

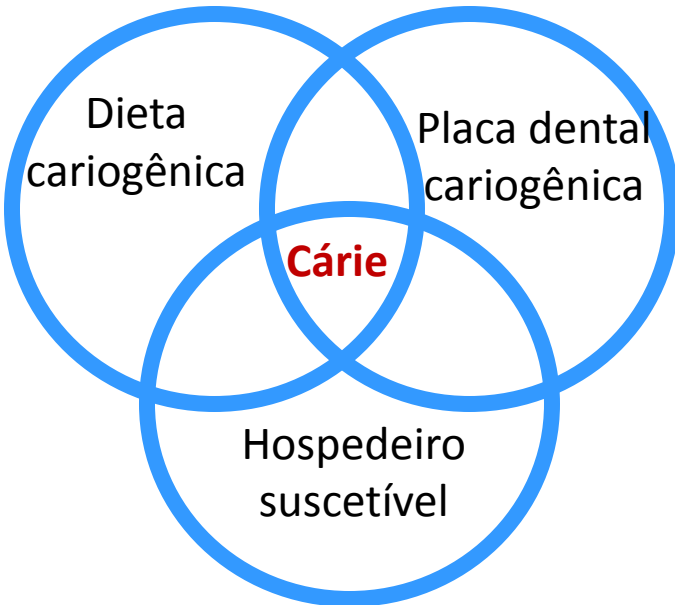
Microbiota associada à cárie dental



Bratthal - www.mah.se

Profa. Maria Regina Simionato - 2018

ETIOLOGIA DA CÁRIE DENTAL



Fitzgerald & Keyes

CÁRIE DENTAL:

Doença infecciosa endógena multifatorial

As interações **dieta** ➡ **micro-organismo** tem um papel determinante da microbiota que coloniza a cavidade bucal desde o nascimento

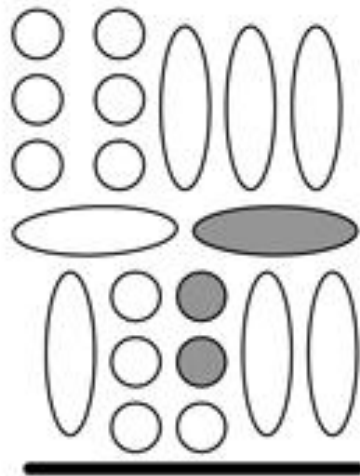
PLACA DENTAL CARIOGÊNICA

PLACA DENTAL CARIOGÊNICA

- ✚ Supragengival
- ✚ Composição e espessura ou localização suficientes para retardar a ação do tampão salivar

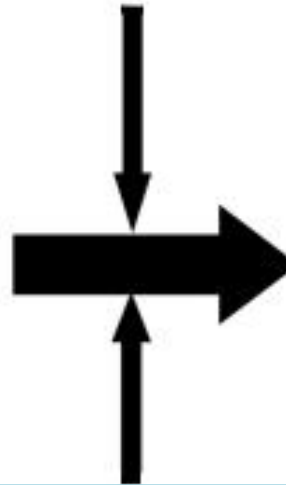


Ingestão frequente
de carboidratos
(sacarose)

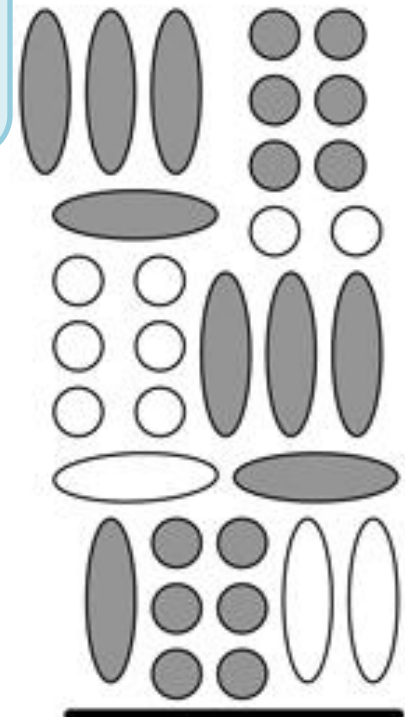


Placa associada à saúde

Equilíbrio com o
hospedeiro e entre os
membros da microbiota



Baixo pH na placa



Desequilíbrio!

Disbiose???

Placa cariogênica



Cárie dental

Portanto...

Cárie dental ocorre como resultado de :

Dieta cariogênica (associada à sacarose)

+

Metabolismo (açúcares) de microbiota disbiótica da placa dental

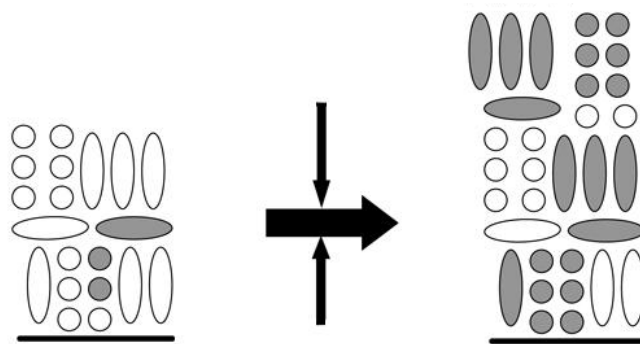
+

Hospedeiro susceptível

Portanto...

É mais importante detectar o desequilíbrio ecológico oral que leva à disbiose, do que a detecção de algumas bactérias alvo.

Microbiota oral na saúde e na cárie



Placa associada à saúde
Streptococcus não mutans
Actinomyces

(Colonizadores iniciais)

Lesão de cárie

*Microbiota acidogênica
fortemente associada à doença*

S. mutans

S. sobrinus

Bifidobacterium

Lactobacillus

Scardovia wiggsiae

Atopobium

Prevotella

Corynebacterium

Propionibacterium

Placa dental carigênica – fatores de virulência

① Atividade acidogênica intensa

② Matriz polissacarídica

③ Mecanismos de colonização da cavidade bucal – biofilme ou retenção mecânica

④ Aciduricidade ou acidofilia

Placa dental carigênica – fatores de virulência

① Atividade acidogênica intensa

② Matriz polissacarídica

③ Mecanismos de colonização da cavidade bucal – biofilme ou retenção mecânica

④ Aciduricidade ou acidofilia

Placa dental carigênica – fatores de virulência

① **Atividade acidogênica intensa**

A microbiota deve:

Produzir ácido orgânico forte (**ácido lático**)

Grandes quantidades

Rapidamente

Placa dental carigênica – fatores de virulência

① Atividade acidogênica intensa

Bactérias que possuem este fator de virulência:

Lactobacilos

Streptococcus do grupo mutans (*S. mutans* e *S. sobrinus*)

Sistemas de transporte de açúcares (PEP-PTS - fosfoenolpiruvato : fosfotransferase)

Obtenção de carboidrato mesmo em baixas concentrações

> produção de ácidos

Streptococos não-mutans produtores de pH baixo

(S. anginosus, S. gordonii, S. mitis, S. oralis)

Bifidobacterium

Actinomyces

Propionibacterium

Table. Acid Tolerance (Measured as Growth on Agar pH 5.5) and Acidogenicity (Measured as Final pH in Growth Medium) of Mutans Streptococci, *Scardovia*, and *Actinomyces* Strains.

