



Transmissibilidade de patógenos orais

Profa. Marcia Mayer

COLETA DO MATERIAL

Assepsia



Conteúdo de canal radicular

Dentina cariada

Biofilme supra e subgingival

saliva

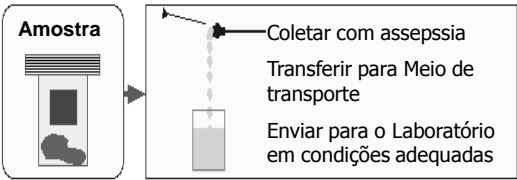
mucosa



Métodos Microbiológicos

- Dependentes de cultura
- Independentes de cultura

Coleta da amostra




Amostra

Coletar com assepsia

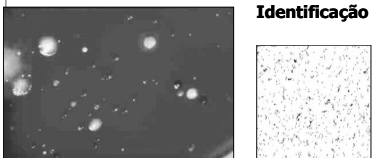
Transferir para Meio de transporte

Enviar para o Laboratório em condições adequadas



Método dependentes de cultura


Identificação



Padrão microscópico


Padrão macroscópico

Obtenção de cultura pura



provas bioquímicas, imunológicas ou moleculares

Meios líquidos ou sólidos



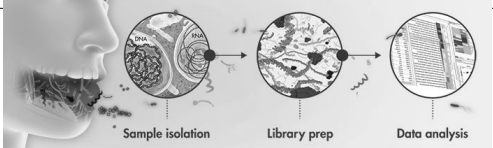
Métodos Moleculares Universais Abrangentes para determinação da Microbiota e suas características

1. Métodos baseados em DNA

Tem a capacidade de analisar toda a microbiota, independente do conhecimento prévio da sua identidade

- Amplificação e Sequenciamento do gene *16S rRNA* (específico para os domínios Bacteria e Archae – Microbioma)
- Sequenciamento de todo DNA da amostra –Metagenoma


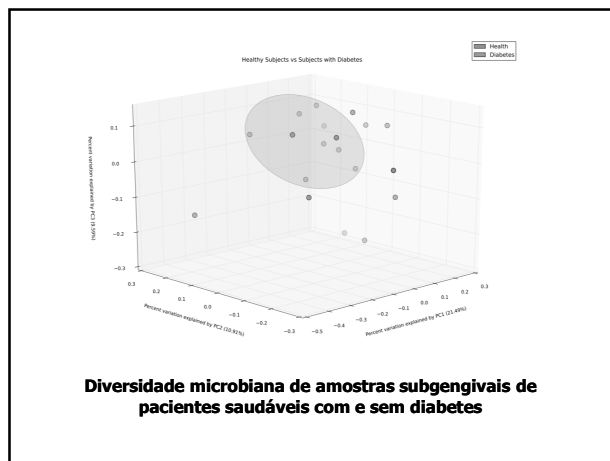
Comparação com banco de dados: permite análise de espécies pelo *16S rRNA* (Microbioma), de vias metabólicas (Metaboloma), de genes de resistência (Resistoma), de genes de virulência, etc.



Sample isolation

Library prep

Data analysis

Métodos de Tipagem Bacteriana

- Permitem determinar a identidade do isolado (fingerprinting).

Usados para rastreamento epidemiológico

- origem da amostra
- determinação da filogenia



ICB/USP

Métodos de Tipagem Bacteriana

Métodos fenotípicos

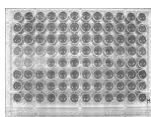
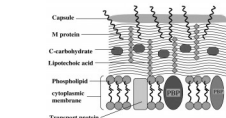
- **Biotipagem** – baseado no comportamento bioquímico
- **Serotipagem** – baseado no reconhecimento de antígenos microbianos por anticorpos
- **Perfil de proteínas**
- **Métodos genotípicos**
 - PCR com primers arbitrários (AP PCR)
 - MLST – sequência de genes de manutenção
 - Sequenciamento do genoma

ICB/USP

Serotipagem

- padrões de reconhecimento por anticorpos dos antígenos presentes na parede celular

Streptococcal cell wall structure



ICB/USP

Perfil de Proteínas

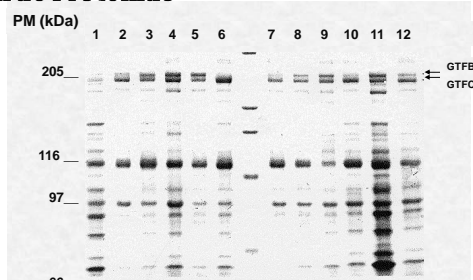
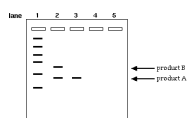
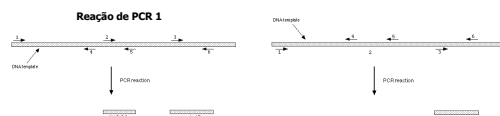


Figura 3 - Padrão eletroforético das proteínas secretadas por cepas de *S. mutans* isoladas de crianças com alta (2-6) e baixa (7-12) incidência de cárie. 1 corresponde à cepa controle *S. mutans* S332.

