

## RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 24/08/2017.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"  
Campus de São José dos Campos  
Instituto de Ciência e Tecnologia

**LEILEANE COHN TORRES**

**INTERAÇÃO *Candida albicans* COM *Acinetobacter*  
*baumannii* E *Klebsiella pneumoniae* EM BIOFILMES  
MULTIESPÉCIES**

2016

**LEILEANE COHN TORRES**

**INTERAÇÃO *Candida albicans* COM *Acinetobacter baumannii* E  
*Klebsiella pneumoniae* EM BIOFILMES MULTIESPÉCIES**

Dissertação apresentada ao Curso de Odontologia do Instituto de Ciência e Tecnologia, UNESP - Univ Estadual Paulista, Campus de São José dos Campos, como parte dos requisitos para obtenção do título de MESTRE no Programa de Pós-Graduação em BIOPATOLOGIA BUCAL, Área Microbiologia / Imunologia.

Orientador: Prof. Tit. Antonio Olavo Cardoso Jorge

São José dos Campos

2016

Apresentação gráfica e normatização de acordo com:  
Alvarez S, Coelho DCAG, Couto RAO, Durante APM. Guia prático para  
Normalização de Trabalhos Acadêmicos do ICT. Rev. São José dos  
Campos: ICT/UNESP; 2016.

Torres, Leilean Cohn

Interação *Candida albicans* com *Acinetobacter baumannii* e  
*Klebsiella pneumoniae* em biofilme multiespécies / Leilean Cohn  
Torres. - São José dos Campos : [s.n.], 2016.  
50 f. : il.

Dissertação (Mestrado em Biopatologia Bucal) - Pós-graduação em  
Biopatologia Bucal - Instituto de Ciência e Tecnologia de São José  
dos Campos, UNESP - Univ Estadual Paulista, 2016.  
Orientador: Antonio Olavo Cardoso Jorge.

1. *Candida albicans*. 2. Interações micro-organismos. 3.  
Bactérias. 4. *Galleria mellonella*. I. Jorge, Antonio Olavo Cardoso  
, orient. II. Instituto de Ciência e Tecnologia de São José dos  
Campos, UNESP - Univ Estadual Paulista. III. Universidade Estadual  
Paulista 'Júlio de Mesquita Filho'. IV. UNESP - Univ Estadual  
Paulista. V. Título.

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Prof. Achille Bassi e Seção Técnica de Informática,  
ICMC/USP com adaptações - STATi e STI do ICT/UNESP. Dados fornecidos pelo autor.

## AUTORIZAÇÃO

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer  
meio convencional ou eletrônico, desde que citada a fonte.

São José dos Campos, 24 de fevereiro de 2016  
E-mail: leilecohn@gmail.com

Assinatura: \_\_\_\_\_

## **BANCA EXAMINADORA**

**Prof. Tit. Antonio Olavo Cardoso Jorge (Orientador)**

Instituto de Ciência e Tecnologia  
UNESP- Univ Estadual Paulista  
Campus de São José dos Campos

**Prof. Dra. Silvana Soléo Ferreira dos Santos**

Instituto Básico de Biociências  
UNITAU - Universidade de Taubaté  
Campus do Bom Conselho

**Prof. Dra. Luciane Dias de Oliveira**

Instituto de Ciência e Tecnologia  
UNESP- Univ Estadual Paulista  
Campus de São José dos Campos

São José dos Campos, 24 de Fevereiro de 2016.

## DEDICATÓRIA

*Aos meus pais, que deixaram saudades e me deram a base para tudo que eu conquistei na vida até hoje.*

*A minha tia, Maria da Conceição Silva, que sempre esteve presente na minha vida.*

*Ao meu marido, Sidnei Rozado Torres, que incentivou meu ingresso, me acompanhou pacientemente em todos os momentos e me deu muito apoio e inspiração para ultrapassar esta etapa.*

*Ao meu filho, Daniel Cohn Torres que faz com eu tenha força para lutar sempre.*

*Aos meus compadres, irmãos que me acompanham na jornada da vida.*

*Aos meus amigos, irmãos que escolhemos nesta vida. E que sempre me apoiaram, acompanharam e fizeram parte dos momentos maravilhosos e daqueles em que precisei de apoio.*