Bacterial Strains	Growth Agar	Final pH Readings						
		pH 5.5 ^a	Initial pH 7.0			Initial pH 5.5		
			Glucose ^b	Sucrose ^b	Fructose ^b	Glucose ^b	Sucrose ^b	Fructose ^b
<i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175	2	3.83 ± 0.00	3.76 ± 0.00	3.79 ± 0.00	3.95 ± 0.02	3.87 ± 0.00	3.89 ± 0.00	
<i>Streptococcus mutans</i> SJ	2	3.86 ± 0.00	3.82 ± 0.00	3.80 ± 0.00	4.11 ± 0.01	4.05 ± 0.00	4.06 ± 0.00	
<i>Streptococcus sobrinus</i> ATCC 33478	2	2.98 ± 0.01	2.97 ± 0.02	2.91 ± 0.01	3.78 ± 0.05	3.71 ± 0.00	3.68 ± 0.00	
<i>Streptococcus sobrinus</i> ATCC 27352/6715	2	3.72 ± 0.03	3.73 ± 0.00	3.74 ± 0.00	3.99 ± 0.01	4.01 ± 0.01	4.03 ± 0.00	
<i>Scardovia wiggisiae</i> DSM 22547/C155A	2	3.30 ± 0.01	3.36 ± 0.01	3.12 ± 0.01	3.47 ± 0.03	3.65 ± 0.03	3.52 ± 0.03	
<i>Scardovia wiggisiae</i> H42A2/F0424	2	3.51 ± 0.02	3.26 ± 0.00	3.23 ± 0.05	4.02 ± 0.03	3.85 ± 0.02	3.75 ± 0.01	
<i>Actinomyces johnsonii</i> (H122B8)	2	3.43 ± 0.01	3.48 ± 0.01	3.49 ± 0.01	4.09 ± 0.01	4.12 ± 0.01	4.10 ± 0.01	
<i>Actinomyces</i> sp. HOT 170 (A84A17)	2	3.52 ± 0.04	3.44 ± 0.00	3.40 ± 0.00	3.75 ± 0.07	3.82 ± 0.01	3.89 ± 0.00	
<i>Actinomyces oris</i> (H49B49)	1	3.77 ± 0.00	3.70 ± 0.01	3.83 ± 0.01	4.29 ± 0.00	4.27 ± 0.01	4.29 ± 0.00	
<i>Actinomyces naeslundii</i> I (H101A18)	1	3.80 ± 0.02	3.82 ± 0.01	3.87 ± 0.02	4.21 ± 0.01	4.21 ± 0.01	4.12 ± 0.04	
<i>Actinomyces</i> sp. HOT 179 (A62A40)	2	3.82 ± 0.00	3.80 ± 0.00	3.84 ± 0.00	4.28 ± 0.02	4.25 ± 0.00	4.25 ± 0.00	
<i>Actinomyces</i> sp. HOT 448 (T39B26)	2	3.88 ± 0.00	3.91 ± 0.02	3.98 ± 0.03	4.26 ± 0.01	4.24 ± 0.00	4.19 ± 0.04	
<i>Actinomyces graevenitzii</i> (A62A23)	2	3.95 ± 0.01	4.01 ± 0.00	4.01 ± 0.00	3.27 ± 0.02	3.34 ± 0.02	3.26 ± 0.00	
<i>Actinomyces dentalis</i> (H22B8)	1	4.11 ± 0.00	4.07 ± 0.01	4.08 ± 0.06	4.24 ± 0.01	4.25 ± 0.01	4.21 ± 0.03	
<i>Actinomyces</i> sp. HOT 180 (T17B14)	2	4.12 ± 0.13	3.97 ± 0.00	3.88 ± 0.02	4.17 ± 0.00	4.16 ± 0.00	4.15 ± 0.02	
<i>Actinomyces</i> sp. HOT 177 (H49B36)	2	4.18 ± 0.00	4.17 ± 0.00	4.29 ± 0.00	3.69 ± 0.01	3.76 ± 0.01	3.80 ± 0.00	
<i>Actinomyces</i> sp. HOT 171 (H49B26)	2	4.18 ± 0.01	4.22 ± 0.04	4.32 ± 0.11	4.31 ± 0.01	4.35 ± 0.00	4.32 ± 0.01	
<i>Actinomyces</i> sp. HOT 172 (H304PB12)	2	4.26 ± 0.03	4.27 ± 0.01	4.25 ± 0.01	4.14 ± 0.05	4.06 ± 0.02	4.01 ± 0.02	
<i>Actinomyces</i> sp. HOT 169 (T1B18)	1	4.28 ± 0.05	4.21 ± 0.01	4.19 ± 0.01	4.36 ± 0.04	4.26 ± 0.00	4.28 ± 0.04	
<i>Actinomyces</i> sp. HOT 178 (H11B25)	1	4.36 ± 0.01	4.34 ± 0.01	4.22 ± 0.00	4.43 ± 0.01	4.43 ± 0.00	4.30 ± 0.00	
<i>Actinomyces</i> sp. HOT 877 (T1B25)	1	4.38 ± 0.03	4.43 ± 0.00	4.23 ± 0.00	4.43 ± 0.02	4.52 ± 0.00	4.31 ± 0.00	
<i>Actinomyces gerencseriae</i> (H74B34)	1	4.52 ± 0.02	4.57 ± 0.00	4.51 ± 0.01	3.85 ± 0.01	3.92 ± 0.03	3.80 ± 0.04	
<i>Actinomyces odontolyticus</i> (H106B16)	1	4.63 ± 0.05	4.69 ± 0.01	4.57 ± 0.00	4.48 ± 0.04	4.54 ± 0.00	4.45 ± 0.00	
<i>Actinomyces israelii</i> (A87A37)	1	4.65 ± 0.03	4.66 ± 0.13	4.66 ± 0.10	3.85 ± 0.00	4.09 ± 0.01	4.02 ± 0.12	
<i>Actinomyces naeslundii</i> II (H403B5)	1	4.69 ± 0.03	4.56 ± 0.00	4.68 ± 0.05	4.57 ± 0.01	4.56 ± 0.00	4.59 ± 0.00	
<i>Actinomyces</i> sp. HOT 175 (T20B12)	1	4.75 ± 0.02	4.71 ± 0.02	4.85 ± 0.01	4.55 ± 0.01	4.54 ± 0.01	4.61 ± 0.02	
<i>Actinomyces meyeri</i> (H101A17)	2	4.79 ± 0.06	4.45 ± 0.01	4.48 ± 0.00	4.34 ± 0.46	3.75 ± 0.02	3.75 ± 0.04	
<i>Actinomyces</i> sp. HOT 181 (H304PA1)	2	4.94 ± 0.01	4.22 ± 0.01	4.21 ± 0.00	4.55 ± 0.05	4.11 ± 0.01	4.12 ± 0.02	
<i>Actinomyces massiliensis</i> (T20B27)	2	5.13 ± 0.02	5.15 ± 0.04	5.18 ± 0.03	4.83 ± 0.03	4.92 ± 0.05	4.93 ± 0.05	
<i>Actinomyces georgiae</i> (T41B19)	1	5.42 ± 0.10	5.16 ± 0.13	5.15 ± 0.03	4.50 ± 0.05	4.28 ± 0.06	4.34 ± 0.04	

Estreptococos do grupo mutans

Espécie	Hospedeiro
<i>S. mutans</i> sorotipos <i>c, e, f</i>	Homem
<i>S. sobrinus</i>	Homem
<i>S. rattus</i>	
<i>S. ferus</i>	
<i>S. cricetus</i>	

① Atividade acidogênica intensa

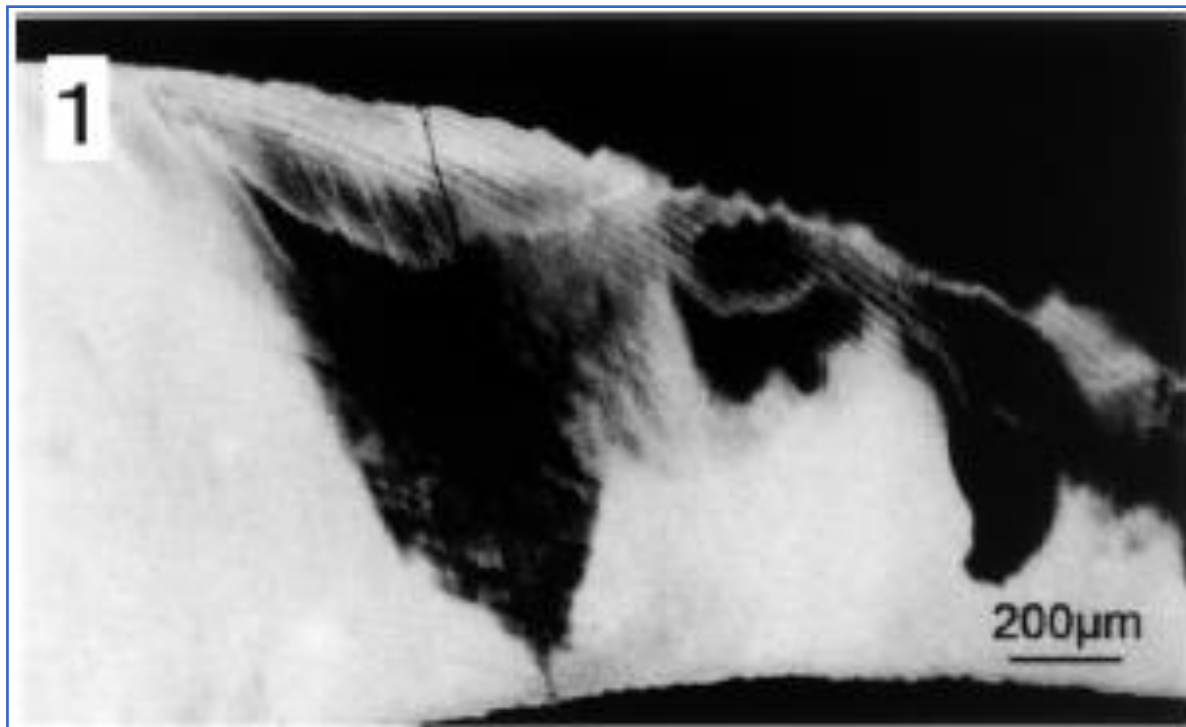
Acidogenicidade de bactérias associadas à cárie dental

Bactéria	pH final
Lactobacilos	3,6 – 4,0
<i>Bifidobacterium</i>	3,9 – 4,0
Estreptococos grupo mutans	4,0 - 4,4
Estreptococos não mutans	4,2 - 5,2
<i>Actinomyces</i>	4,3 – 5,7

Lesão inicial



Desmineralização causada por ácidos na camada subsuperficial do esmalte (30 μm da superfície)



Fatores de virulência de bactérias cariogênicas

① Atividade acidogênica intensa

② Matriz polissacarídica

③ Mecanismos de colonização da cavidade bucal – biofilme ou retenção mecânica

④ Aciduricidade ou acidofilia

② Matriz polissacarídica

Influencia a virulência da placa:

- Aumenta a aderência de microrganismos
 - Fonte de energia e nutrientes
- Protege microrganismos aumentando a tolerância a antimicrobianos
- Afeta a difusão de substâncias no biofilme
- Concentra íons de metais e outros nutrientes no biofilme

