

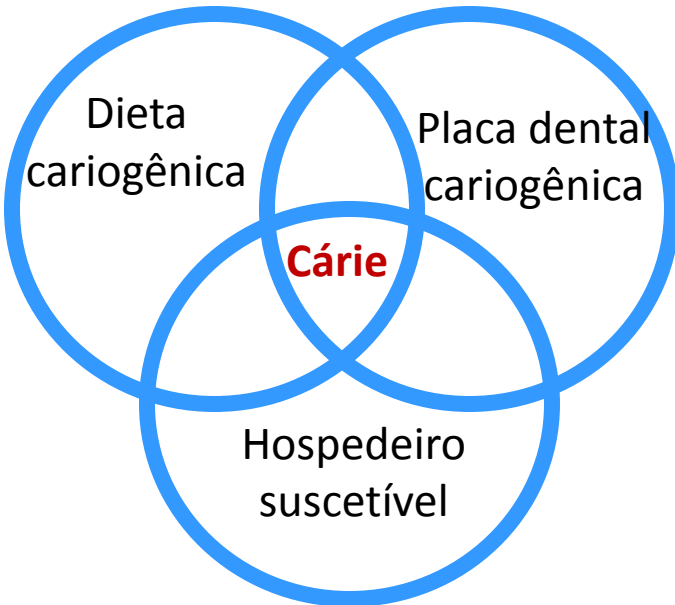
Microbiota associada à cárie dental



Bratthal - www.mah.se

Profa. Maria Regina Simionato - 2019

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

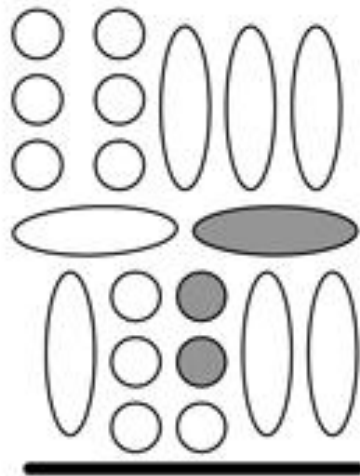
PLACA DENTAL CARIOGÊNICA

PLACA DENTAL CARIOGÊNICA

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

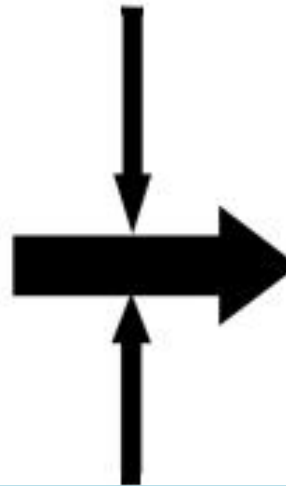


Ingestão frequente
de carboidratos
(sacarose)

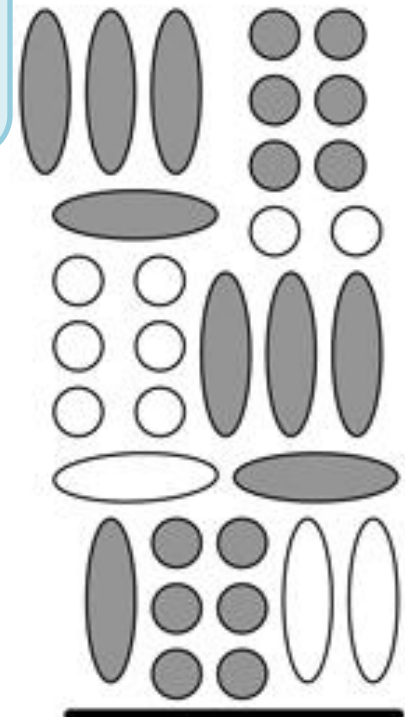


Placa associada à saúde

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

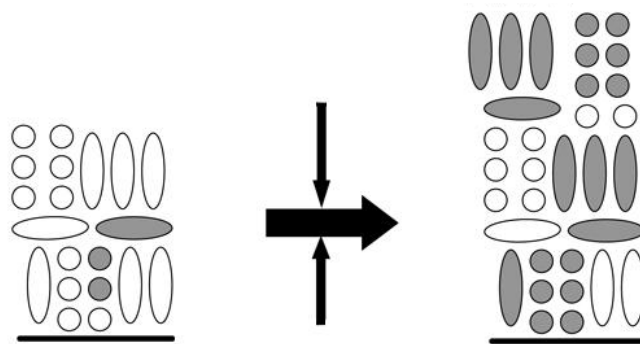
+

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

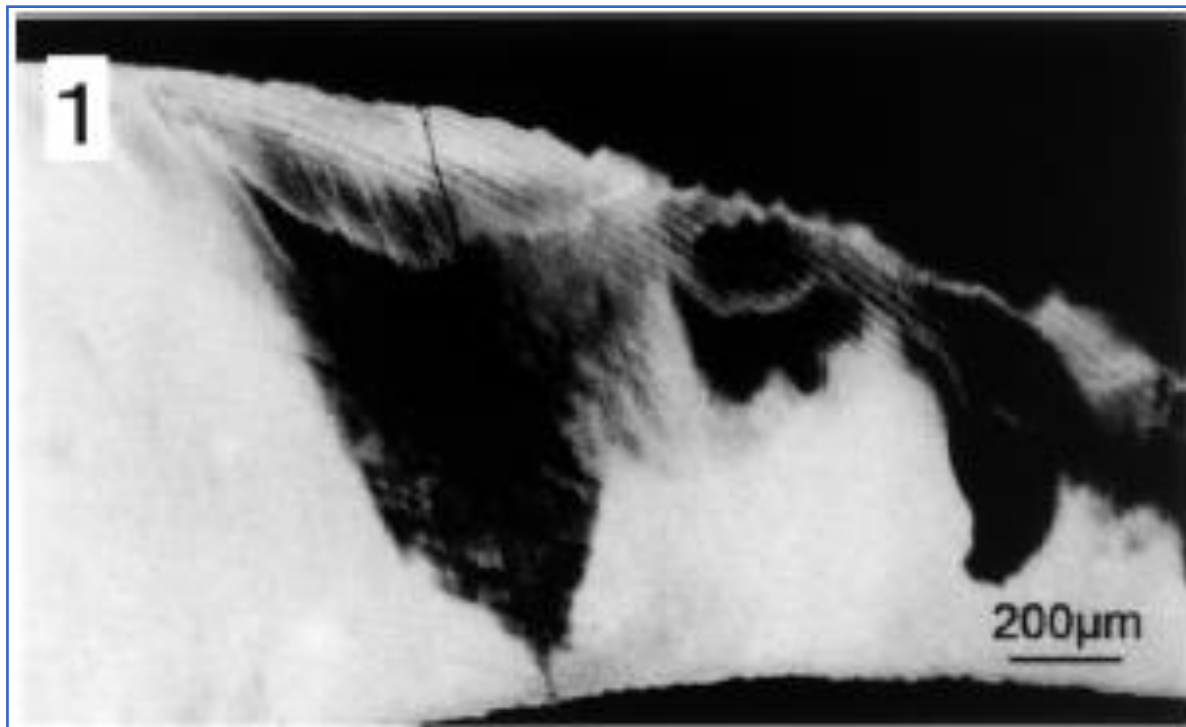
Acidogenicidade de bactérias associadas à cárie dental

