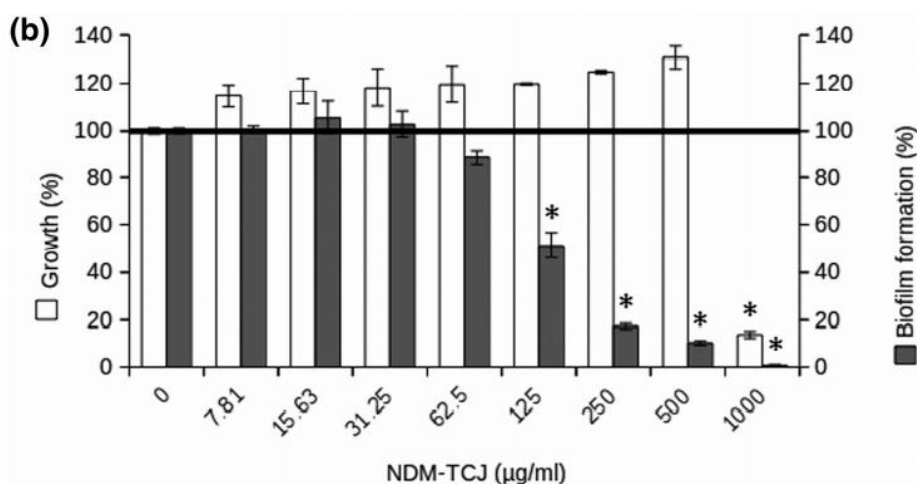
Constatou-se que este extrato não tem efeito no crescimento de *S. mutans*, mas previne a formação de biofilme como é visível na Figura 9.



**Figura 9.** Efeitos de NDM-TCJ no crescimento e formação de biofilme de *Streptococcus mutans*. (NDM-TCJ, nondialyzable material from tart cherry juice). Adaptado de (1)

### F. nucleatum

Apenas em concentração igual a 1000 µg/ml houve atividade antimicrobiana contra *F. nucleatum* como podemos constatar na Figura 10. As outras espécies não foram significativamente afetadas pelas concentrações testadas, talvez devido às baixas concentrações utilizadas.



**Figura 10.** Efeitos de NDM-TCJ no crescimento e formação de biofilme de *Fusobacterium nucleatum*. (NDM-TCJ, nondialyzable material from tart cherry juice). Adaptado de (1)

Concluindo, constatou-se que este extrato não tem efeito no crescimento de *S. mutans* e *C. albicans*, mas previne a formação de biofilme por estes. Além disto, previne o crescimento de *F. nucleatum* (85% de inibição) e reduz a formação de biofilme por este. Assim, exibe fraca atividade antimicrobiana, mas apresenta franca capacidade em inibir a formação do biofilme.

Também se verificou que diminuiu a capacidade de aderência à superfície de hidroxiapatita usada como modelo do esmalte dentário da *C. albicans* e do *S. mutans* e a aderência do *F. nucleatum* às células epiteliais da mucosa oral de forma dose-dependente.

Como a aderência é o primeiro passo na formação da placa dentária, compostos que interfiram com esta são promissores na prevenção da cárie dentária.

Este estudo abre portas para a possibilidade do uso deste extrato e seus constituintes bioativos como compostos anti placa e compostos que têm como alvo a inibição da formação do biofilme e a aderência de microrganismos orais.(1)

## 7.2. Outros estudos

VISKELIS e colaboradores (2009) demonstraram atividade antimicrobiana de antocianinas extraídas a partir do fruto de *Vaccinium macrocarpon* ao mostrar a inibição do crescimento *in vitro* de várias bactérias patogênicas para o homem. Neste estudo o autor não refere concentração ativa.(29)

A malvidina-3,5-diglucósido, uma antocianina, mostrou atividade bactericida num estudo *in vitro* pois o número de unidades formadoras de colônias diminui após a aplicação de um extrato de concentração igual a 0,19mg/ml. Inibiu também a de produção de ácido por *S. mutans*.(30)

