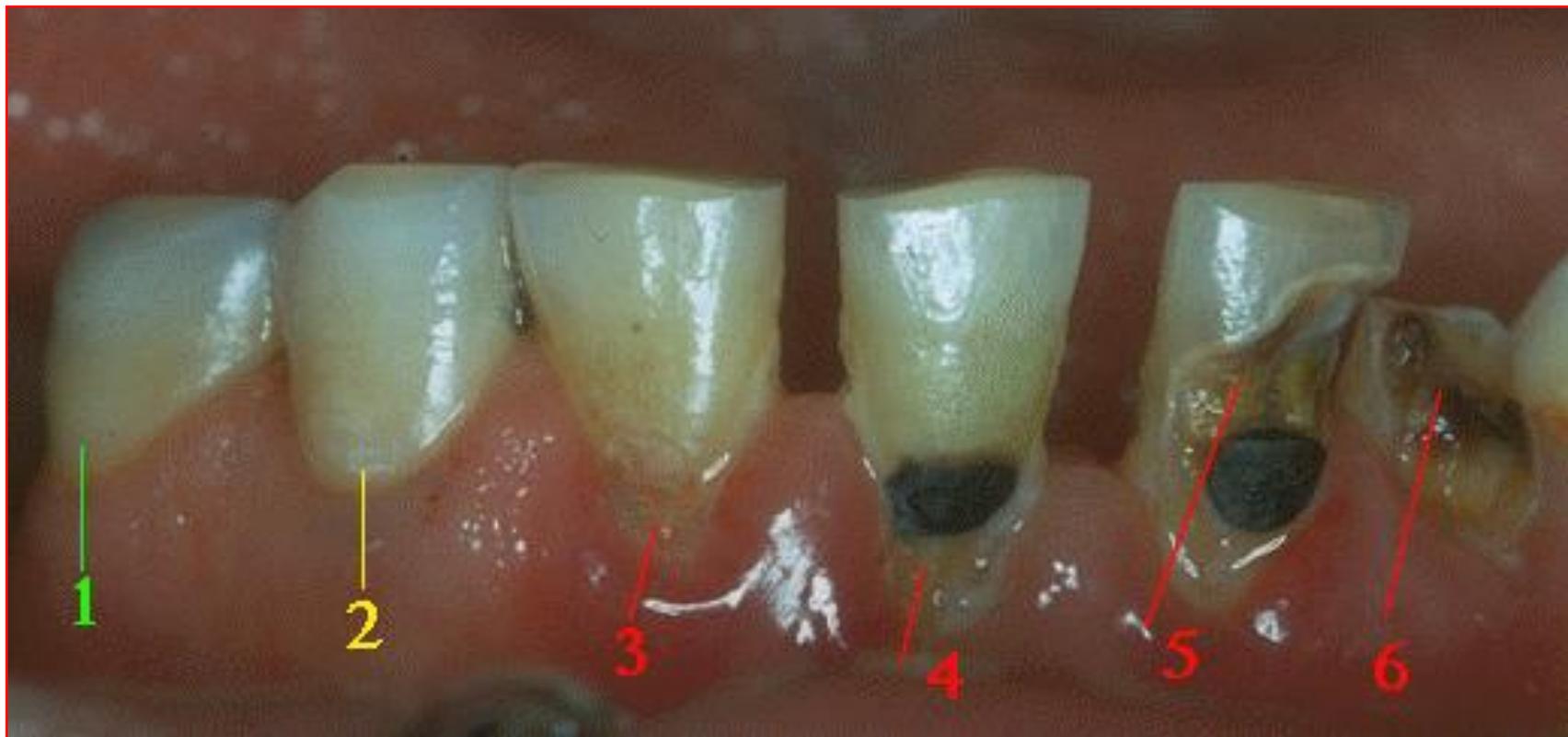
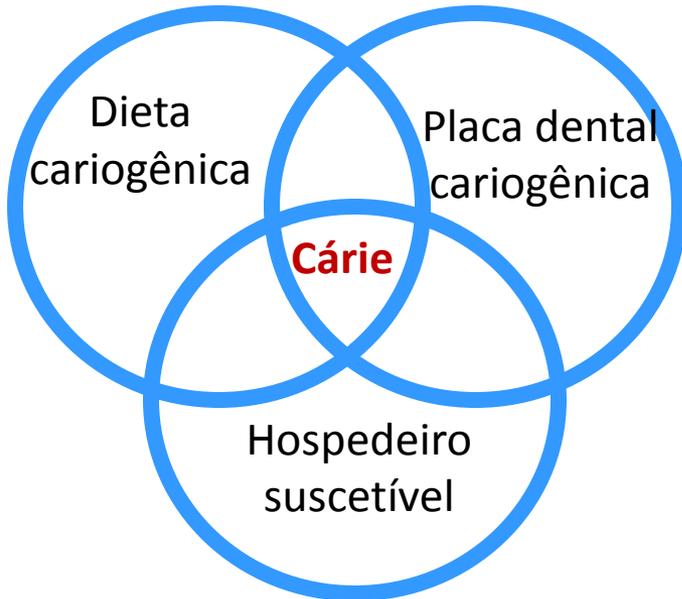