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

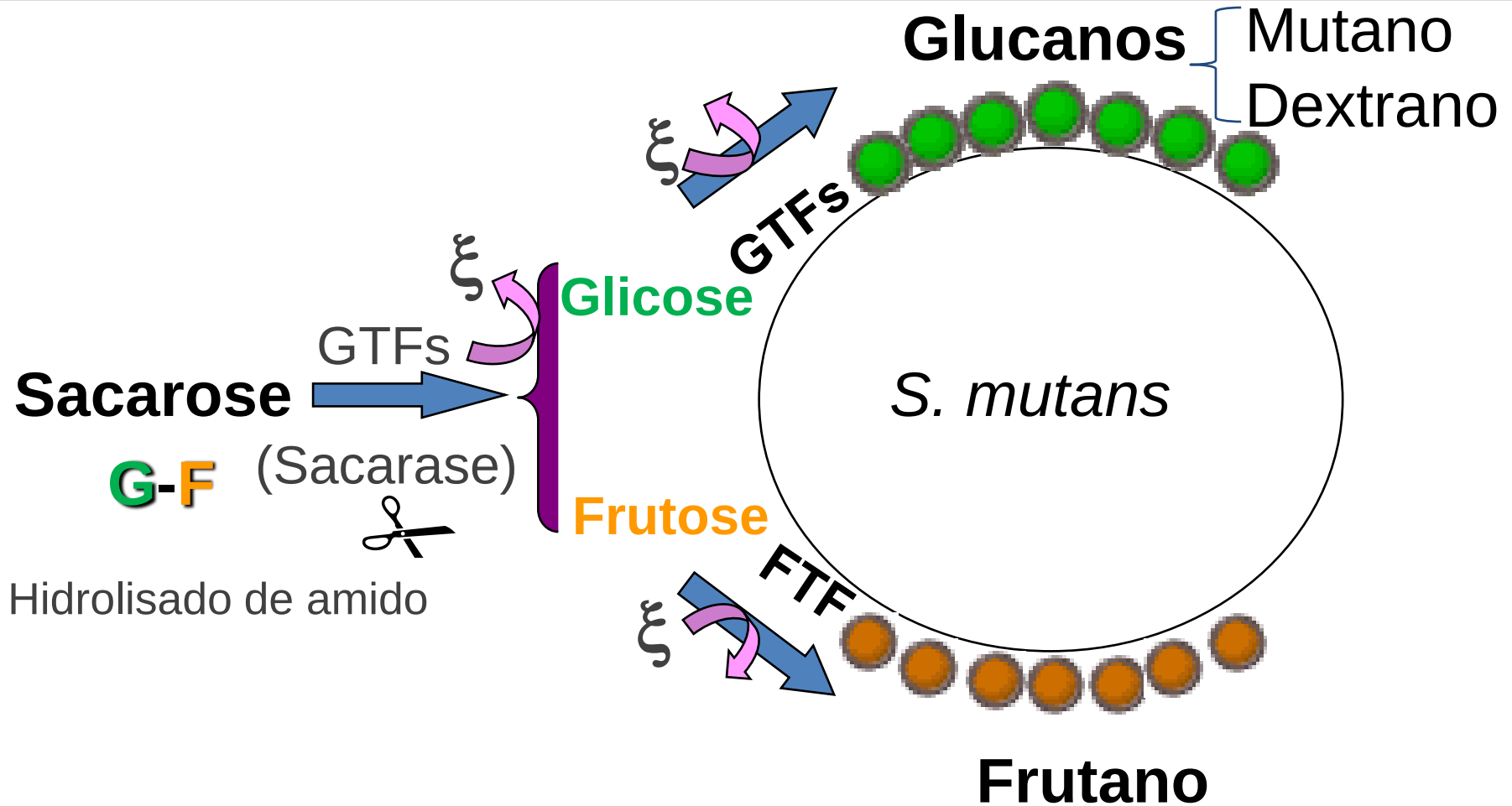
② Matriz polissacarídica

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)

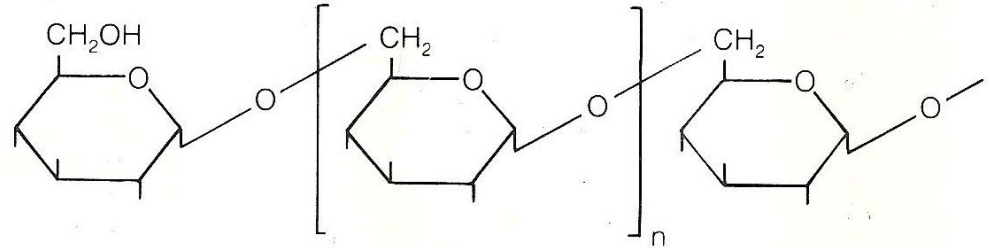
FTF = Frutosiltransferase

Características dos glucanos

Dextrano

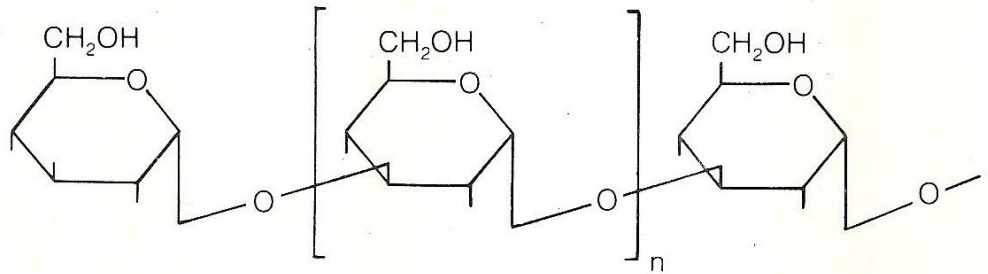
Glucano solúvel

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 (dextranso) (ligações α-1,6)