ICB/USP

PCR com primers arbitrários

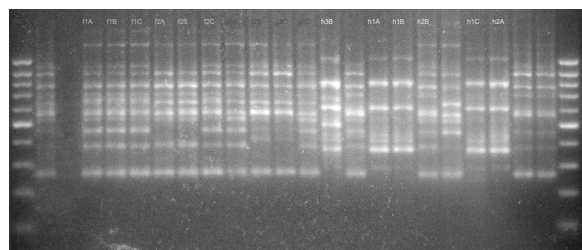


lane 1: molecular weight markers
lane 2: RAPD Pco #1
lane 3: RAPD Pco #2

ICB/USP

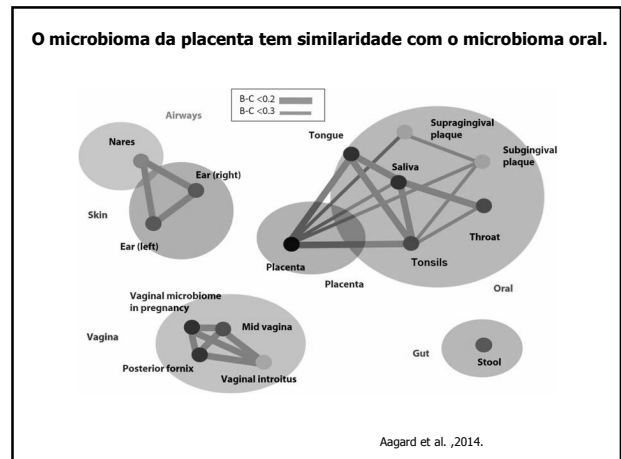
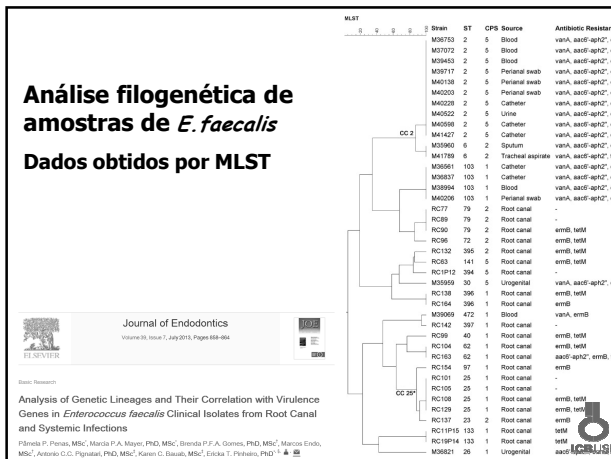
PCR com primers arbitrários

RAPD-PCR



Photograph of 2% agarose gel, stained with ethidium bromide, using TAE buffer, were amplicons from RAPD-PCR were separated, representing different genotypes found in the same subject (same colors), on (A), (B) and (C) collets, to the other 4 subjects. CN (negative control); CP (positive control ATCC 25175).

ICB/USP



Desenvolvimento da microbiota residente é dependente de:

- Forma de nascimento- parto natural X cesárea
- Exposição a antibióticos
- Prematuridade,
- Amamentação,
- Dieta –alimentos sólidos, açúcar
- Hospitalização
- Ambiente/higiene.

O risco de infecção é dependente de

1. Fatores inerentes ao microrganismo: sobrevivência no ambiente, modo de transmissão, fatores de colonização
2. Fonte da infecção
3. Frequência de contato entre o indivíduo infectado e o indivíduo suscetível. Número de micro-organismos liberados - Dose
4. Suscetibilidade do hospedeiro: idade, composição da microbiota residente, imunidade.

- **Sobrevivência no ambiente**

S. mutans, *A.actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis*, *T. forsythia* e *T. denticola* não sobrevivem ao stress ambiental (tensão de oxigênio, dessecação)

A transmissão deve ser por contato direto, via saliva. via saliva.