*Ao amigo Felipe de Camargo Ribeiro, que esteve presente em todos os momentos do meu trabalho me apoiando e sendo meu parceiro nesta jornada.*

*A Tamara Rodrigues de Andrade Carneiro, amiga sempre presente que estimulou o meu ingresso no mestrado.*

## **AGRADECIMENTOS**

*Ao meu orientador Prof. Tit. Antonio Olavo Cardoso Jorge pela sabedoria, paciência, incentivo, orientação e por me acompanhar durante todo o meu trabalho de pesquisa.*

*À Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” Instituto de Ciência e Tecnologia, Campus de São José dos Campos, na pessoa do diretor Prof. Tit. Estevão Tomomitsu Kimpara e do vice-diretor Profa Adj. Rebeca Di Nicoló.*

*Ao Programa de Pós-graduação em Biopatologia Bucal, na pessoa da Coordenadora Profa. Adj. Juliana Campos Junqueira.*

*Aos docentes do Programa de Pós-graduação em Biopatologia Bucal.*

*À equipe da Biblioteca pela ajuda na elaboração deste trabalho, contribuindo com o acesso ao material bibliográfico e à bibliotecária Renata Aparecida Couto Martins que orientou sua normalização.*

*Aos colegas da Pós-Graduação e técnicos do laboratório de Microbiologia e Imunologia, e em especial a Mirian Marcolan de Mello, Patrícia Pimentel de Barros, Jessica Diane dos Santos, Marisol Velloso e Jonatas Rafael de Oliveira que contribuíram imensamente para realização deste trabalho.*

*Ao laboratório Valeclin, que contribuiu cedendo as cepas de isolados clínicos, em especial ao responsável pela microbiologia deste laboratório. Silvio Rubens Alves e a Renata Bernardes, os responsáveis pelo processo de escolha, separação e acondicionamento dos isolados bacterianos.*

## SUMÁRIO

RESUMO.....	7
ABSTRACT.....	8
1 INTRODUÇÃO.....	9
2 REVISÃO DA LITERATURA.....	11
2.1 <i>Candida albicans</i> .....	11
2.2 <i>Klebsiella pneumoniae</i> .....	13
2.3 <i>Acinetobacter baumannii</i> .....	15
2.4 Biofilme e interação microbiana <i>in vitro</i> e <i>in vivo</i> .....	17
3 PROPOSIÇÃO.....	21
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	22
4.1 Origem e reativação dos micro-organismos.....	22
4.2 Preparo das Suspensões.....	22
4.3 Biofilme.....	23
4.4 Determinação do número de Unidades Formadoras de Colônias por mililitro.....	24
4.5 Interação de <i>Acinetobacter baumannii</i> ou <i>Klebsiella pneumoniae</i> com <i>Candida albicans</i> em modelo de <i>Galleria mellonella</i> .....	24
4.6 Análise estatística.....	26
5 RESULTADOS.....	27
5.1 Contagem de <i>C. albicans</i> na interação com <i>A. baumannii</i> em biofilmes <i>in vitro</i> .....	27
5.2 Contagem de <i>A. baumannii</i> na interação com <i>C. albicans</i> em biofilme <i>in vitro</i> .....	27
5.3 Interação de <i>A. baumannii</i> ATCC 19606, <i>A. baumannii</i> cepa clínica 1 e <i>A. baumannii</i> cepa clínica 2 com <i>C. albicans</i> em <i>Galleria mellonella</i> .....	28
5.4 Interação de <i>K. pneumoniae</i> com <i>C. albicans</i> em biofilme <i>in vitro</i> - UFC/MI.....	30

5.4.1 Contagem de <i>C. albicans</i> na interação com <i>K. pneumoniae</i> em biofilme <i>in vitro</i> .....	32
5.4.2 Contagem de <i>K. pneumoniae</i> na interação com <i>C. albicans</i> em biofilme <i>in vitro</i> .....	32
<b>5.5 Interação de <i>K. pneumoniae</i> ATCC 4352, <i>K. pneumoniae</i> cepa clínica 1 e <i>K. pneumoniae</i> cepa clínica 2 com <i>C. albicans</i> em <i>Galleria mellonella</i>.....</b>	<b>32</b>
<b>6 DISCUSSÃO.....</b>	<b>35</b>
<b>7 CONCLUSÃO.....</b>	<b>42</b>
<b>8 REFERÊNCIAS.....</b>	<b>43</b>
<b>ANEXO.....</b>	<b>49</b>

Torres LC. Interação *Candida albicans* com *Acinetobacter baumannii* E *Klebsiella pneumoniae* em biofilmes multiespécies [dissertação]. São José dos Campos (SP): Instituto de Ciência e Tecnologia, UNESP - Univ Estadual Paulista; 2016.