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

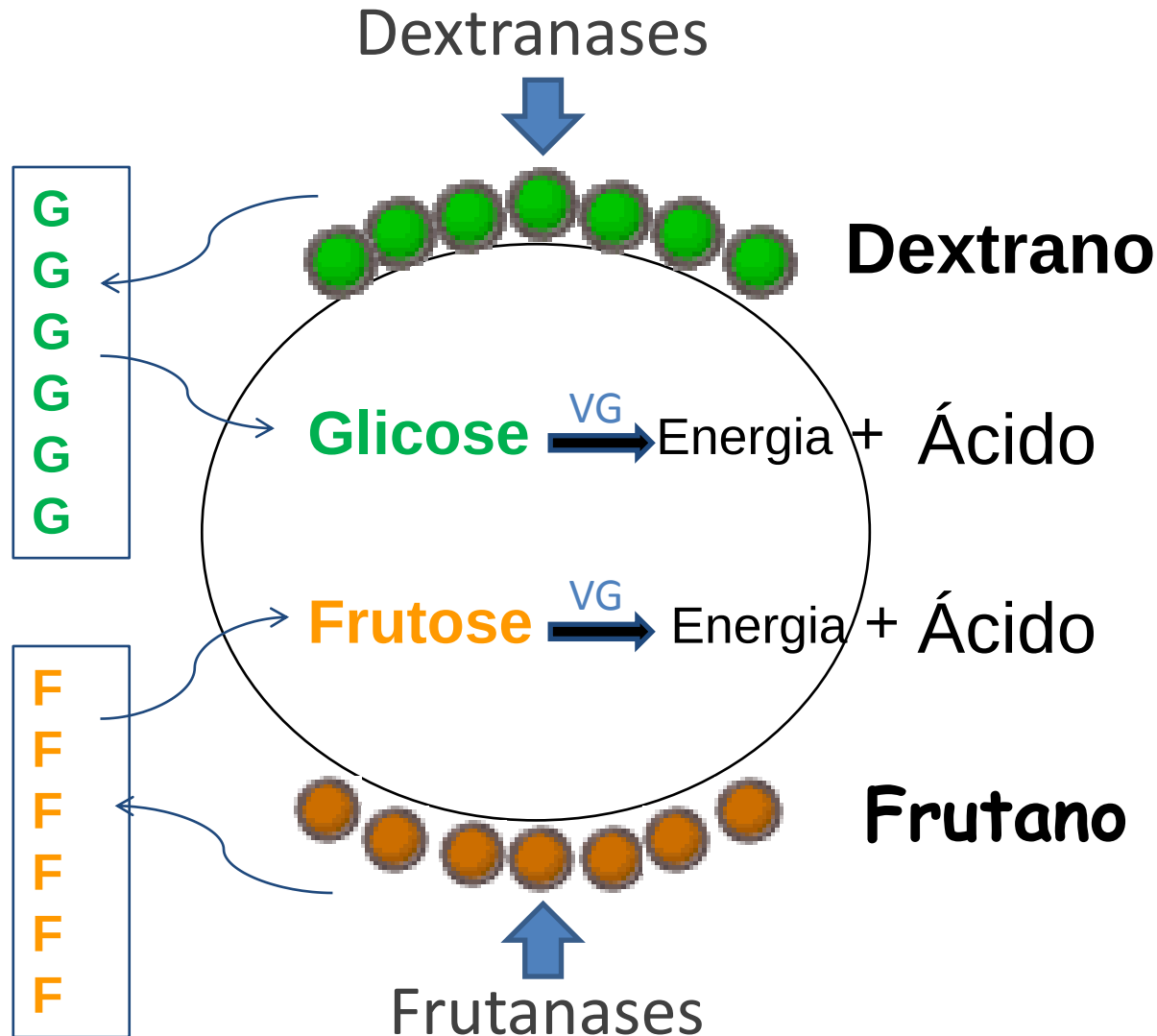
- Podem ser convertidos em ácidos nos períodos entre refeições

(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)

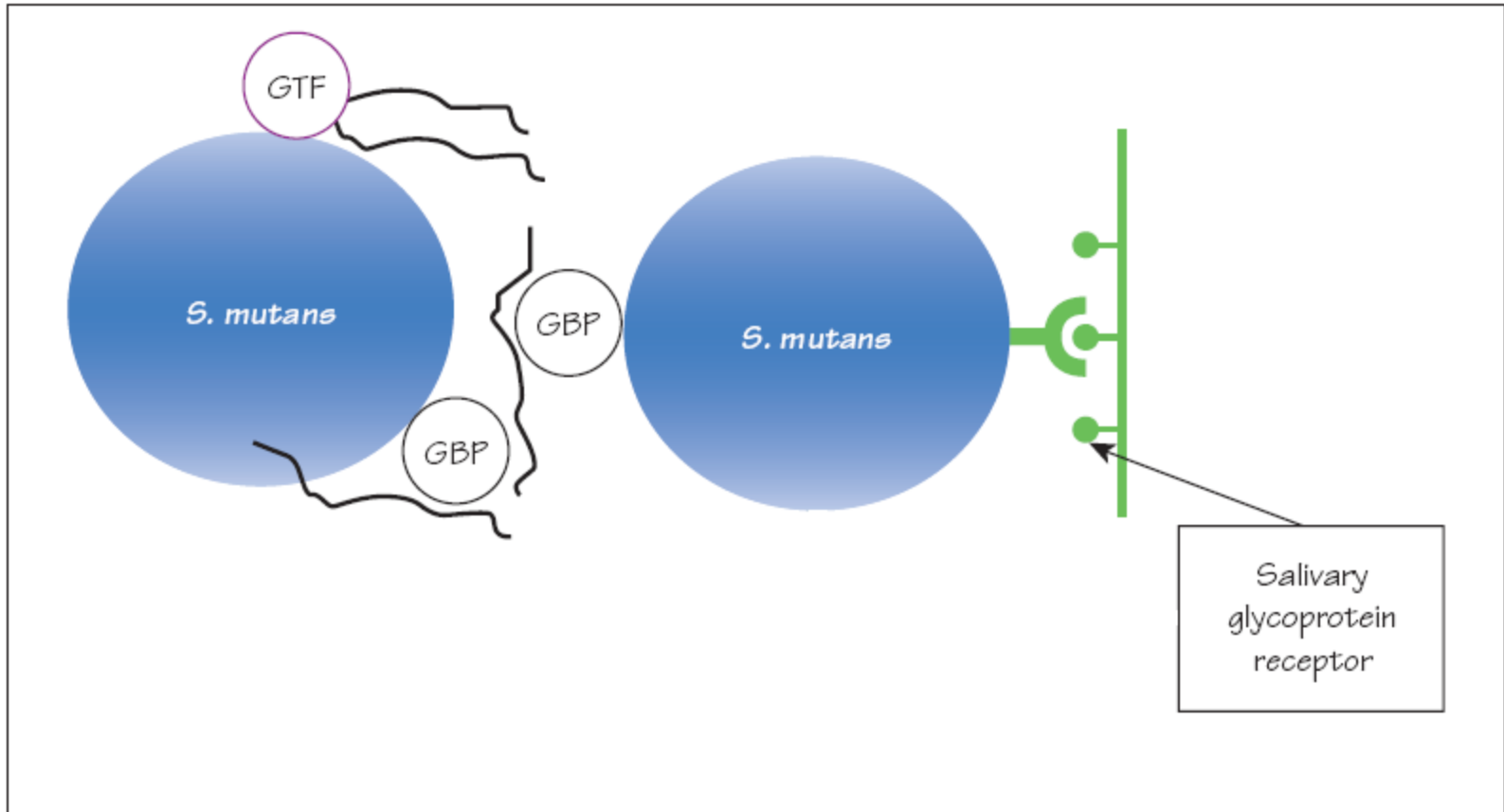
- ❶ Enzimas extracelulares
- ❷ Apresentam afinidade de ligação
 - superfície de *S. mutans*** ou outras bactérias
 - película adquirida
 - glucano
- ❸ Produzem glucanos *in situ*