PHILIP e colaboradores (2019) mostraram *in vitro* que extratos de bagas reduzem a virulência de *S. mutans* sem afetar significativamente a sua viabilidade.(8) São visíveis reduções significativas na produção de ácido lático quando *S. mutans* é tratado com o extrato do fruto de *Vaccinium macrocarpon* (arando) em concentração igual a 500µg/ml. Tendo em conta a importância do ambiente ácido no desenvolvimento da cárie estes são dados interessantes uma vez que a produção de ácido de uma causa direta na desmineralização do dente.(13)

HOWELL e colaboradores (2005) verificaram *in vitro* que a atividade anti-adesão do arando (*Vaccinium macrocarpon*) é principalmente atribuída à presença de proantocianidinas do tipo A.(31)

### 7.3. Vantagens do uso destes extratos

Um facto interessante, o extrato possuir atividade anti biofilme bastante evidente, mas nenhum ou fraco efeito sobre o crescimento microbiano. Pensa-se que pode estar relacionado com a sua capacidade em modificar a hidrofobicidade da superfície do microrganismo, ou com a inibição da expressão do gene das adesinas ou ainda, com a possibilidade de interferência com o QS.(1)

SILVA e colaboradores (2016) concluíram que o extrato de frutos de *Vaccinium corymbosum* reduziu significativamente a adesão bacteriana não reduzindo o crescimento bacteriano, o que diminui o desenvolvimento de resistências enquanto que simultaneamente se combate a probabilidade de uma infeção.(26) Desta forma consegue-se erradicar ou diminuir a bactéria da superfície sem promover a propagação de estirpes resistentes.(32)

Em (25) verificou-se que *S. aureus*, uma bactéria penicilina resistente, apresentou a maior sensibilidade ao extrato de *P. cerasus L.* Aliado a isto, a origem natural do extrato pode contribuir para a sua fácil aceitação e assim idealmente serem incorporados em produtos de higiene oral para cuidado diário.(8)

## 8. Possíveis novas estratégias terapêuticas/alvos contra a cárie

### $\alpha$ -amilase

A saliva é um fluído corporal com um papel importantíssimo na saúde oral. Algumas das suas funções são a remineralização, sistema tampão e manutenção da microflora oral.(6)

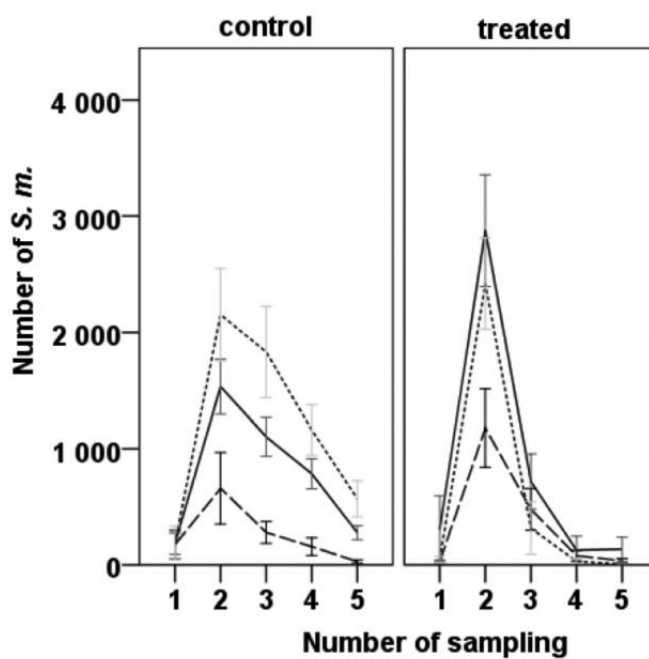
A  $\alpha$ -amilase é uma das enzimas presentes na saliva. Os mono e dissacarídeos são produzidos com a ajuda da  $\alpha$ -amilase presente na saliva. A adesão de *S. mutans* ao dente na presença destes açúcares é significativa.