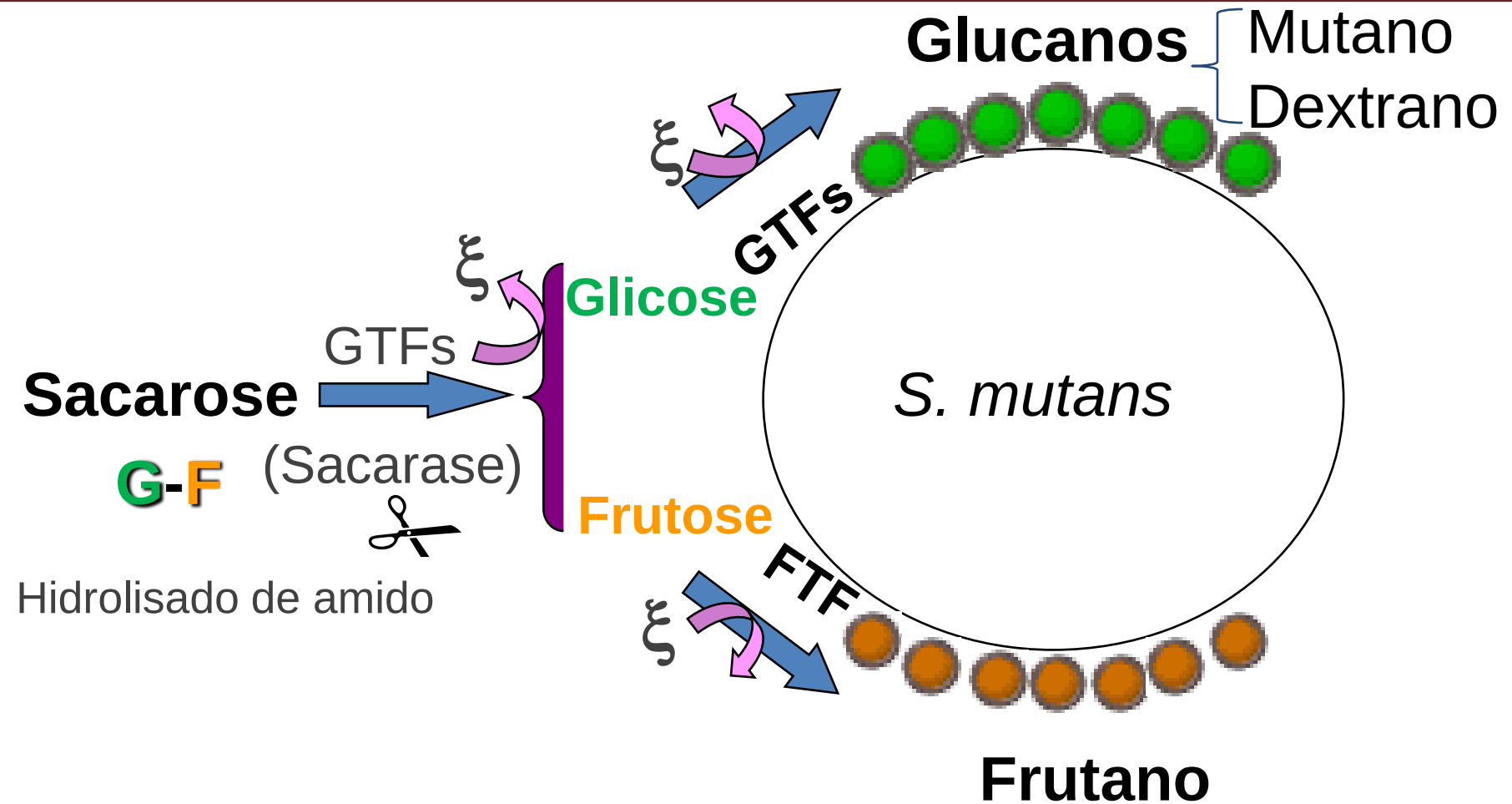
② Matriz polissacarídica

Principais componentes da matriz da placa cariogênica:

- Polissacarídeos como glucanos e frutanos produzidos por *S. mutans* e *S. sobrinus*
- Glucanos solúveis e frutanos produzidos por outras espécies
- Polissacarídeo híbrido amido-glucano (mais complexo e insolúvel que os glucanos)
- eDNA: ativamente secretado ou produto da lise celular; possui propriedades tipo amilóide; liga-se a componentes poliméricos da matriz; serve como fonte de nutrientes.

② Matriz polissacarídica

Produção de PEC por *S. mutans* a partir da sacarose



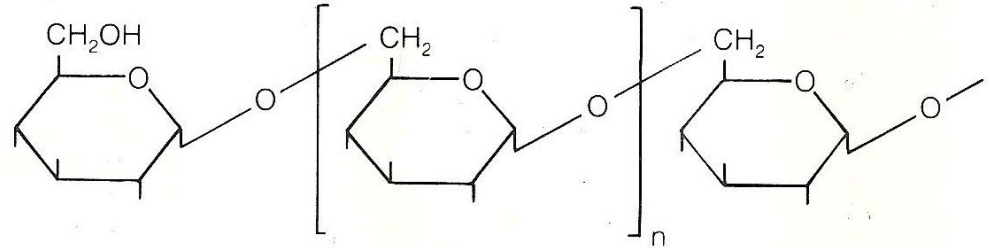
PEC = Polissacarídeo extracelular
GTFs = Glicosiltransferases (exoenzimas)
FTF = Frutosiltransferase

Características dos glucanos

Dextrano

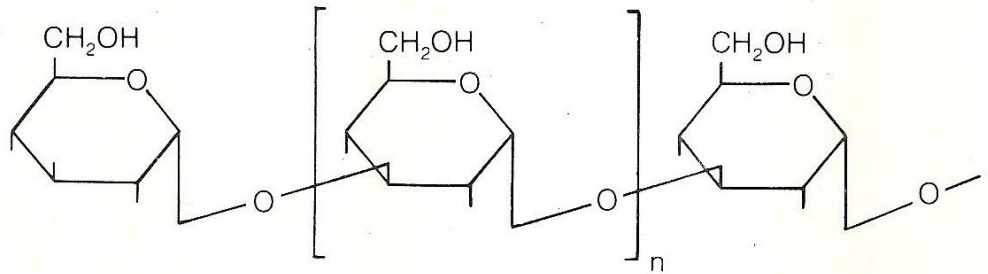
Glucano solúvel

Ligações α -1,6



Glucano insolúvel

Ligações α -1,3



Mutano

S. mutans

S. sobrinus

Dextrano > Mutano

(Solúvel > Insolúvel)

Mutano > Dextrano

(Insolúvel > Solúvel)

Gtfs de *S. mutans*

	GtfB	GtfC	GtfD
Afinidade	Superfícies bacterianas e película adquirida <i>S. mutans</i> <i>A. viscosus</i> <i>L. casei</i> <i>Candida spp</i> converte não produtores de glucano em produtores	Película adquirida >nº de sítios de ligação à PA que GtfB e D	Película adquirida poucos sítios de ligação à PA
Glucano produzido	>Insolúvel (mutano) (ligações α-1,3)	Insolúvel = Solúvel	Solúvel (dextrano) (ligações α-1,6)

PEC de *S. mutans* são considerados fatores de virulência para a cárie dental

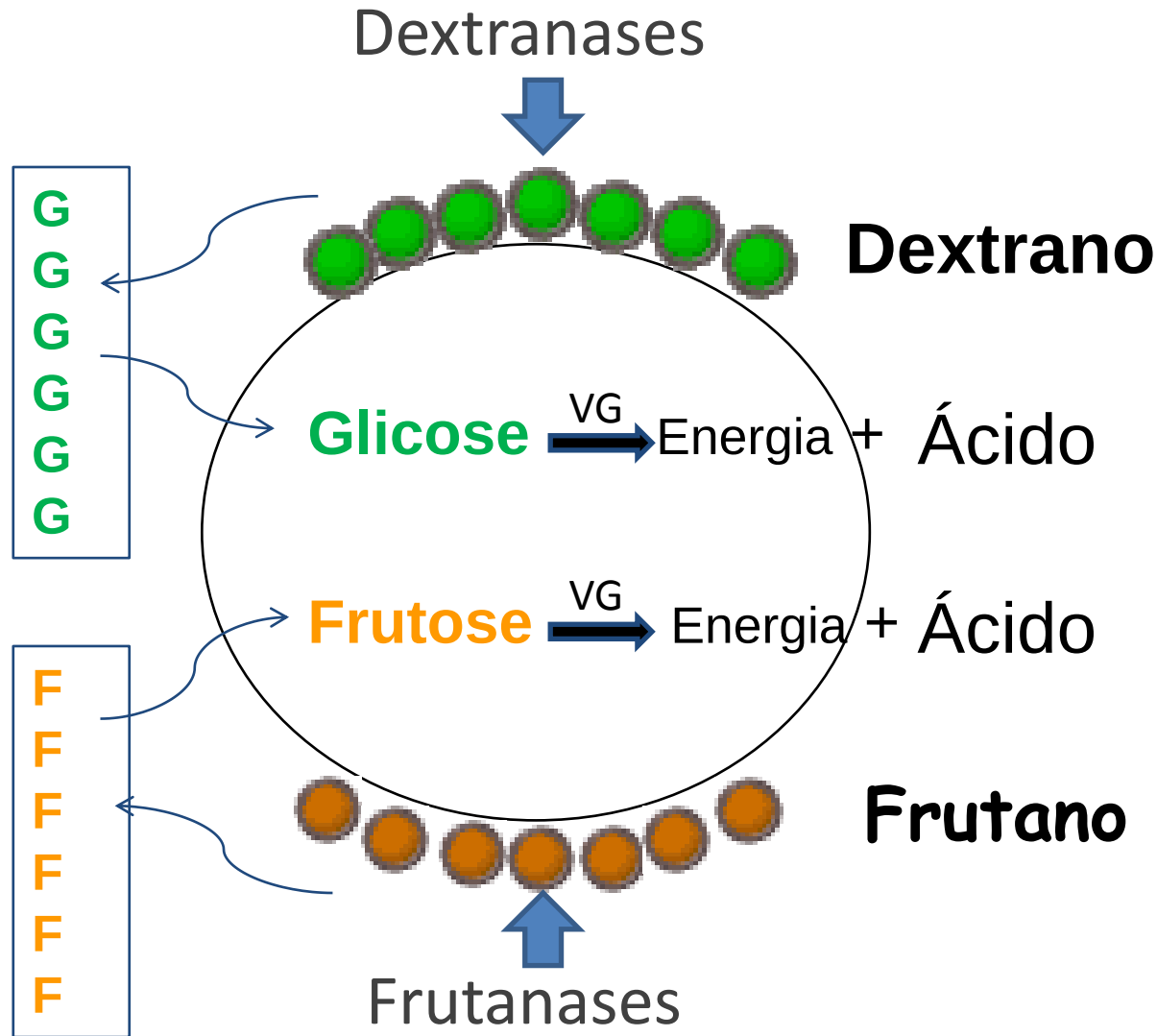
- Podem ser convertidos em ácidos nos períodos entre refeições