## RESUMO

Interações entre micro-organismos ocorrem na natureza. O conhecimento das modificações estruturais, metabólicas e comportamentais de *Candida albicans* em interações com outros micro-organismos nos biofilmes, podem esclarecer os eventos que ocorrem quando estes micro-organismos interagem na natureza ou nos tecidos do hospedeiro e podem beneficiar as estratégias de controle da candidose. O objetivo do presente trabalho foi avaliar interações microbianas de *C. albicans* em biofilmes multiespécies e avaliar a patogenicidade dessas interações. Foram realizadas interações entre cepas padrão de *C. albicans*, com *Acinetobacter baumannii* e *Klebsiella pneumoniae* em biofilmes, avaliando-se a contagem de unidades formadoras de colônias por mililitro (UFC/mL). Foram também avaliadas interações com cepas padrão de *Candida albicans* com dois isolados clínicos de cada um dos micro-organismos (*A. baumannii* e *K. pneumoniae*). A patogenicidade dos micro-organismos isolados e em interações com *C. albicans* foram avaliadas no modelo experimental *Galleria mellonella*. Houve aumento no crescimento de *C. albicans* em biofilme *in vitro* quando em interação com as cepas clínicas testadas. A interação *in vitro* de *C. albicans* com *A. baumannii* favoreceu o crescimento de *C. albicans* de forma significativa e não afetou *A. baumannii*, com maior aumento na interação com as cepas clínicas. Exceto para a cepa clínica 1, a interação com *K. pneumoniae* também estimulou o crescimento de *C. albicans*, mas em menor intensidade quando comparado à interação entre *C. albicans* e *A. baumannii*. Conclusão: a interação de *C. albicans in vitro* com *A. baumannii* ou *K. pneumoniae* foi favorável para *C. albicans* exceto em interação com cepa clínica 1 de *K. pneumoniae*, onde houve redução no crescimento de *C. albicans*. Houve redução na porcentagem de morte de *G. mellonella* quando inoculada com *C. albicans* e cepa clínica 2 de *K. pneumoniae* ou quando *G. mellonella* foi inoculada com *C. albicans* e cepa clínica 2 de *A. baumannii*.

Palavras-chave: *Candida albicans*. Interações micro-organismos. Bactérias. *Galleria mellonella*.

Torres LC. Interaction *Candida albicans* with *A. baumannii* and *Klebsiella pneumoniae* in multi-species biofilms. São José dos Campos (SP): Institute of Science and Technology, UNESP - Univ Estadual Paulista; 2015.

## ABSTRACT

Interactions among microorganisms occur in nature. The knowledge of structural, metabolic and behavioral modifications of ***Candida albicans*** in interactions with other microorganisms in biofilms can clarify the events that occur when those microorganisms interact in nature or in host tissue and can benefit in strategies to control candidiasis. The aim of this study was to evaluate the microbial interactions of ***C. albicans*** in multispecies biofilms and evaluate the pathogenicity of these interactions. Were performed interactions between standards strains of ***C. albicans*** with standards strains of ***Acinetobacter baumannii*** and ***Klebsiella pneumoniae*** in biofilms, evaluating the counts of colony forming units per milliliter (CFU / mL). Were also performed interactions between standard strain of ***C. albicans*** with two clinical isolates of each one of the microorganisms (***A. baumannii*** and ***K. pneumoniae***). The pathogenicity of the isolated micro-organisms and in interaction with ***C. albicans*** was evaluated in ***Galleria mellonella*** experimental model. There was an increase in the growth of ***C. albicans*** in in vitro biofilm when interacting with the clinical strains tested. The interaction in vitro between ***C. albicans*** and ***A. baumannii*** favored the growth of ***C. albicans*** significantly and did not affect ***A. baumannii***, with the biggest increase in interaction with the clinical strains. Except for clinical strain 1, the interaction with ***K. pneumoniae*** also promoted the growth of ***C. albicans***, but at a lower intensity compared to the interaction between ***C. albicans*** and ***A. baumannii***. Conclusion: The interaction in vitro between ***C. albicans*** with ***Acinetobacter baumannii*** or ***K. pneumoniae*** was favorable for ***C. albicans*** except in the interaction ***K. pneumoniae*** clinical strain 1, in which there was a reduction in the growth of ***C. albicans***. There was a reduction in the percentage of ***G. mellonella*** death when inoculated with ***C. albicans*** and ***K. pneumoniae*** clinical strain 2 or when ***G. mellonella*** was inoculated with ***C. albicans*** and ***A. baumannii*** clinical strain 2.