Existe uma correlação positiva entre cáries e níveis elevado de  $\alpha$ -amilase para crianças e adolescentes. Assim a  $\alpha$ -amilase poderá ser um alvo na prevenção da cárie.(7)

### Pastilha como veículo de transporte de agentes farmacológicos

HOMOKI e colaboradores (2018) concluíram que os níveis de *S. mutans* na saliva estimulada pelo mascar da pastilha são maiores tanto no grupo controlo como no grupo tratado com pastilha contendo extrato de cereja. O processo de mastigar liberta as células bacterianas do biofilme o que resulta em elevadas quantidades da bactéria na amostra de saliva

tanto no grupo controlo como no grupo tratado. Da análise comparativa entre os dois gráficos, salienta-se que, depois da mastigação, enquanto no grupo controlo há uma diminuição lenta do número de células de *S. mutans*, no grupo tratado verifica-se uma redução muito mais rápida sendo o resultado mais baixo atingido em 20 minutos, conforme representação gráfica da Figura 11.(7)



**Figura 11.** Níveis de *Streptococcus mutans* em três faixas etárias antes e após a estimulação. Primeira faixa etária: crianças (12 anos) (linha tracejada); segunda faixa etária: jovens (18 a 20 anos) (linha contínua); terceira faixa etária: adultos (mínimo 30 anos) (linha pontilhada) Amostragem: 1 - saliva não estimulada; 2 - saliva estimulada ao tempo 0 min; 3 - saliva estimulada passado 10min; 4 - saliva estimulada aos 20min; 5 - saliva estimulada aos 30min. Adaptado de (7)

Neste estudo, as amostras de saliva após colheita foram cultivadas em meio de tripticase de soja enriquecido com 5% de sangue de ovelha desfibrinado e posteriormente procedeu-se à quantificação das colónias de modo a conseguir quantificar *S. mutans*.

A pastilha estimula a salivacção e assim aumentam os níveis de fatores de defesa, como o sistema tampão (iões bicarbonato), enzimas da saliva ( $\alpha$ -amilase) e fatores que proporcionam o aumento do pH. O uso de pastilha contendo extrato de cereja azeda pode ser útil na prevenção da cárie dentária uma vez que a pastilha é um bom transportador do extrato pois permite a libertação lenta dos compostos bioativos.(7)

### Colutórios

LAGHA e colaboradores (2020) afirmam a possibilidade da incorporação de compostos ativos de cerejas em colutórios para promover a manutenção da saúde oral.(1)

## 9. Conclusões

As afeções orais, nomeadamente a cárie, afetam negativamente a saúde e prejudicam significativamente a qualidade de vida da população.(1) Refletem-se muitas vezes na autoestima da pessoa, saúde física, causam dor e desconforto, além de originar outros problemas de saúde sistémicos.

A formação de biofilmes por bactérias patogénicas é a principal responsável pela maioria das infeções.(32) Prevenir a formação de biofilme é de facto a chave para combater muitas infeções orais (candidíase, cárie dentária, doença periodontal). Esta estratégia é útil no combate à resistência aos antibióticos uma vez que neutraliza o processo infeccioso sem selecionar as espécies bacterianas resistentes.(1) Idealmente, a alternativa antimicrobiana não deverá ser bactericida nem afetar o crescimento bacteriano, apenas inibidora das principais fases do processo de infeção.(32)

Dado o aumento das resistências torna-se imperativa a descoberta de novos compostos. É na descoberta em produtos naturais que reside a esperança na busca por novos componentes antimicrobianos e não só (anticancerígenos também). Avanços na computação tornam possível o processamento das estruturas dos constituintes naturais e derivação de novos fármacos sintéticos.(33)