(Frutanases e Dextranases)

- Participam da colonização sacarose-dependente de *S. mutans* na placa dental (adesão e co-adesão)

- Aumentam a estabilidade mecânica da placa por manterem as bactérias unidas entre si e à superfície dental (> dificuldade de remoção mecânica)

Metabolização de PEC por *S. mutans*



VG = Via glicolítica

Fatores de virulência de bactérias cariogênicas

① Atividade acidogênica intensa

② Matriz polissacarídica

③ Mecanismos de colonização da cavidade bucal – biofilme ou retenção mecânica

④ Aciduricidade ou acidofilia

③ Mecanismos de colonização da cavidade bucal – biofilme ou retenção mecânica

É necessário que a bactéria produza e concentre o ácido junto à superfície dental

∴ deve estar presente na placa dental

S. mutans: adesão e coadesão por mecanismos sacarose dependentes e independentes

S. sobrinus: adesão e coadesão somente por mecanismos sacarose dependentes

Microbiota cariogênica da placa dental

∴ ou deve estar retida mecanicamente em sulcos e fissuras

Lactobacilos

Colonização de *S. mutans*

① Mecanismo sacarose independente

Adesina :	Ag I/II (Proteína P1, SpaP)
Receptor na PA:	Glipoproteína salivar (gp340)

② Mecanismos sacarose dependentes

Glicosiltransferases (GtfB, GtfC e GtfD) (proteínas com atividade enzimática)

① Enzimas extracelulares

② Apresentam afinidade de ligação

{ **superfície de *S. mutans*** ou outras bactérias
película adquirida
glucano

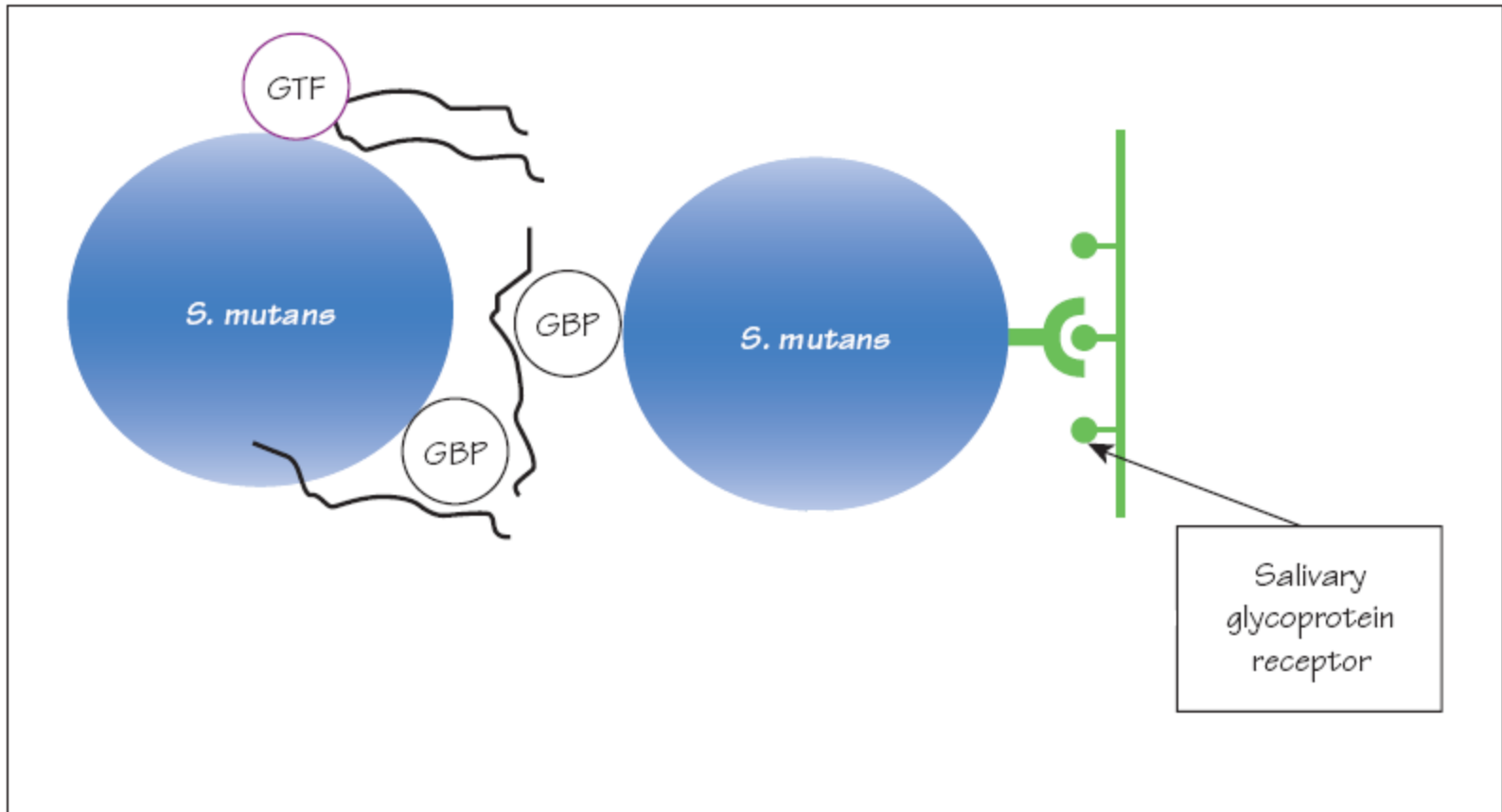
③ Produzem glucanos *in situ*

② Mecanismos sacarose dependentes

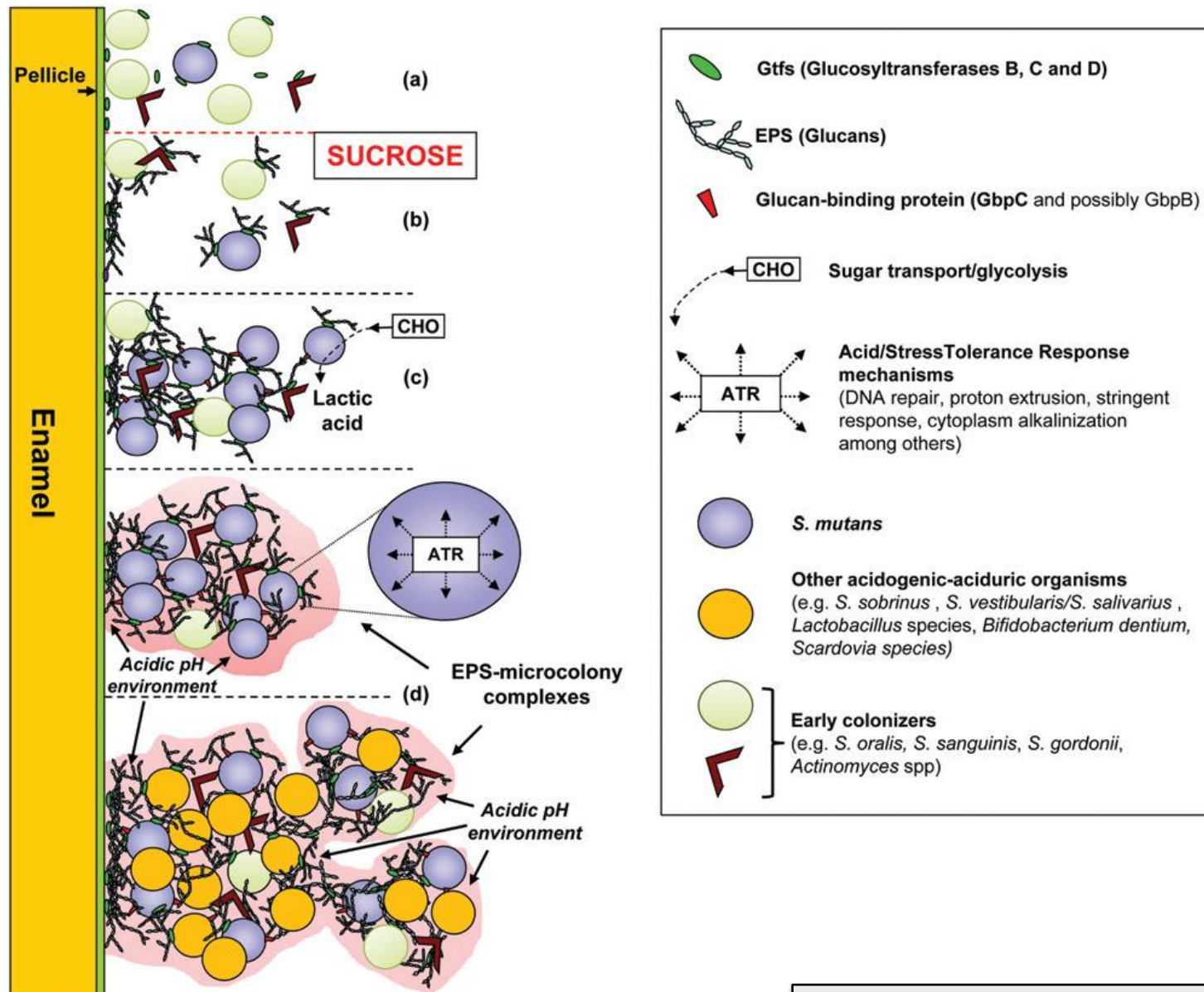
Glucan Binding Proteins (GbpA, GbpB, GbpC e GbpD) (proteínas sem atividade enzimática)