② Mecanismos sacarose dependentes

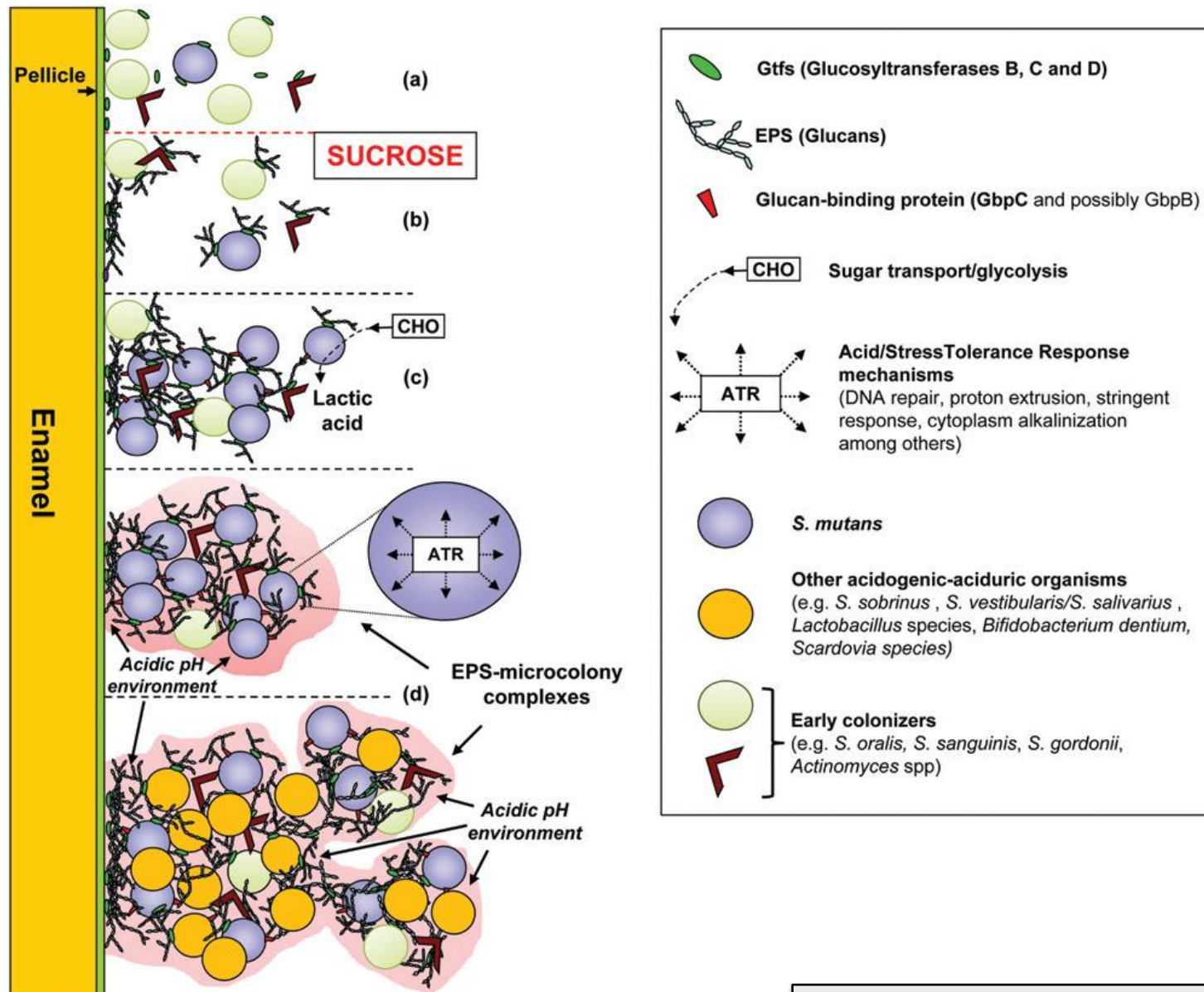
Glucan Binding Proteins (GbpA, GbpB, GbpC e GbpD) (proteínas sem atividade enzimática)

- 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

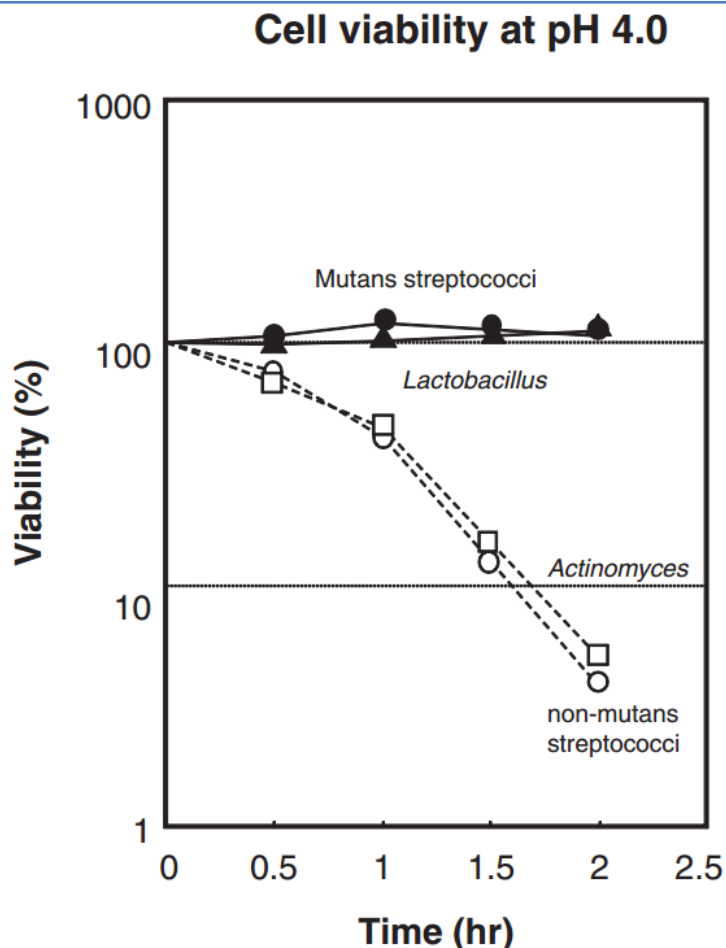
② Matriz polissacarídica

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*)
 - da 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)