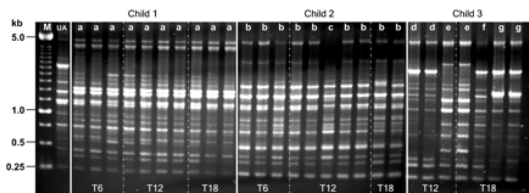
O risco de infecção é dependente de

1. Fatores inerentes ao micro-organismo: sobrevivência no ambiente, modo de transmissão, fatores de colonização
2. Fonte da infecção
3. Frequência de contato entre o indivíduo infectado e o indivíduo suscetível. Número de micro-organismos liberados - Dose
4. Suscetibilidade do hospedeiro: idade, composição da microbiota residente, imunidade.

Fontes de infecção de *S.mutans*

- Transmissão vertical
- mães - 50 a 70% das cepas coincidentes entre mãe e filhos
- pais e irmãos
- babás
- Transmissão horizontal
- Coleguinhas – crianças em creches (Alves et al., 2009)

Fonte de infecção

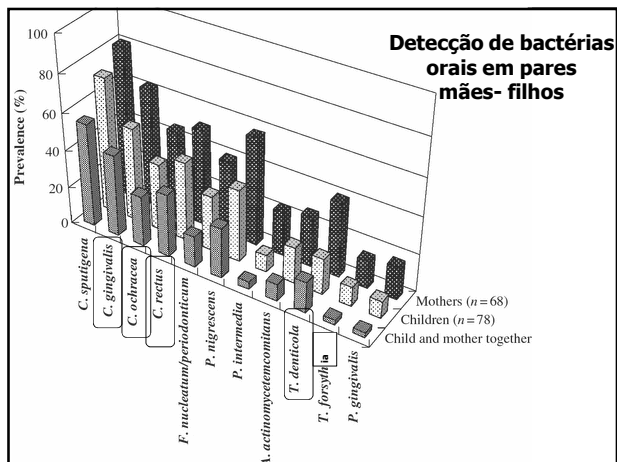


Similaridade entre diferentes amostras de *S. mutans* de crianças que frequentavam a mesma creche.

192 crianças com idade entre 6-36 meses
Saipan, Ilhas Marianas

	espécie na babá	Odds ratio		educação da mãe > 12 anos
		Idade da criança 12-24 meses	24-36 meses	
<i>S. mutans</i>	13,19*	1,45	2,79	0,68
<i>S. sobrinus</i>	22,03*	0,99	0,90	1,57

Tanner et al. Oral Microbiology and Immunology 17 (6):379, 2002



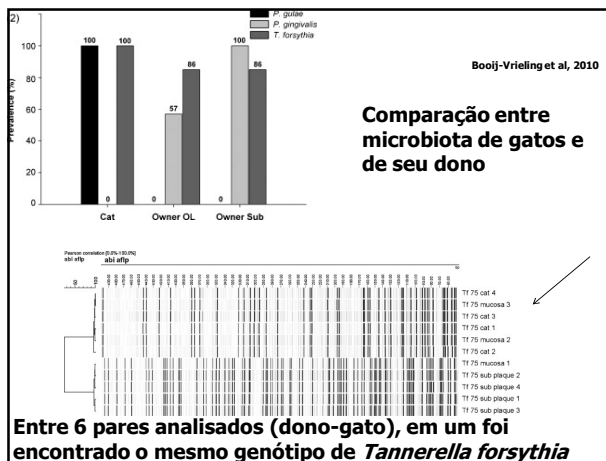
Detecção do mesmo clone de

A. actinomycetemcomitans
dentro da família
(11X entre 11 famílias)

- Transmissão vertical
- entre pais e filhos
- entre irmãos
- < entre conjugês

Doğan et al., 2008

V. Proband	Female	22	LAgP	c/11
Father		45	GCP	c/14
Mother		48	GCP	-
Brother 1		28	NP	-
Brother 2		21	LAgP	-
VI. Proband	Female	25	GAgP	b/16
Father		58	ED	-
Mother		53	ED	-
Sister 1		31	GAgP	b/16
Sister 2		23	LAgP	b/12
Brother		30	GAgP	c/11
VII. Proband	Male	30	GAgP	c/11
Father		64	GCP	-
Mother		58	GCP	f/19
Sister 1		33	NP	-
Sister 2		25	LAgP	f/19
VIII. Proband	Female	25	GAgP	c/11
Spouse	Male	29	NP	-
Child 1	Female	4	NP	b/16
Child 2	Male	5	NP	b/16
IX. Proband	Female	26	GAgP	c/3
Spouse	Male	31	NP	c/3



Entre 6 pares analisados (dono-gato), em um foi encontrado o mesmo genótipo de *Tannerella forsythia*

Transmissão de *A. actinomycetemcomitans*

- Um clone de *A. actinomycetemcomitans* encontrado em 2 crianças com periodontite agressiva e no cachorro da família
- O mesmo clone foi encontrado em uma criança de outra família/cidade dona de um cachorro da mesma ninhada
- A transmissão de *A. actinomycetemcomitans* a partir de cachorros não foi demonstrada em estudos subsequentes.