- ❶ Presentes na superfície de *S. mutans*
- ❷ Ligam-se a glucanos presentes na superfície:
 - de *S. mutans* ou de outras bactérias (coadesão)
 - da película adquirida

Mecanismos de colonização de *S. mutans*



Mecanismos de colonização de *S. mutans*



Fatores de virulência de bactérias cariogênicas

① Atividade acidogênica intensa

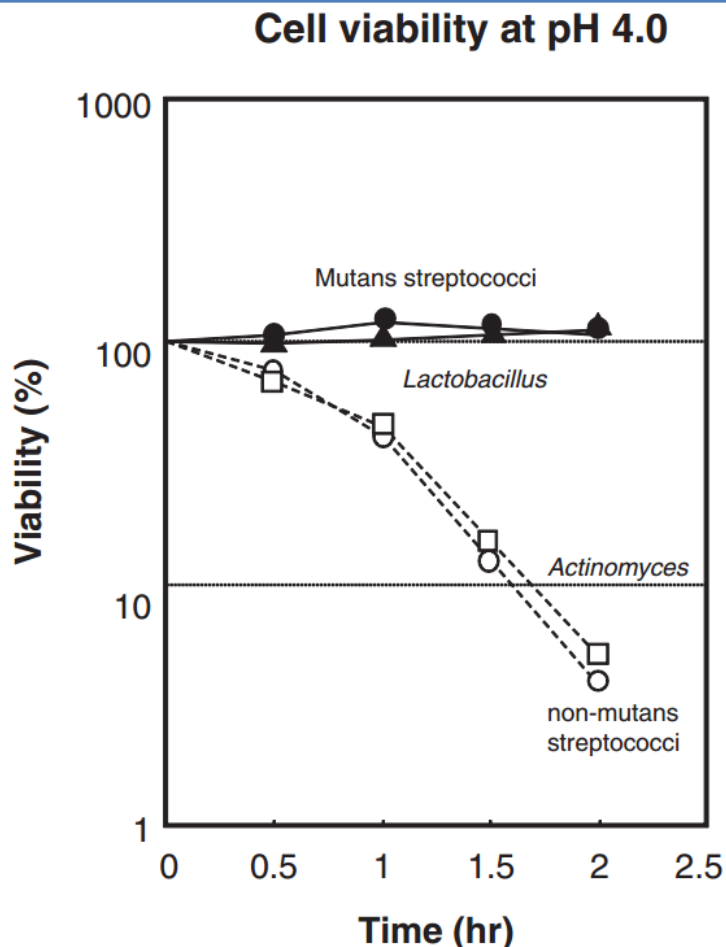
② Matriz polissacarídica

③ Mecanismos de colonização da cavidade bucal – biofilme ou retenção mecânica

④ Aciduricidade ou acidofilia

④ Aciduricidade ou acidofilia

Capacidade de bactérias da placa sobreviverem e até metabolizarem melhor em pH ácido.



S. mutans e lactobacilos

- permanecem viáveis
- são metabolicamente mais ativos em baixos pHs

④ Aciduricidade ou acidofilia

S. mutans* e *S. sobrinus

- ☺ extrusão de íons H^+ através do sistema F1-F0 ATPase
- ☺ aumento da proporção de ácidos graxos mono-insaturados na membrana, que diminuem a permeabilidade dos prótons
- ☺ produção de proteínas específicas em resposta ao stress ácido (chaperonas, proteases e proteínas de reparo de DNA)

Ácidos formados na placa dental:

- 1 Ácido láctico metabolizado por *Veillonella*, *Eubacterium*, *Arachnia* ➡ ácido propiônico e ácido acético ➡ ácido butírico ou capróico ➡ < acidez
- 2 Neutralização pela amônia proveniente da hidrólise da uréia (*S. salivarius*, *Actinomyces*), lisina e arginina (*S. gordonii*) por bactérias do biofilme

③ Neutralização pelo tampão salivar (pH 5,0 - 5,2)

④ Neutralização pelo tampão $\text{Ca} - \text{PO}_4$ da superfície dental (pH < 5,0) ➡ impede que o pH caia a 3,0 ou 4,0, impossibilitando a remineralização, que ocorre em pH > 5,0

⑤ Desmineralização do Esmalte ➡ CAVITAÇÃO



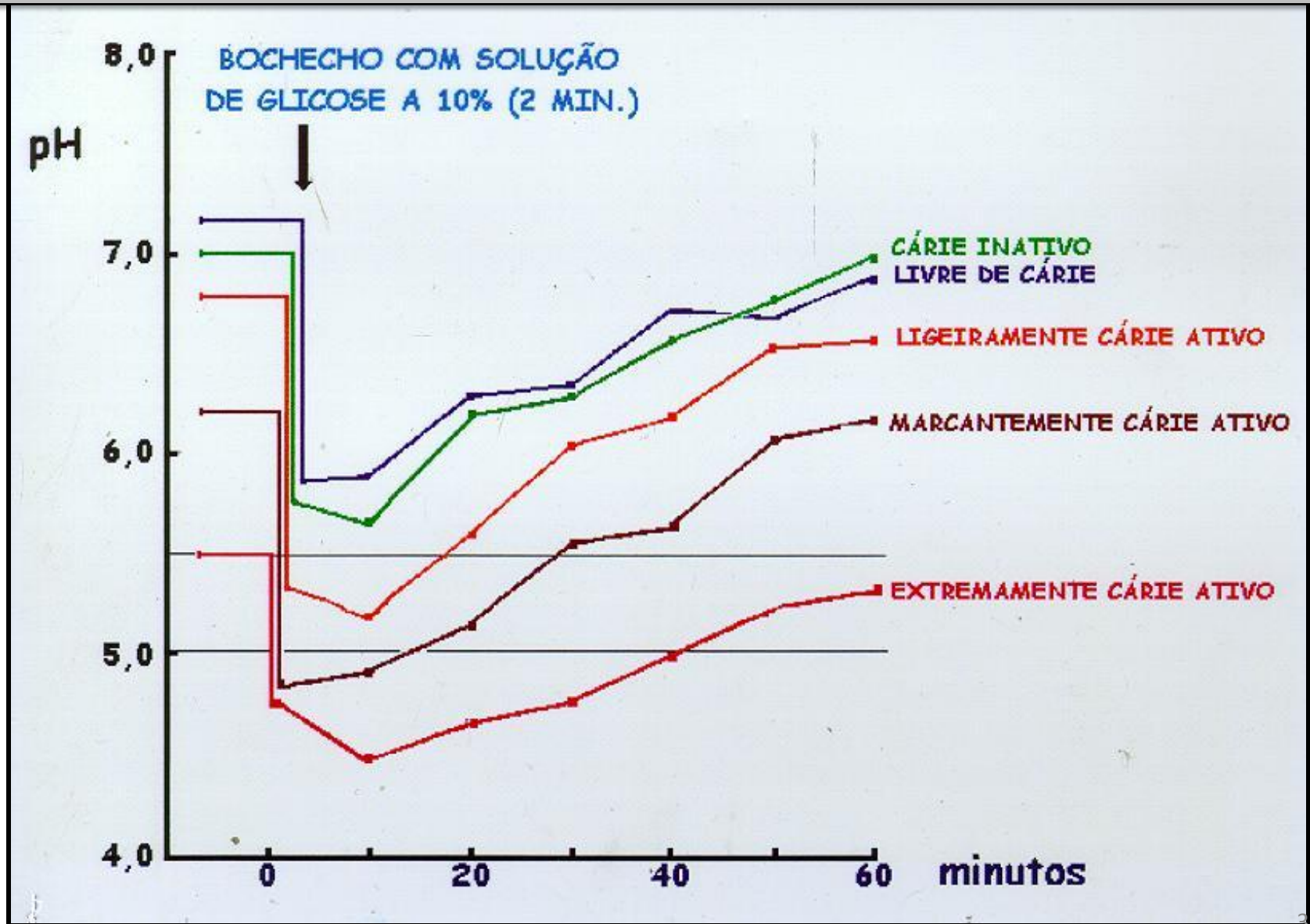
SUSCETIBILIDADE DO HOSPEDEIRO

Suscetibilidade do hospedeiro

- 1. Idade (tipo de dentição, maturação da superfície)**
- 2. Higiene oral**
- 3. Fatores genéticos, etnicidade**
- 4. Densidade do esmalte**
- 5. Quantidade de matéria orgânica (esmalte, dentina)**
- 6. Nível sócio-econômico**
- 7. Acesso ao flúor (composição superfície do esmalte)**
- 8. Função salivar (fluxo e capacidade tampão)**