⑤ Desmineralização do Esmalte ➡ CAVITAÇÃO



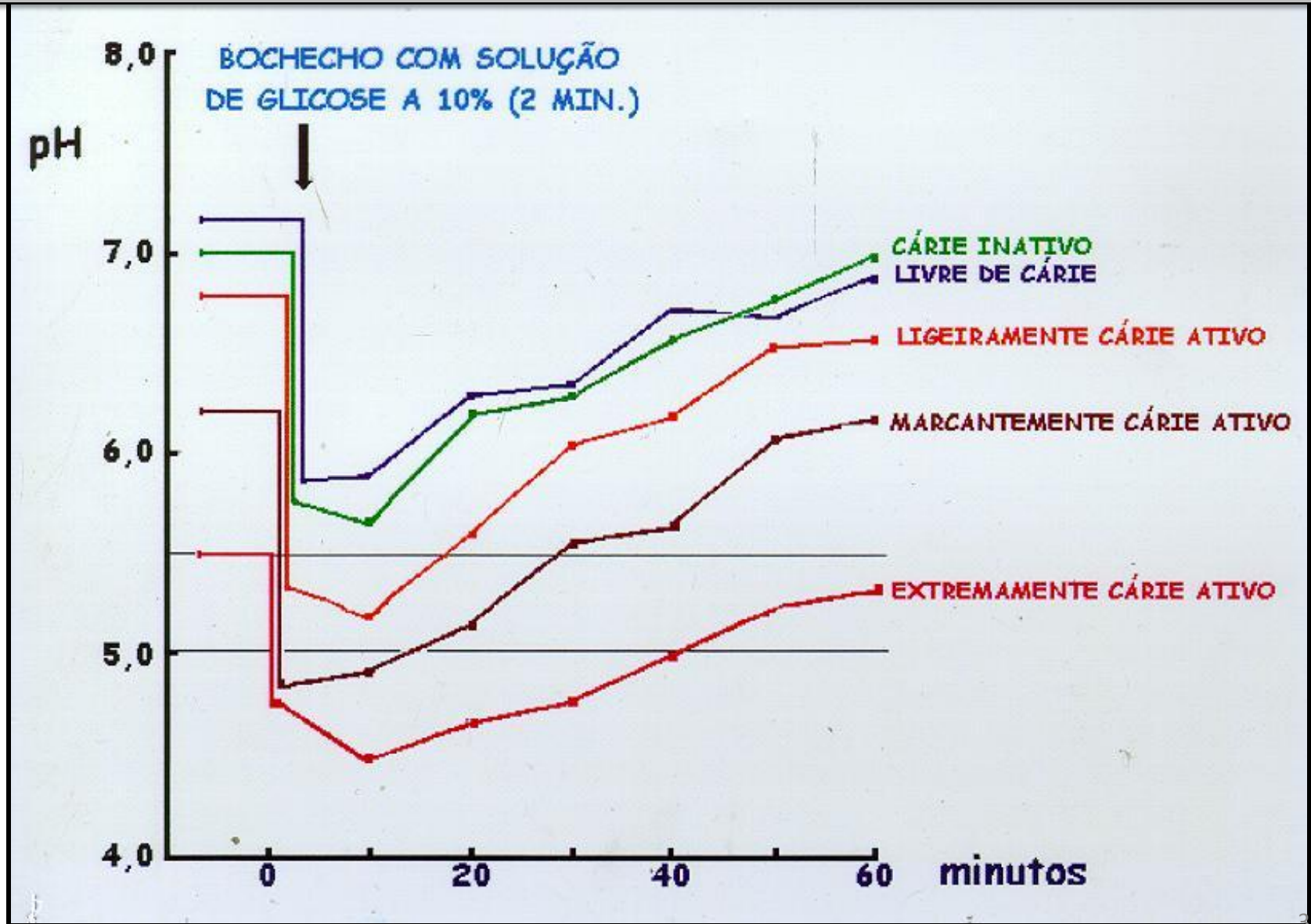
SUSCETIBILIDADE DO HOSPEDEIRO

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

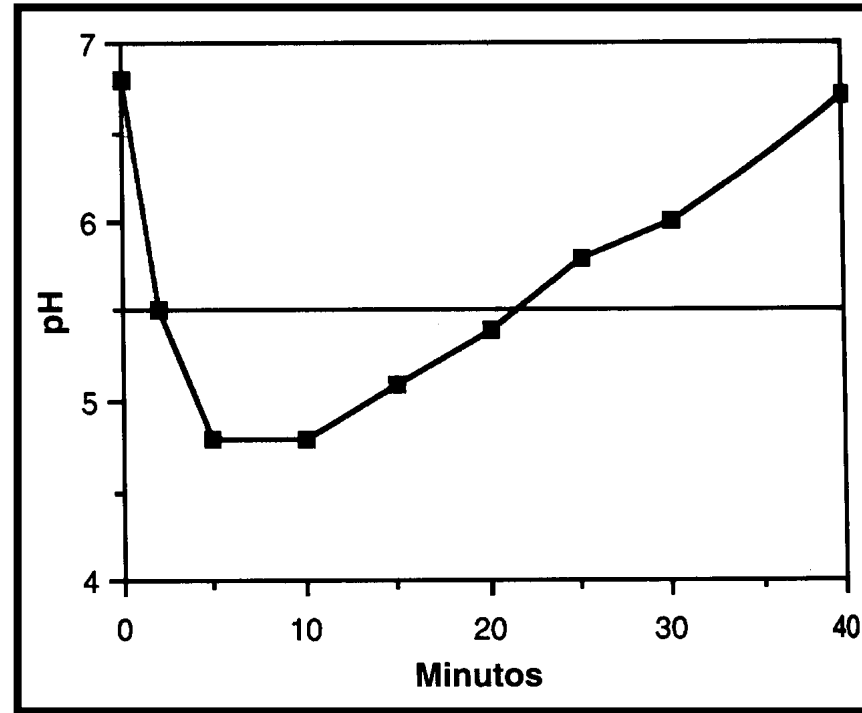