Os frutos vermelhos são uma fonte de polifenóis, em particular antocianidinas e proantocianidinas, que se têm revelado poderosas armas contra o desenvolvimento da cárie dentária.(8) Penso que estes compostos bioativos serão sem dúvida uma possível alternativa terapêutica na prevenção da cárie, visto que têm propriedades antibiofilme, interferem com o *Quorum Sensing* e diminuem a produção de ácido responsável pela desmineralização do esmalte. Os estudos *in vitro* referidos anteriormente e outros parecem indicar que tais compostos são eficazes. Contudo, torna-se imperativo a realização de estudos clínicos de modo a que a sua eficácia seja suportada e hajam evidências clínicas. Assim, para responder à questão inicial, serão necessários estudos clínicos para afirmar com certeza que os compostos bioativos de frutos vermelhos constituem uma alternativa terapêutica na prevenção e tratamento da cárie dentária.

## 10. Bibliografia

- (1) LAGHA, Amel BEN; LEBEL, Geneviève; GRENIER, Daniel - Tart cherry (*Prunus cerasus* L.) fractions inhibit biofilm formation and adherence properties of oral pathogens and enhance oral epithelial barrier function. *Phytotherapy Research*. 34:4 (2020) 886–895.
- (2) SANDHU, Karandeep *et al.* - Caries Protective Foods: A Futurist Perspective. *International Journal of Advanced Health Sciences*. 1:6 (2014) 21–25.
- (3) DEWHIRST, Floyd E. *et al.* - The human oral microbiome. *Journal of Bacteriology*. 192:19 (2010) 5002–5017.
- (4) GROEGER, Sabine E.; MEYLE, Joerg - Epithelial barrier and oral bacterial infection. *Periodontology 2000*. 69:1 (2015) 46–67.
- (5) LARSEN, Tove; FIEHN, Nils Erik - Dental biofilm infections – an update. *Apmis*. 125:4 (2017) 376–384.
- (6) MATHUR, Vijay Prakash; DHILLON, Jatinder Kaur - Dental Caries: A Disease Which Needs Attention. *Indian Journal of Pediatrics*. 85:3 (2018) 202–206.
- (7) HOMOKI, Judit *et al.* - Sour cherry extract inhibits human salivary  $\alpha$ -amylase and growth of *Streptococcus mutans* (a pilot clinical study). *Food and Function*. 9:7 (2018) 4008–4016.
- (8) PHILIP, Nebu *et al.* - Inhibitory effects of fruit berry extracts on *Streptococcus mutans* biofilms. *European Journal of Oral Sciences*. 127:2 (2019) 122–129.
- (9) VOGKOU, Christiana T. *et al.* - The causative agents in infective endocarditis: A systematic review comprising 33,214 cases. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*. 35:8 (2016) 1227–1245.
- (10) BORGNAKKE, Wenche S. *et al.* - Effect of periodontal disease on diabetes: Systematic review of epidemiologic observational evidence. *Journal of Clinical Periodontology*. 40:SUPPL. 14 (2013).
- (11) DUFOUR, Delphine; LEUNG, Vincent; LÉVESQUE, Céline M. - Bacterial biofilm: structure, function, and antimicrobial resistance. *Endodontic Topics*. 22:1 (2010) 2–16.
- (12) KOLENBRANDER, Paul E. *et al.* - Oral multispecies biofilm development and the key

role of cell-cell distance. *Nature Reviews Microbiology*. 8:7 (2010) 471–480.

(13) TAKAHASHI, N.; NYVAD, B. - The role of bacteria in the caries process: Ecological perspectives. *Journal of Dental Research*. 90:3 (2011) 294–303.

(14) BEREZOW, Alex B.; DARVEAU, Richard P. - Microbial shift and periodontitis. *Periodontology 2000*. 55:1 (2011) 36–47.

(15) NANDAKUMAR, Venkatesan *et al.* - Characteristics of bacterial biofilm associated with implant material in clinical practice. *Polymer Journal*. 45:2 (2013) 137–152.