Preus & Olsen, 1988

É possível que patógenos periodontais como *Tannerella forsythia* e *A. actinomycetemcomitans* sejam transmitidos de animais domésticos para o homem.

"...muitos donos de animais permitem que os animais comam nos seus pratos, lambam suas faces e durmam nos seus travesseiros."

Fonte de infecção

- **Transmissão adulto-criança (vertical)**
 - *S. mutans*
 - *A. actinomycetemcomitans*

} pares pais/filhos
>50%
- **Transmissão criança-criança (horizontal)**
 - *S. mutans*
 - *A. actinomycetemcomitans*
- **Transmissão entre adultos (conjugês) (horizontal)**
 - *P. gingivalis* (33% de clones idênticos)
 - *A. actinomycetemcomitans* (<10% clones idênticos)

Li e Caufield, 1995, Dogan et al., 2008, Saarela et al., 1993

O risco de infecção é dependente de

- Fatores inerentes ao micro-organismo: sobrevivência no ambiente, modo de transmissão, fatores de colonização
- Fonte da infecção
- 3. **Frequência de contato entre o indivíduo infectado e o indivíduo suscetível. Número de micro-organismos liberados - Dose**
- Suscetibilidade do hospedeiro: idade, composição da microbiota residente, imunidade.

nível salivar de SM na mãe	possibilidade da criança estar colonizada por SM aos 3 anos
$< 3 \times 10^5$ UFC/ml	20%
$\leq 10^6$ UFC/ml	70%

Köhler et al, 1988

S. mutans

Cepas coincidentes de *S. mutans* entre mãe /filho – 8/11

Destas 8 mães, sete apresentavam níveis $>10^6$ UFC SM/ml de saliva (Alves et al., 2009)

**Quanto maior o nível salivar de SM na mãe,
Maior o risco de infecção precoce por SM**

**Quanto mais precoce a infecção por SM
Maior o risco do estabelecimento de
altos níveis salivares de SM**

O alto nível de SM se mantém por toda a vida

SM=Estreptococos do grupo mutans (no homem -
S. mutans e *S. sobrinus*, principalmente).

SORT: KEY RECOMMENDATIONS FOR PRACTICE

Clinical recommendation	Evidence rating	References	Comments
Periodontitis may be associated with preterm birth and low birth weight.	B	19	Recommendation from nine case-control studies, two cross-sectional studies, seven cohort studies, two RCTs, and two meta-analyses
Preliminary evidence suggests that deep root scaling in pregnant women with periodontitis may help prevent preterm birth and low birth weight.	B	20-22	Consistent findings in two small RCTs ^{21,22} ; one RCT found no relationship ²⁰
Use of oral topical antibacterial treatment of dental caries in mothers in late pregnancy and/or the postpartum period can lower maternal oral bacterial load and reduce transmission of bacteria to infants.	B	26,27	Consistent findings for xylitol and chlorhexidine (Peridex) in two small RCTs

RCT = randomized controlled trial.

A = consistent, good quality patient-oriented evidence; B = inconsistent or limited quality patient-oriented evidence; C = consensus, disease-oriented evidence, usual practice, expert opinion, or case series. For information about the SORT evidence rating system, see page 1063 or <http://www.aafp.org/afpsort.xml>.

SILK et al. 2008

Prevenção da colonização por SM na criança intervenção na mãe

- aplicação tópica periódica de gel de clorexidina a 1% (Köhler et al, 1988)
- uso de chicletes de xilitol a partir dos 3 meses de vida da criança (Soderling e tal, 2001)
- SM é usado como bactéria indicadora, pois estes agentes tem amplo espectro de ação.

Embora não tenham sido determinadas as doses ou o número de exposições necessárias para o estabelecimento da infecção por diferentes patógenos orais, assume-se que doses maiores e/ou mais frequentes sejam mais efetivas para promover a colonização.