pH da placa dental após bochecho de glicose a 10%

Queda rápida de pH



Produção rápida e intensa de ácidos



Recuperação do pH



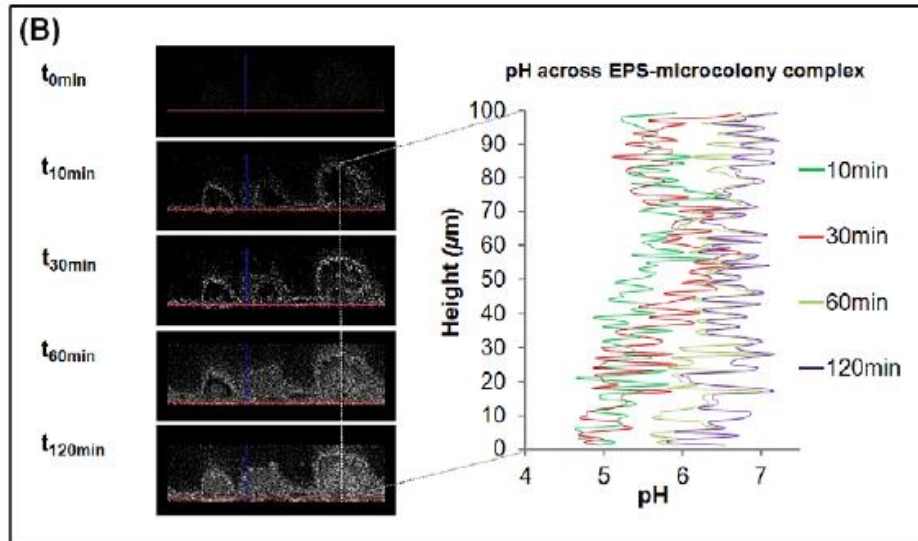
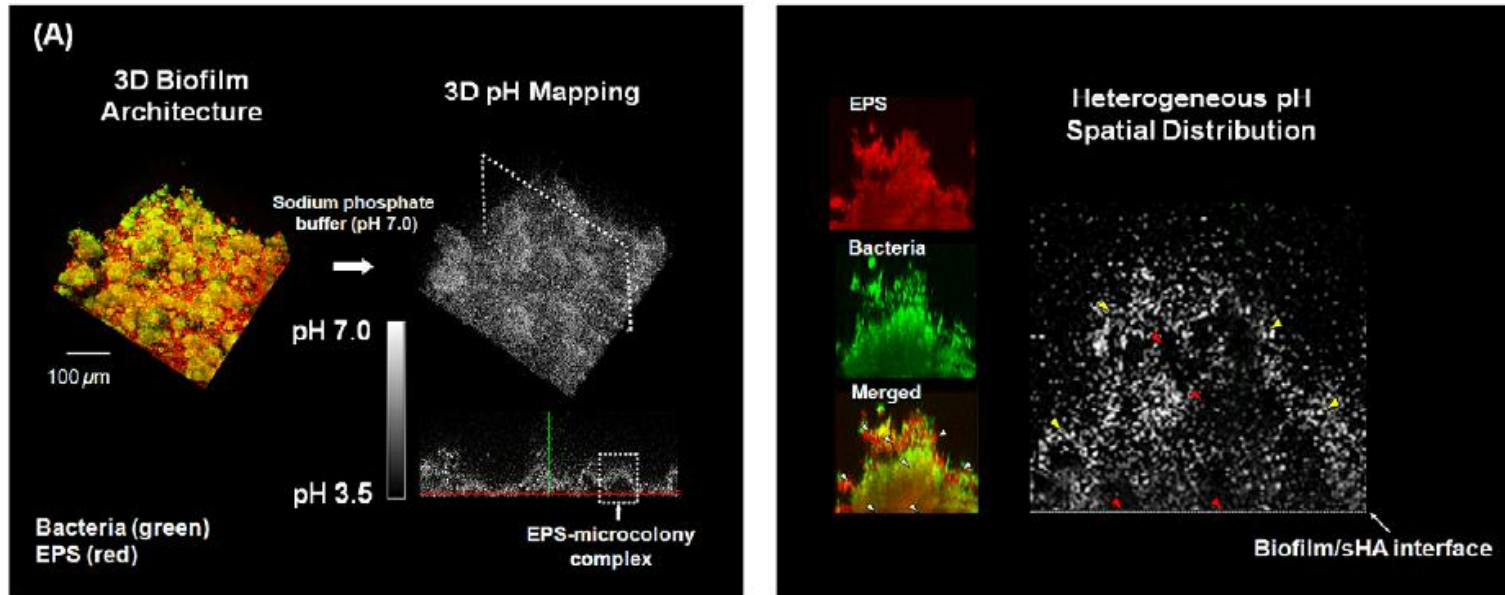
Remineralização