Cinética da produção de ácidos na placa dental

Curva de Stephan

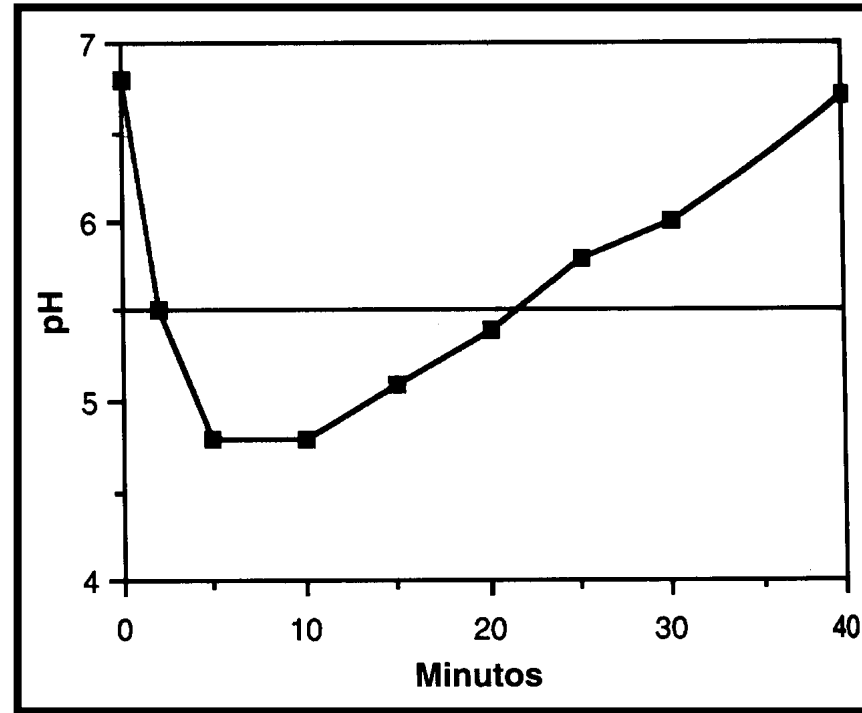


pH da placa dental após bochecho de glicose a 10%

Queda rápida de pH



Produção rápida e intensa de ácidos



Recuperação do pH



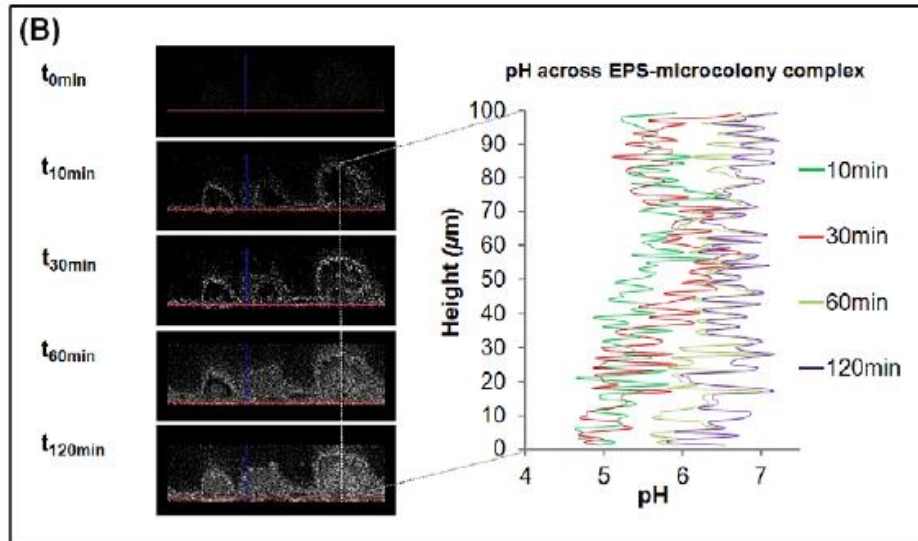
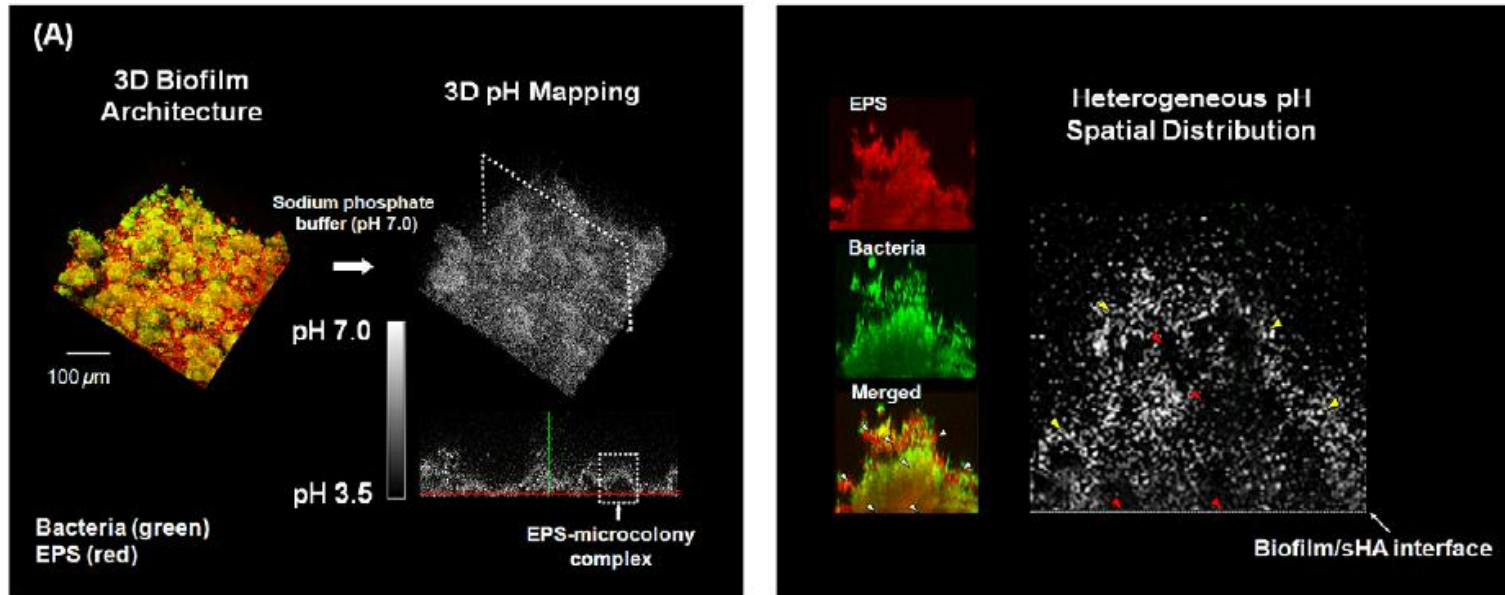
Remineralização

Permanência abaixo do pH crítico

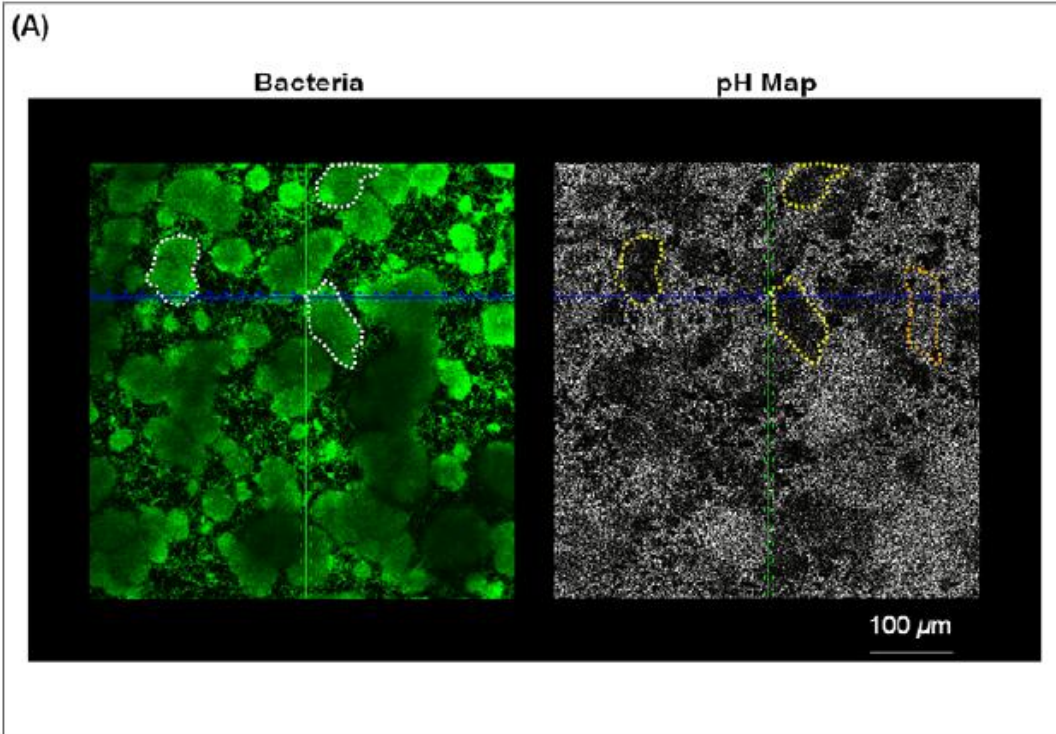


Seleção de acidúricos
Desmineralização

Perfil de pH em microcolônias após introdução de sacarose a 1%



pH *in situ* 30 minutos após introdução de sacarose a 1%



(B)

pH at biofilm/sHA interface	
	pH
Area without surface attached microcolony	6.17 $\pm$ 0.13
Area with surface attached microcolony	5.31 $\pm$ 0.23 *