Keywords: ***Candida albicans***. Microorganisms interactions. Bacteria. ***Galleria mellonella***.

## 1 INTRODUÇÃO

Estima-se que 80% dos casos de doenças infecciosas em humanos estão relacionadas a biofilmes patogênicos. Biofilmes são formados por comunidades de micro-organismos embebidos em uma matriz extracelular formando um complexo tridimensional, presentes em superfícies abióticas ou bióticas (Jorge, 2012; Harriot, Noverr, 2011).

A matriz extracelular do biofilme pode restringir a penetração de agentes antimicrobianos e levar a maior resistência dos micro-organismos a estes antimicrobianos. A produção de uma matriz extracelular polimérica e a transferência de genes de resistência favorecida pela alta densidade celular podem contribuir para o aumento da resistência do biofilme aos antibióticos (Kart et al., 2014).

O fungo mais encontrado em biofilmes é *Candida albicans* (Harriot, Noverr, 2011), que pode crescer em forma de leveduras, hifas ou pseudo-hifas (dimorfismo), podendo causar dois tipos de infecções humanas: superficiais como candidoses muco cutâneas e infecções sistêmicas (Mayer et al., 2013).

Interações entre fungos e bactérias ocorrem física e quimicamente (Krom et al., 2014). Os mecanismos de interação dos biofilmes multiespécies associados a *Candida* ainda não estão completamente elucidados, demonstrando uma eminente necessidade de conhecimento destas interações.

A capacidade de resistência dos micro-organismos Gram-negativos *Acinetobacter baumannii* e *Klebsiella pneumoniae* aos antimicrobianos torna-os importantes alvos de estudo no presente trabalho. *K. pneumoniae* é um bacilo Gram-negativo, anaeróbio facultativo, atríquio, pertencente à família Enterobacteriaceae. Vivem em

águas superficiais do solo, nas plantas e como comensal residente da nasofaringe e trato gastrointestinal de mamíferos. É considerado atualmente um dos patógenos oportunistas mais importantes, causando infecções hospitalares e infecções polimicrobianas, especialmente em indivíduos imunocomprometidos. As taxas de infecção aumentam em ambientes hospitalares quando relacionados a utilização de agentes antimicrobianos. O trato gastrointestinal serve como um reservatório e muitas vezes é fonte de infecções latentes (El Fertas-Aissani et al., 2013).

Outro patógeno hospitalar de importância é *Acinetobacter baumannii*, um cocobacilo Gram-negativo que causa infecção na corrente sanguínea, trato urinário, pele, infecções dos tecidos moles e pneumonia (Higuchi et al., 2013; Vinogradov et al., 2014; Longo et al., 2014).

*Galleria mellonella* tem sido usada como modelo para estudo da patogenicidade de isolados clínicos de levedura e bactérias pois, tem uma resposta imune similar aos mamíferos e a defesa do hospedeiro contra a candidose invasiva baseia-se principalmente na ingestão e eliminação de células fúngicas, por células denominadas hemócitos que farão a fagocitose, semelhante as células fagocitárias de mamíferos (Borghi et al., 2014; Thomas et al., 2013).

Este trabalho contribui para elucidar o comportamento de *C. albicans* em interação *in vitro* e *in vivo* com *A. baumannii* e *K. pneumoniae*, para que futuramente possamos compreender como eliminar estes micro-organismos em biofilme, pois os mesmos geralmente não se encontram isolados na natureza e o comportamento destes em biofilme multiespécie ainda não está bem esclarecido.