Permanência abaixo do pH crítico

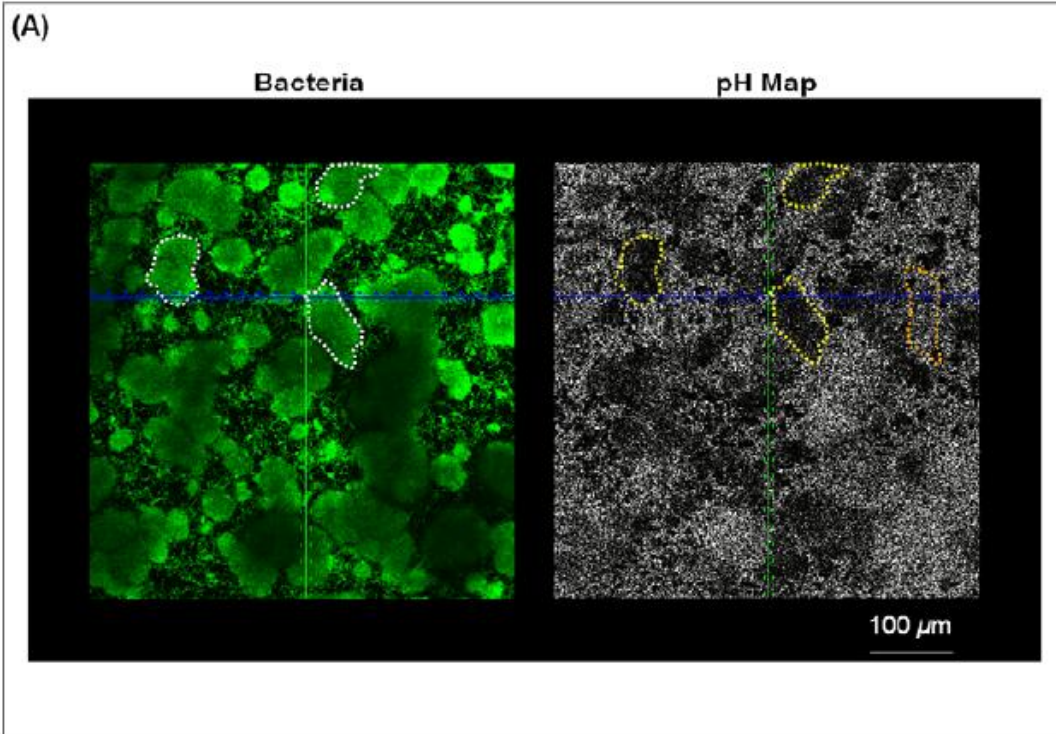


Seleção de acidúricos
Desmineralização

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*

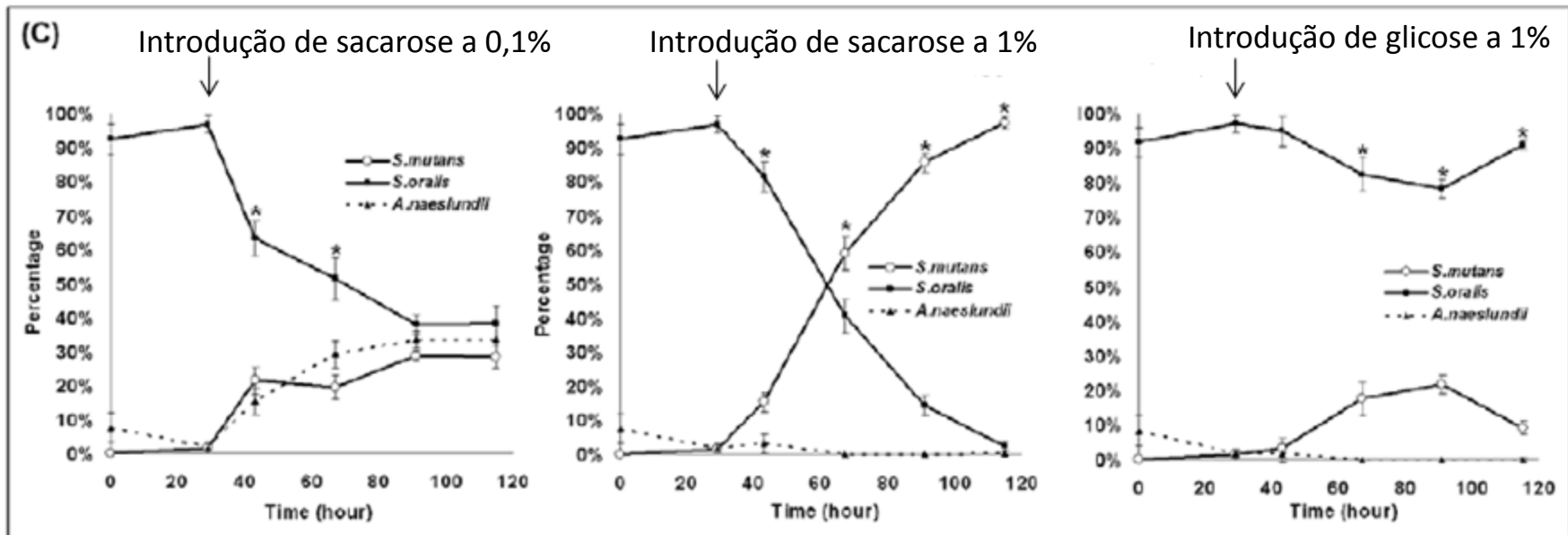
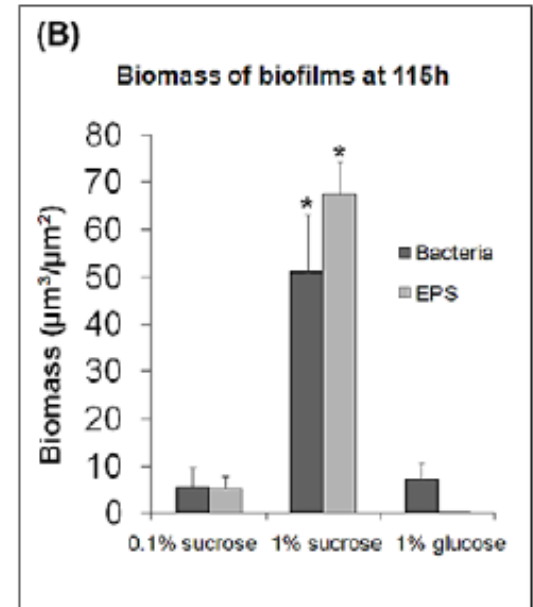
Amido

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

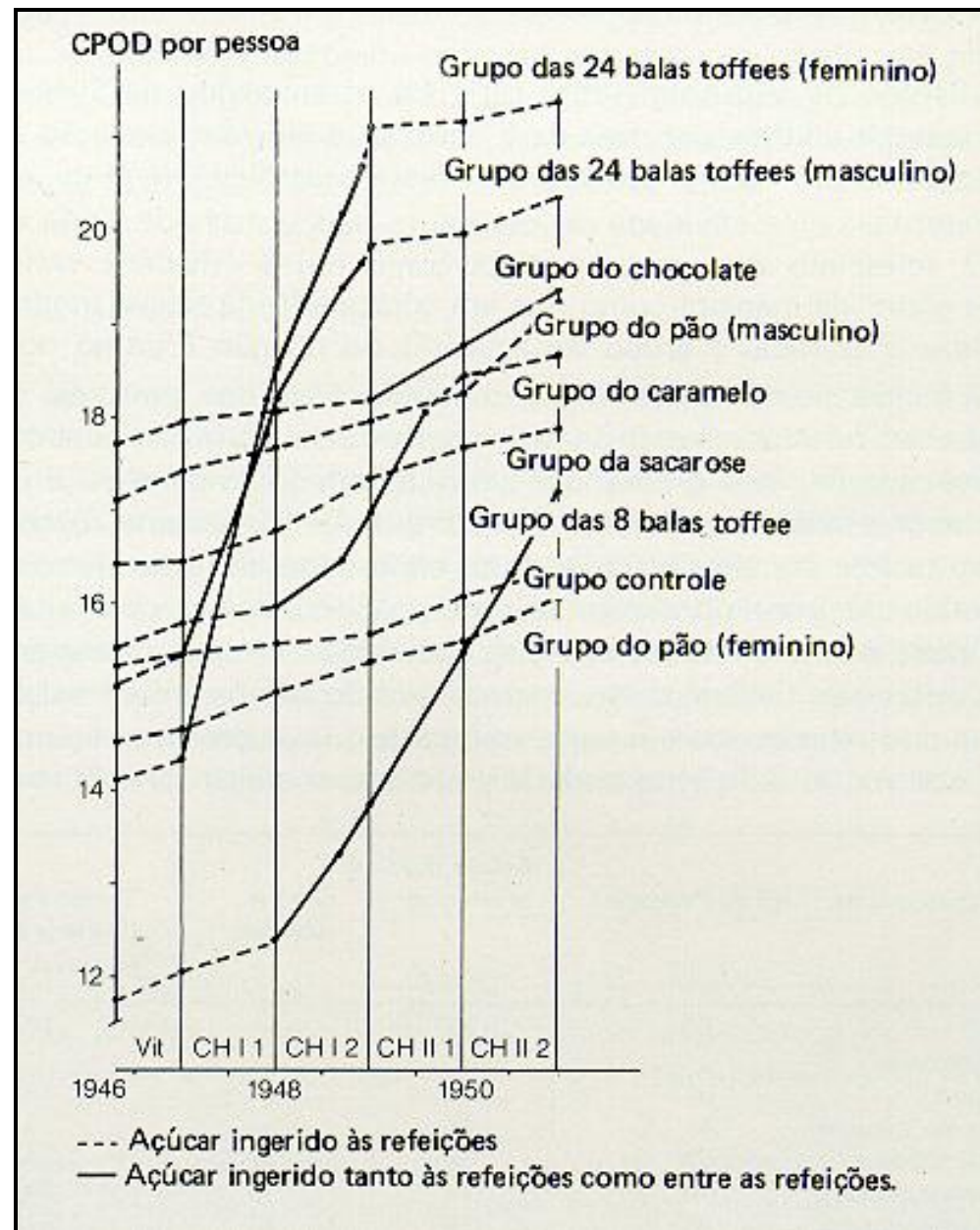
Dentes de crânios antigos exibem cáries cervicais e oclusais, mas são raras as cáries nas superfícies lisas do esmalte.