DIETA CARIOGÊNICA

Dieta cariogênica

Sacarose

Amido

Sacarose + amido

Hidrolisados de amido podem ser incorporados durante a síntese de glucanos

GtfB e amilase – sHA ➡ atuam em conjunto aumentando a síntese de glucanos mais insolúveis

Cariogenicidade da sacarose e do amido

Sacarose

- 1. Molécula pequena
- 2. Não carregada
- 3. Altamente solúvel



Fácil difusão na placa dental

- 4. Elaboração de PEC
- 5. Maior produção de ácidos por *S. mutans*

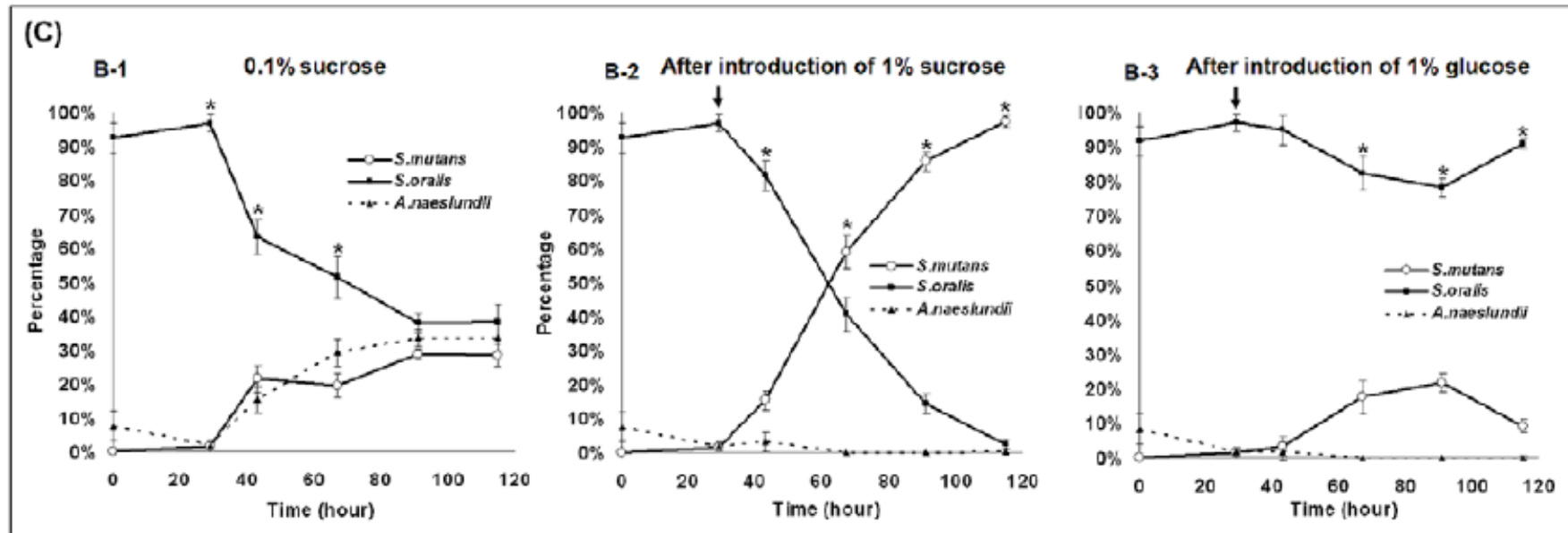
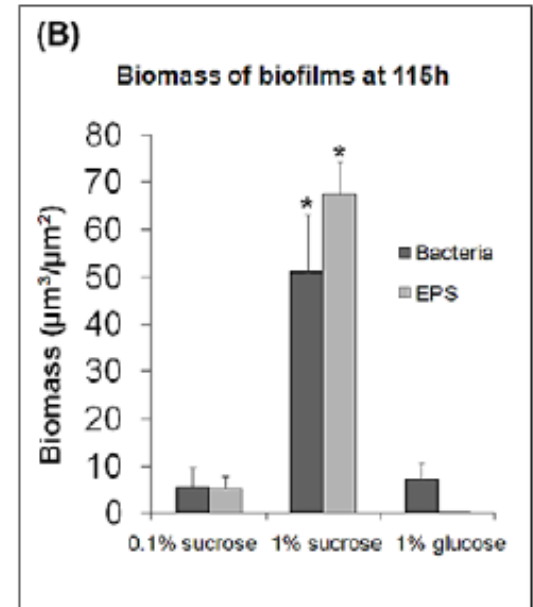
Amido

S. mutans possui diversos sistemas de transporte envolvidos na aquisição de hidrolisados de amido (e.g. maltose e maltotriose)

Como a ingestão frequente de sacarose
leva ao estabelecimento de uma
microbiota disbiótica na placa dental???

Fatores de Virulência { Matriz extracelular rica em PEC
Produção de ácidos
Aciduricidade

Dinâmica populacional do biofilme após
introdução de carboidratos



★ Estudos antropológicos

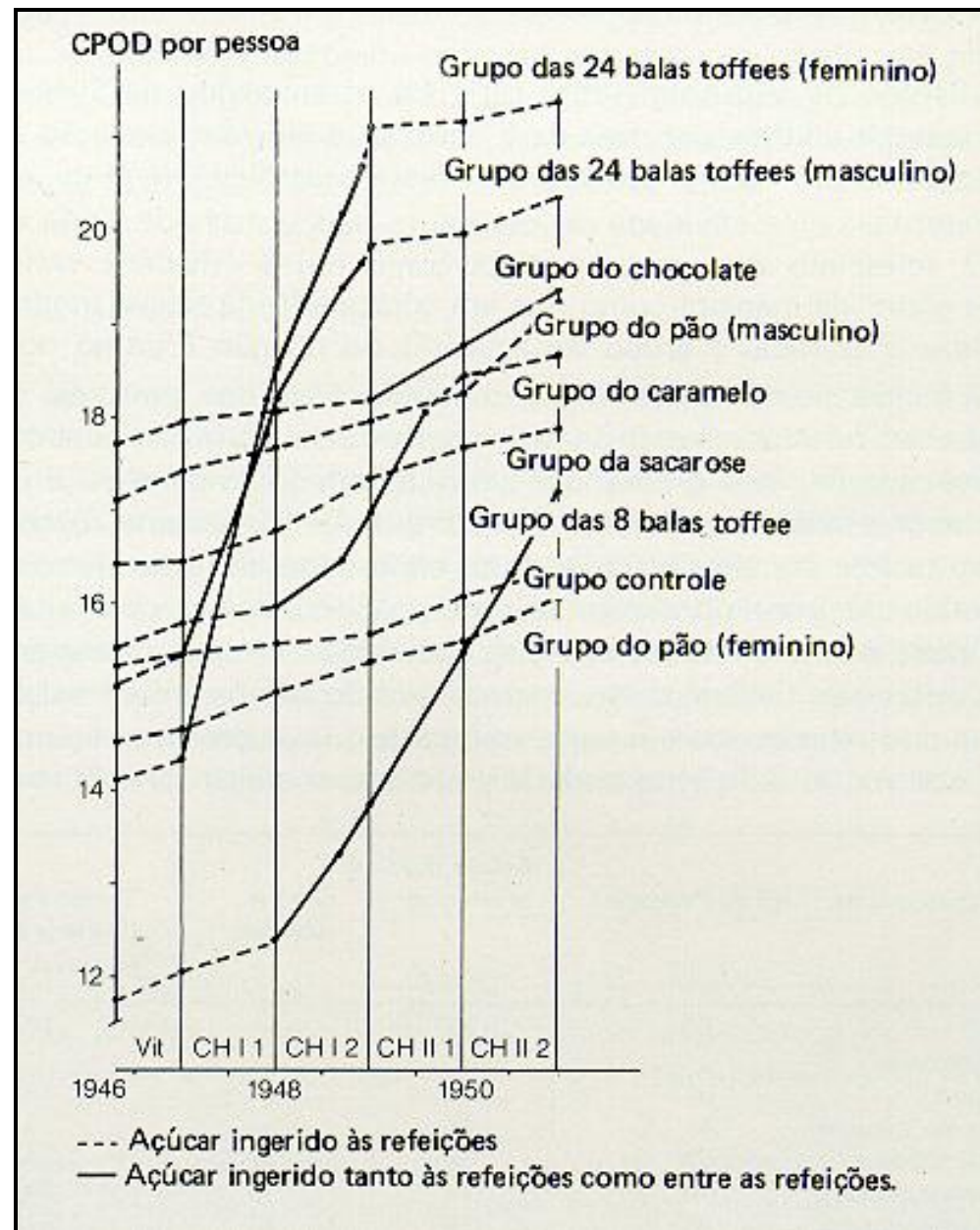
Dentes de crânios antigos exibem cáries cervicais e oclusais, mas são raras as cáries nas superfícies lisas do esmalte.