## 7 CONCLUSÃO

Após análise dos dados obtidos concluiu-se que:

- Aumento do crescimento de *C. albicans* quando em interação com *A. baumannii* *in vitro*;
- Não houve aumento significativo no crescimento de *A. baumannii* ATCC 19606 e cepas clínicas testadas quando em interação com *C. albicans* nos testes de biofilme *in vitro*;
- O modelo de *G. mellonella* quando inoculado com *A. baumannii* ATCC 19606 ou cepa clínica 2 em interação com *C. albicans* reduziu a sobrevivência de *G. mellonella* se comparado com as larvas inoculadas com estes micro-organismos separadamente;
- *C. albicans* sofreu efeitos inibitórios quando em interação com *K. pneumoniae* cepa clínica 1 no biofilme *in vitro*, já em interação com *K. pneumoniae* cepa clínica 2 ambos os micro-organismos obtiveram um aumento significativo no seu crescimento. Na interação de *C. albicans* com cepa ATCC 4352 de *K. pneumoniae* houve um grande aumento no crescimento de *C. albicans*;
- Quando *G. mellonella* foi inoculada com a interação de *K. pneumoniae* ATCC 4352 com *C. albicans* houve maior sobrevivência destas lagartas se comparado ao grupo inoculado com estes micro-organismos isolados.

## 8 REFERÊNCIAS\*

Badave GK, Kulkarni D. Biofilm producing multidrug resistant *Acinetobacter baumannii*: an emerging challenge. J Clin Diagn Res. 2015 Jan;9(1):DC08-10. doi: 10.7860/JCDR/2015/11014.5398.

Bandeira M, Carvalho PA, Duarte A, Jordao L. Exploring dangerous connections between *Klebsiella pneumoniae* biofilms and healthcare-associated infections. Pathogens. 2014 Aug 19;3(3):720-31. doi: 10.3390/pathogens3030720.

Borghi E, Romagnoli S, Fuchs BB, Cirasola D, Perdoni F, Tosi D, et al. Correlation between *Candida albicans* biofilm formation and invasion of the invertebrate host *Galleria mellonella*. Future Microbiol. 2014 Feb;9(2):163-73. doi: 10.2217/fmb.13.159.

Chen KM, Chiang MK, Wang M, Ho HC, Lu MC, Lai YC. The role of pgaC in *Klebsiella pneumoniae* virulence and biofilm formation. Microb Pathog. 2014 Dec;77:89-99. doi: 10.1016/j.micpath.2014.11.005.

Childers BM, Van Laar TA, You T, Clegg S, Leung KP. MrkD1P from *Klebsiella pneumoniae* strain IA565 allows for coexistence with *Pseudomonas aeruginosa* and protection from protease-mediated biofilm detachment. Infect Immun. 2013 Nov;81(11):4112-20. doi: 10.1128/IAI.00521-13.

Cristina ML, Spagnolo AM, Ottria G, Sartini M, Orlando P, Perdelli F, et al. Spread of multidrug carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* in different wards of an Italian hospital. Am J Infect Control. 2011 Nov;39(9):790-4. doi: 10.1016/j.ajic.2011.01.016.

El Fertas-Aissani R, Messai Y, Alouache S, Bakour R. Virulence profiles and antibiotic susceptibility patterns of *Klebsiella pneumoniae* strains isolated from different clinical specimens. Pathol Biol (Paris). 2013 Oct;61(5):209-16. doi: 10.1016/j.patbio.2012.10.004.

---

\* Baseado em: International Committee of Medical Journal Editors Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical journals: Sample References [homepage na Internet]. Bethesda: US NLM; c2003 [disponibilidade em 2008 ago; citado em 25 ago.] Disponível em: [http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform\\_requirements.html](http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform_requirements.html)

Espinal P, Martí S, Vila J. Effect of biofilm formation on the survival of *Acinetobacter baumannii* on dry surfaces. *J Hosp Infect.* 2012 Jan;80(1):56-60. doi: 10.1016/j.jhin.2011.08.013.

Ford CB, Funt JM, Abbey D, Issi L, Guiducci C, Martinez DA, et al. The evolution of drug resistance in clinical isolates of *Candida albicans*. *Elife.* 2015 Feb 3; 4:e00662. doi: 10.7554/eLife.00662.

Gow NA, Hube B. Importance of the *Candida albicans* cell wall during commensalism and infection. *Curr Opin Microbiol.* 2012 Aug;15(4):406-12. doi: 10.1016/j.mib.2012.04.005.