★ 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**

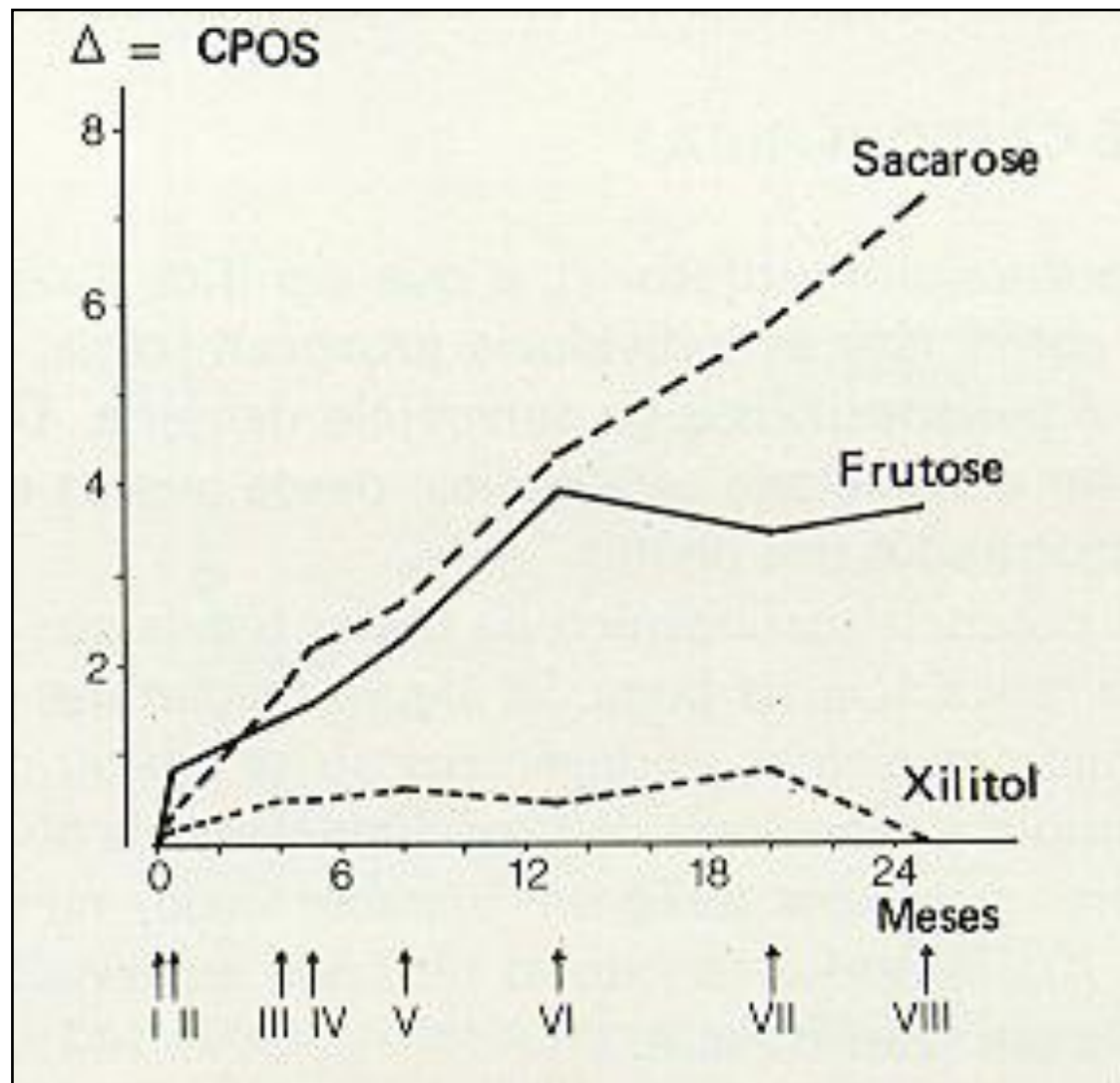
 **Concentração de carboidratos**

 **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

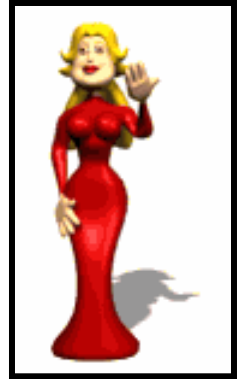
19:30 h – Jantar

21:30 h – Doce

22:30 h -Biscoito

23:00 h - Chocolate

DIETA 2



8:30 h – Café da manhã

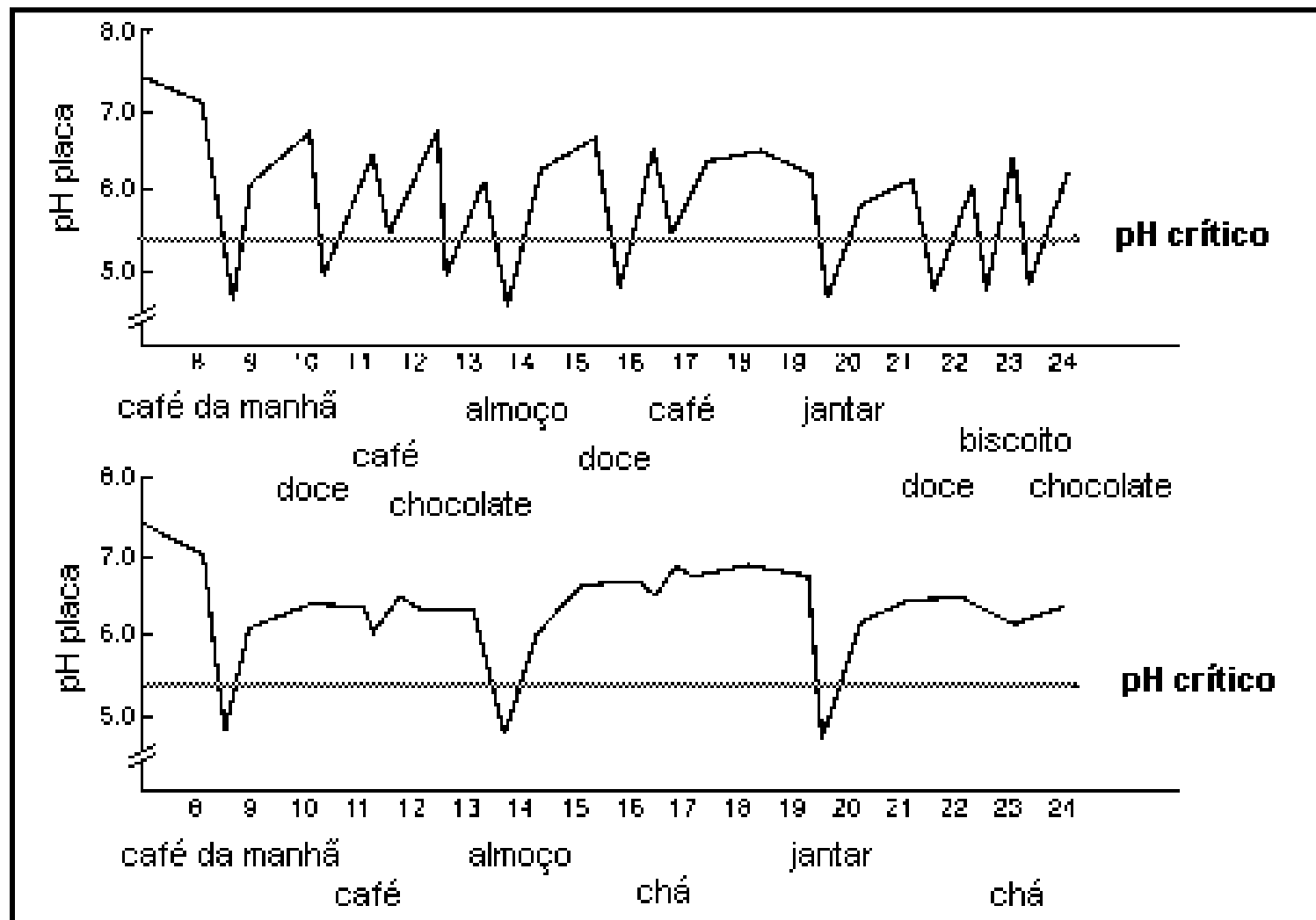
11:00 h – Fruta

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