★ Estudos epidemiológicos

Populações que se desenvolvem isoladas e não utilizam a sacarose na sua alimentação, apresentam padrão de cárie semelhante aos de crânios antigos

★ Cárie experimental em seres humanos

Estudo de Vipeholm
(Suécia)



Fatores que determinam a cariogenicidade dos alimentos

Fatores relacionados aos produtos

 **Tipo de carboidrato** – sacarose, glicose, frutose, amido, substitutos da sacarose, etc

 **Quantidade de carboidrato**

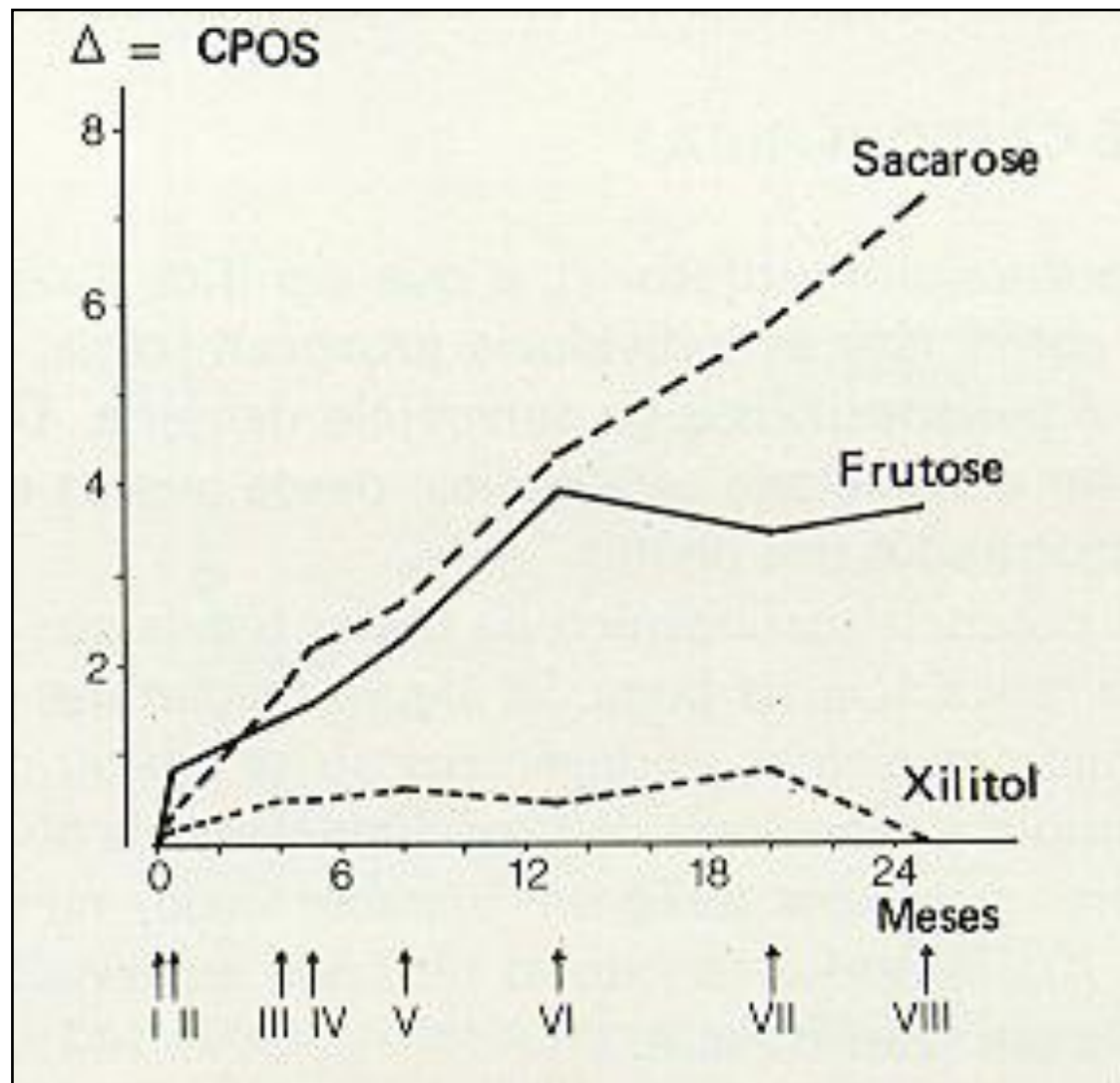
 **Concentração de carboidratos**

 **Viscosidade**

 **Resistência à mastigação**



Cariogenicidade de sacarose, frutose e xilitol



Fatores relacionados ao indivíduo



Frequência de ingestão



Uso racional da sacarose

Durante as principais refeições, com grande intervalo de tempo para que ocorra a remineralização



Liberação oral

DIETA 1



8:30 h – Café da manhã

10:00 h - Doce

11:30 h – Café

12:30 h - Chocolate

13:30 h – Almoço

15:30 h - Doce

17:00 h – Café

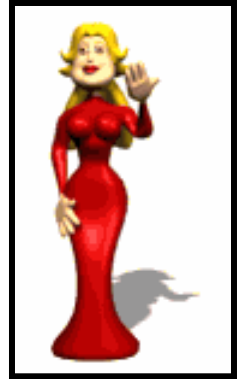
19:30 h – Jantar

21:30 h – Doce

22:30 h -Biscoito

23:00 h - Chocolate

DIETA 2



8:30 h – Café da manhã

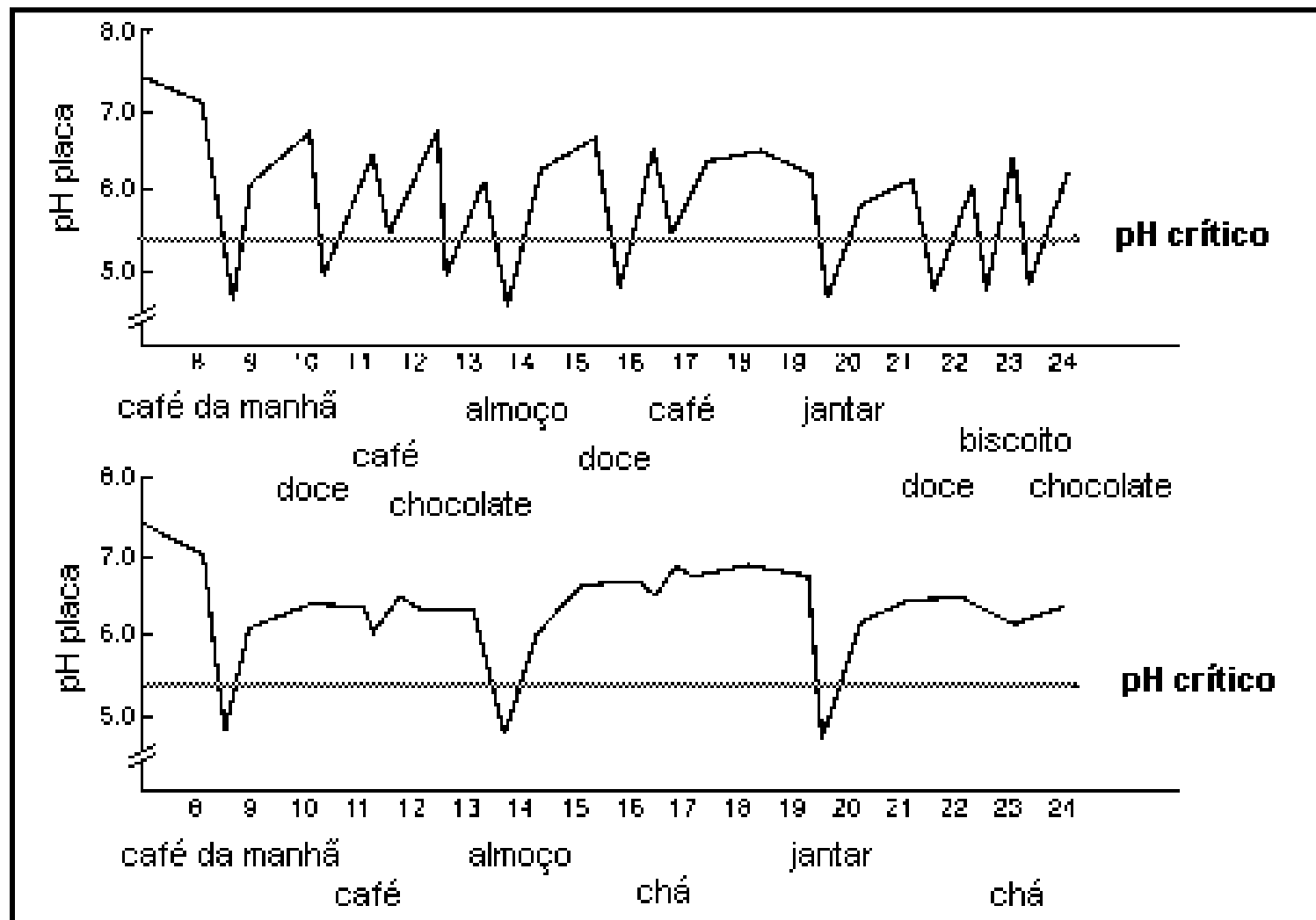
11:00 h – Fruta

13:30 h – Almoço

16:30 h – Fruta

19:30 h – Jantar

23:00 h - Chá



consumo de sacarose → seleção de acidúricos

placa cariogênica



★ Remoção de carboidratos da cavidade oral

Executada durante e após a mastigação:

Fluxo salivar + atividade dos músculos mastigatórios, dos lábios e bochechas

Tempo de remoção prolongado por:

- Fatores retentivos: **cáries, restaurações inadequadas, próteses, apinhamentos**
- Fatores salivares: **secreção reduzida, alta viscosidade**
- Baixa atividade muscular

Recursos práticos para acelerar a remoção

1. Higienização imediata
2. Indução de aumento de secreção salivar no final da alimentação:
alimentos duros e/ou de sabor agradável