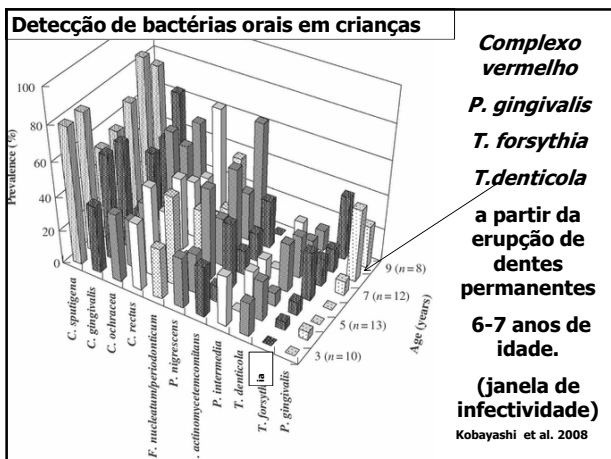
O risco de infecção é dependente de

- Fatores inerentes ao micro-organismo: sobrevivência no ambiente, modo de transmissão, fatores de colonização
 - Fonte da infecção
 - Frequência de contato entre o indivíduo infectado e o indivíduo suscetível. Número de micro-organismos liberados - Dose
- 4. Suscetibilidade do hospedeiro: idade, composição da microbiota residente, imunidade.**

Oral colonization by anaerobic bacteria during childhood
E. Kärönen

Table 1 **Estabelecimento de diferentes espécies bacterianas na cavidade oral**

Age:	0-2 months	2-6 months	6-12 months	1-4 years	4-7 years
Gram ⁻ :	<i>Veillonella</i> spp. <i>P. melaninogenica</i> group	<i>F. nucleatum</i> <i>P. catoniae</i> non-pigm. <i>Prevotella</i> spp. <i>Lepisorichia</i> spp.	corroding rods* <i>Capnocytophaga</i> spp.* other fusobacteria	<i>Selenomonas</i> spp. <i>F. nigrescens</i> <i>P. pallens</i>	<i>A. actinomycetemcomitans</i> *
Gram ⁺ :	<i>Actinomyces</i> spp.*			<i>Clostridium</i> spp. <i>Peptostreptococcus</i> spp.	
	<i>Streptococcus salivarius</i>		<i>Streptococcus sanguinis</i>		<i>Streptococcus mutans</i>

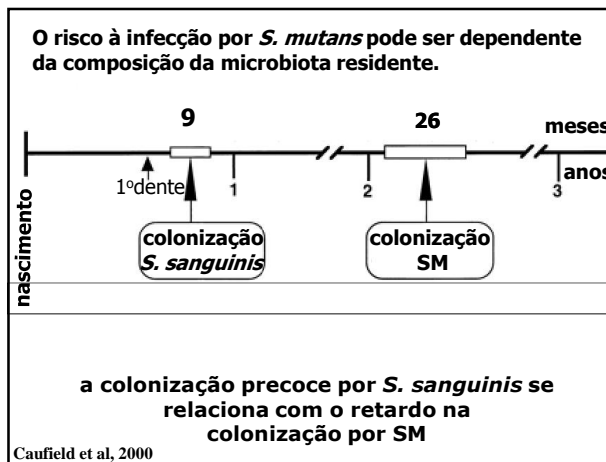
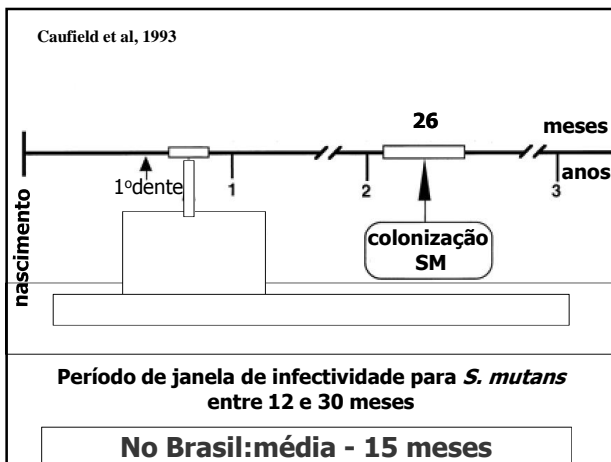


Aquisição inicial de estreptococos do grupo mutans

- Janela de Infectividade

Período em que o indivíduo está mais suscetível ao estabelecimento da infecção

Caufield J Dent Res 1993 Jan;72(1):37-45



O nível de colonização por *S. mutans* depende de:

- quantidade de microrganismos na mãe,
- frequência de inoculação,
 - cuidados diários pela mãe
 - hábitos de contato (experimentar comida com mesmo talher)
 - família numerosa(maior frequência de exposições)
- época de colonização (+precoce > nível)
- antibioticoterapia (redução da microbiota residente)
- Uso de sacarose ?