Hall RA. Dressed to impress: Impact of environmental adaptation on the *C. albicans* cell wall. *Mol Microbiol.* 2015 Jul;97(1):7-17. doi: 10.1111/mmi.13020.

Harriott MM, Noverr MC. Importance of *Candida*-bacterial polymicrobial biofilms in disease. *Trends Microbiol.* 2011 Nov;19(11):557-63. doi: 10.1016/j.tim.2011.07.004.

Higuchi S, Onodera Y, Chiba M, Hoshino K, Gotoh N. Potent in vitro antibacterial activity of DS-8587, a novel broad-spectrum quinolone, against *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2013 Apr;57(4):1978-81. doi: 10.1128/AAC.02374-12.

Hornsey M, Wareham DW. In vivo efficacy of glycopeptide-colistin combination therapies in a *Galleria mellonella* model of *Acinetobacter baumannii* infection. *Antimicrob Agents Chemother.* 2011 Jul;55(7):3534-7. doi: 10.1128/AAC.00230-11.

Insua JL, Llobet E, Moranta D, Pérez-Gutiérrez C, Tomás A, Garmendia J, et al. Modeling *Klebsiella pneumoniae* pathogenesis by infection of the wax moth *Galleria mellonella*. *Infect Immun.* 2013 Oct; 81(10):3552-65. doi: 10.1128/IAI.00391-13.

Jander G, Rahme LG, Ausubel FM. Positive correlation between virulence of *Pseudomonas aeruginosa* mutants in mice and insects. *J Bacteriol.* 2000 Jul;182(13):3843-5.

Jorge AOC. *Microbiologia e Imunologia oral*. São Paulo: Elsevier; 2012.

Junqueira JC, Fuchs BB, Muhammed M, Coleman JJ, Suleiman JM, Vilela SF, et al. Oral *Candida albicans* isolates from HIV-positive individuals have similar in vitro biofilm-forming ability and pathogenicity as invasive *Candida* isolates. *BMC Microbiol.* 2011 Nov 4;11:247. doi: 10.1186/1471-2180-11-247.

Kart D, Tavernier S, Van Acker H, Nelis HJ, Coenye T. Activity of disinfectants against multispecies biofilms formed by *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans* and *Pseudomonas aeruginosa*. *Biofouling*. 2014;30(3):377-83. doi: 10.1080/08927014.2013.878333.

Kenyon JJ, Marzaioli AM, Hall RM, De Castro C. Structure of the K12 capsule containing 5,7-di-N-acetylacinetaminic acid from *Acinetobacter baumannii* isolate D36. *Glycobiology*. 2015 Aug;25(8):881-7. doi: 10.1093/glycob/cwv028.

Kim HA, Ryu SY, Seo I, Suh SI, Suh MH, Baek WK. Biofilm Formation and Colistin Susceptibility of *Acinetobacter baumannii* Isolated from Korean Nosocomial Samples. *Microb Drug Resist*. 2015 Aug;21(4):452-7. doi: 10.1089/mdr.2014.0236.

Kostoulas X, Murray GL, Cerqueira GM, Kong JB, Bantun F, Mylonakis E, et al. Impact of a Cross-Kingdom Signalling Molecule of *Candida albicans* on *Acinetobacter baumannii* physiology. *Antimicrob Agents Chemother*. 2015 Oct 19;60(1):161-7. doi: 10.1128/AAC.01540-15.

Krom BP, Kidwai S, Ten Cate JM. *Candida* and other fungal species: forgotten players of healthy oral microbiota. *J Dent Res*. 2014 May;93(5):445-51. doi: 10.1177/0022034514521814.

KuoLee R, Harris G, Yan H, Xu HH, Conlan WJ, Patel GB, et al. Intranasal immunization protects against *Acinetobacter baumannii*-associated pneumonia in mice. *Vaccine*. 2015 Jan 1;33(1):260-7. doi: 10.1016/j.vaccine.2014.02.083.

Lee GC, Burgess DS. Treatment of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase (KPC) infections: a review of published case series and case reports. *Ann Clin Microbiol Antimicrob*. 2012 Dec 13;11:32. doi: 10.1186/1476-0711-11-32.

Lee HW, Koh YM, Kim J, Lee JC, Lee YC, Seol SY, et al. Capacity of multidrug-resistant clinical isolates of *Acinetobacter baumannii* to form biofilm and adhere to epithelial cell surfaces. *Clin Microbiol Infect*. 2008 Jan;14(1):49-54.