(16) VENKATESAN, Nandakumar; PERUMAL, Govindaraj; DOBLE, Mukesh - Bacterial resistance in biofilm-associated bacteria. *Future Microbiology*. 10:11 (2015) 1743–1750.

(17) HUBER, Birgit *et al.* - Influence of Polyphenols on Bacterial Biofilm Formation and Quorum-sensing. *Zeitschrift für Naturforschung - Section C Journal of Biosciences*. 58:11–12 (2003) 879–884.

(18) HØIBY, Niels *et al.* - Antibiotic resistance of bacterial biofilms. *International Journal of Antimicrobial Agents*. ISSN 09248579. 35:4 (2010) 322–332. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2009.12.011.

(19) CISOWSKA, Agnieszka; WOJNICZ, Dorota; HENDRICH, Andrzej B. - Anthocyanins as antimicrobial agents of natural plant origin. *Natural Product Communications*. 6:1 (2011) 149–156.

(20) KHOO, Hock Eng *et al.* - Anthocyanidins and anthocyanins: Colored pigments as food, pharmaceutical ingredients, and the potential health benefits. *Food and Nutrition Research*. 61:1 (2017) 0–21.

(21) SZAJDEK, Agnieszka; BOROWSKA, E. J. - Bioactive compounds and health-promoting properties of Berry fruits: A review. *Plant Foods for Human Nutrition*. 63:4 (2008) 147–156.

(22) KÄHKÖNEN, Marja P.; HEINONEN, Marina - Antioxidant activity of anthocyanins and their aglycons. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 51:3 (2003) 628–633.

(23) BIRO, Attila *et al.* - Anthocyanin-rich sour cherry extract attenuates the lipopolysaccharide-induced endothelial inflammatory response. *Molecules*. 24:19 (2019).

(24) RAUF, Abdur *et al.* - Proanthocyanidins: A comprehensive review. *Biomedicine and*

Pharmacotherapy. 116:May (2019).

(25) COCCIA, Andrea *et al.* - Effects of methanolic extract of sour cherry (*Prunus cerasus* L.) on microbial growth. *International Journal of Food Science and Technology*. 47:8 (2012) 1620–1629.

(26) SILVA, S. *et al.* - Antimicrobial, antiadhesive and antibiofilm activity of an ethanolic, anthocyanin-rich blueberry extract purified by solid phase extraction. *Journal of Applied Microbiology*. 121:3 (2016) 693–703.

(27) FEGHALI, Karine *et al.* - Cranberry proanthocyanidins: Natural weapons against periodontal diseases. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 60:23 (2012) 5728–5735.

(28) FELDMAN, Mark *et al.* - Cranberry proanthocyanidins inhibit the adherence properties of *Candida albicans* and cytokine secretion by oral epithelial cells. *BMC Complementary and Alternative Medicine*. 12:(2012).

(29) VISKELIS, P. *et al.* - Anthocyanins, antioxidative, and antimicrobial properties of american cranberry (*vaccinium macrocarpon* ait.) and their press cakes. *Journal of Food Science*. 74:2 (2009).

(30) ESMAEELIAN, Babak *et al.* - Anti-Cariogenic Properties of Malvidin-3,5-Diglucoside Isolated from *Alcea longipedicellata* Against oral Bacteria. *Internaciotional Journal of Pharmacology*. (2007) 468-474

(31) HOWELL, Amy B. *et al.* - A-type cranberry proanthocyanidins and uropathogenic bacterial anti-adhesion activity. *Phytochemistry*. 66:18 SPEC. ISS. (2005) 2281–2291.

(32) NETO, C. C. *et al.* - Characterization of non-dialyzable constituents from cranberry juice that inhibit adhesion, co-aggregation and biofilm formation by oral bacteria. *Food and Function*. 8:5 (2017) 1955–1965.

(33) THOMFORD, Nicholas Ekow *et al.* - Natural products for drug discovery in the 21st century: Innovations for novel drug discovery. *International Journal of Molecular Sciences*. 19:6 (2018).