Lery LM, Frangeul L, Tomas A, Passet V, Almeida AS, Bialek-Davenet S, et al. Comparative analysis of *Klebsiella pneumoniae* genomes identifies a phospholipase D family protein as a novel virulence factor. *BMC Biol*. 2014 May 29;12(1):41. doi: 10.1186/1741-7007-12-41.

Longo F, Vuotto C, Donelli G. Biofilm formation in *Acinetobacter baumannii*. *New Microbiol*. 2014 Apr;37(2):119-27.

Mayer FL, Wilson D, Hube B. *Candida albicans* pathogenicity mechanisms.

Virulence. 2013 Feb 15;4(2):119-28. doi: 10.4161/viru.22913.

Martínez T, Ropelewski AJ, González-Mendez R, Vázquez GJ, Robledo IE. Draft Genome Sequence of *Klebsiella pneumoniae* Carbapenemase-Producing *Acinetobacter baumannii* Strain M3AC9-7, Isolated from Puerto Rico. Genome Announc. 2015 Apr 9;3(2). pii: e00274-15. doi: 10.1128/genomeA.00274-15.

Mitchell KF, Zarnowski R, Sanchez H, Edward JA, Reinicke EL, Nett JE, et al. Community participation in biofilm matrix assembly and function. Proc Natl Acad Sci U S A. 2015 Mar 31;112(13):4092-7. doi: 10.1073/pnas.1421437112.

Munoz-Price LS, Poirel L, Bonomo RA, Schwaber MJ, Daikos GL, Cormican M, et al. Clinical epidemiology of the global expansion of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemases. Lancet Infect Dis. 2013 Sep;13(9):785-96. doi: 10.1016/S1473-3099(13)70190-7.

Obeidat N, Jawdat F, Al-Bakri AG, Shehabi AA. Major biologic characteristics of *Acinetobacter baumannii* isolates from hospital environmental and patients' respiratory tract sources. Am J Infect Control. 2014 Apr;42(4):401-4. doi: 10.1016/j.ajic.2013.10.010.

Oh S, Go GW, Mylonakis E, Kim Y. The bacterial signaling molecule indole attenuates the virulence of the fungal pathogen *Candida albicans*. J Appl Microbiol. 2012 Sep;113(3):622-8. doi: 10.1111/j.1365-2672.2012.05372.x.

Padawer D, Pastukh N, Nitzan O, Labay K, Aharon I, Brodsky D, et al. Catheter-associated candiduria: Risk factors, medical interventions, and antifungal susceptibility. Am J Infect Control. 2015 Jul 1;43(7):19-22. doi: 10.1016/j.ajic.2015.03.013.

Park SJ, Han KH, Park JY, Choi SJ, Lee KH. Influence of bacterial presence on biofilm formation of *Candida albicans*. Yonsei Med J. 2014 Mar;55(2):449-58. doi: 10.3349/ymj.2014.55.2.449.

Peleg AY, Hogan DA, Mylonakis E. Medically important bacterial-fungal interactions. Nat Rev Microbiol. 2010 May;8(5):340-9. doi: 10.1038/nrmicro2313.

Piva E, Barbosa JO, Rossoni RD, Vilela SFG, Jorge AOC, Junqueira JC. Interação entre *Escherichia coli* e *Candida albicans* em biofilmes

formados in vitro: análise da viabilidade celular por método colorimétrico Rev Odontol UNESP, Araraquara. 2011 Set-Out;40(5):222-7.

Polke M, Hube B, Jacobsen ID. *Candida* Survival strategies. Adv Appl Microbiol. 2015 Feb 24;91:139-235. doi: 10.1016/bs.aambs.2014.12.002.

Rane HS, Bernardo SM, Howell AB, Lee SA. Cranberry-derived proanthocyanidins prevent formation of *Candida albicans* biofilms in artificial urine through biofilm and adherence specific mechanisms. Antimicrob Chemother. 2014 Feb;69(2):428-36. doi: 10.1093/jac/dkt398.

Richards AM, Abu Kwaik Y, Lamont RJ. Code blue: *Acinetobacter baumannii*, a nosocomial pathogen with a role in the oral cavity. Mol Oral Microbiol. 2015 Feb;30(1):2-15. doi: 10.1111/omi.12072.

Samaranayake YH, Bandara HM, Cheung BP, Yau JY, Yeung SK, Samaranayake LP. Enteric Gram-negative bacilli suppress *Candida* biofilms on foley urinary catheters. APMIS. 2014 Jan;122(1):47-58. doi: 10.1111/apm.12098.

Sanchez CJ Jr, Mende K, Beckius ML, Akers KS, Romano DR, Wenke JC, et al. Biofilm formation by clinical isolates and the implications in chronic infections. BMC Infect Dis. 2013 Jan 29;13:47. doi: 10.1186/1471-2334-13-47.

Sharma R, Arya S, Patil SD, Sharma A, Jain PK, Navani NK, et al. Identification of novel regulatory small RNAs in *Acinetobacter baumannii*. PLoS One. 2014 Apr 4;9(4):93833. doi: 10.1371/journal.pone.0093833.

Silva-Rocha WP, de Brito Lemos VL, Ferreira MR, Soares LA, Svidzinski TI, Milan EP, et al. Effect of the crude extract of *Eugenia uniflora* in morphogenesis and secretion of hydrolytic enzymes in *Candida albicans* from the oral cavity of kidney transplant recipients. BMC Complement Altern Med. 2015 Feb 5;15:6. doi: 10.1186/s12906-015-0522-x.

Siu LK, Huang DB, Chiang T. Plasmid transferability of KPC into a virulent K2 serotype *Klebsiella pneumoniae*. BMC Infect Dis. 2014 Mar 31;14:176. doi: 10.1186/1471-2334-14-176.

Thomas RJ, Hamblin KA, Armstrong SJ, Müller CM, Bokori-Brown M, Goldman S, et al. *Galleria mellonella* as a model system to test the pharmacokinetics and efficacy of antibiotics against *Burkholderia pseudomallei*. Int J Antimicrob Agents. 2013 Apr;41(4):330-6. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2012.12.009.

Uppuluri P, Pierce CG, Thomas DP, Bubeck SS, Saville SP, Lopez-Ribot JL. The transcriptional regulator Nrg1p controls *Candida albicans* biofilm formation and dispersion. *Eukaryot Cell*. 2010 Oct;9(10):1531-7. doi: 10.1128/EC.00111-10.

Vinogradov E, Maclean L, Xu HH, Chen W. The structure of the polysaccharide isolated from *Acinetobacter baumannii* strain LAC-4. *Carbohydr Res*. 2014 May 22;390:42-5. doi: 10.1016/j.carres.2014.03.001.

Vuotto C, Longo F, Balice MP, Donelli G, Varaldo PE. Antibiotic Resistance Related to Biofilm Formation in *Klebsiella pneumoniae*. *Pathogens*. 2014 Sep 5;3(3):743-58. doi: 10.3390/pathogens3030743.

Wand ME, Bock LJ, Turton JF, Nugent PG, Sutton JM. *Acinetobacter baumannii* virulence is enhanced in *Galleria mellonella* following biofilm adaptation. *J Med Microbiol*. 2012 Apr;61(Pt 4):470-7. doi: 10.1099/jmm.0.037523-0.

Wand ME, McCowen JW, Nugent PG, Sutton JM. Complex interactions of *Klebsiella pneumoniae* with the host immune system in a *Galleria mellonella* infection model. *J Med Microbiol*. 2013 Dec;62(Pt 12):1790-8. doi: 10.1099/jmm.0.063032-0.

Watamoto T, Samaranayake LP, Jayatilake JA, Egusa H, Yatani H, Seneviratne CJ. Effect of filamentation and mode of growth on antifungal susceptibility of *Candida albicans*. *Int J Antimicrob Agents*. 2009 Oct; 34(4):333-9. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2009.03.008.

Zarei Mahmoudabadi A, Zarrin M, Kiasat N. Biofilm Formation and Susceptibility to Amphotericin B and Fluconazole in *Candida albicans*. *Jundishapur J Microbiol*. 2014 Jul;7(7):17105. doi: 10.5812/jjm.17105.

Zarrilli R, Casillo R, Di Popolo A, Tripodi MF, Bagattini M, Cuccurullo S, et al. Molecular epidemiology of a clonal outbreak of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* in a university hospital in Italy. *Clin Microbiol Infect*. 2007 May;13(5):481-9.