Microbiota associada à cárie dental



Douglas Bratthal – University of Malmö
In Lamont et al. Oral Microbiology and Immunology 2006

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

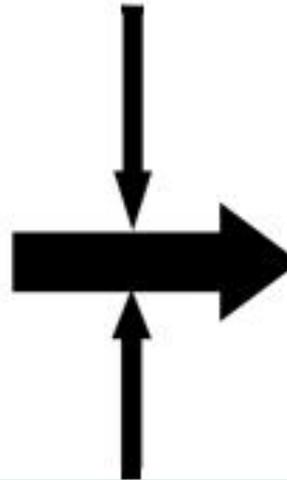
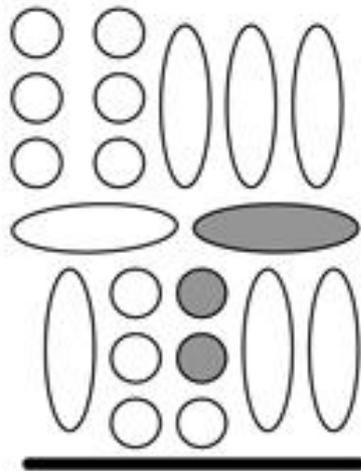
PLACA DENTAL CARIOGÊNICA

PLACA DENTAL CARIOGÊNICA

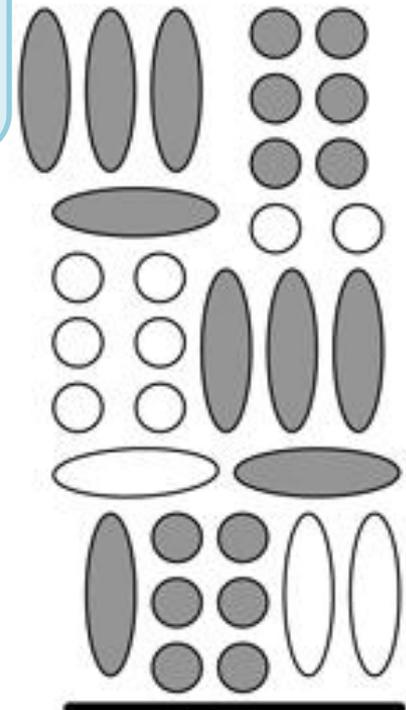
- + Supragengival
- + Composição e espessura ou localização suficientes para retardar a ação do tampão salivar



Ingestão frequente
de carboidratos
(sacarose)



Baixo pH na placa



Desequilíbrio!
Disbiose???

Placa cariogênica



Cárie dental

Placa associada à saúde

Equilíbrio com o
hospedeiro e entre os
membros da microbiota

Portanto...

Cárie dental ocorre como resultado de :

Dieta cariogênica (associada à sacarose)

+

Metabolismo (açúcares) de microbiota disbiótica da placa dental

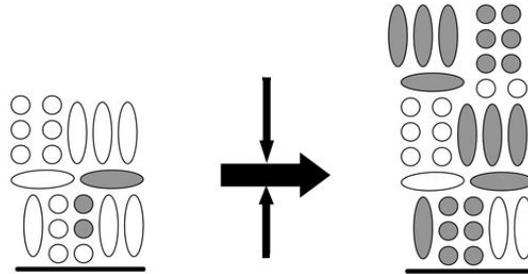
+

Hospedeiro susceptível

Portanto...

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

Microbiota na saúde e na cárie



Placa associada à saúde

Alta diversidade

Streptococcus sanguinis

S. oralis

S. mitis

S. gordonii

Actinomyces spp

Veillonella spp

Gemella spp

Granulicatella spp

Kingella spp

Lesão de cárie de esmalte

Disbiose: redução de diversidade

Microbiota acidogênica
fortemente associada à doença

S. mutans

S. sobrinus

Bifidobacterium

Lactobacillus

Scardovia wiggsiae

Atopobium

Prevotella

Corynebacterium

Propionibacterium

Placa dental cariogênica – 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 cariogênica – 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 cariogênica – fatores de virulência

① **Atividade acidogênica intensa**

A microbiota deve:

Produzir ácido orgânico forte (**ácido láctico**)

Grandes quantidades

Rapidamente

Placa dental cariogênica – fatores de virulência

① Atividade acidogênica intensa

Bactérias que possuem este fator de virulência:

Lactobacilos

Estreptococcus 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

Estreptococos 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</i> ... | 2 | 3.73 ± 0.03 | 3.73 ± 0.03 | 3.74 ± 0.03 | 3.88 ± 0.01 | 4.01 ± 0.01 | 4.03 ± 0.00 | |
| <i>Scardovia</i> ... | 2 | 3.73 ± 0.03 | 3.73 ± 0.03 | 3.74 ± 0.03 | 3.88 ± 0.01 | 4.01 ± 0.01 | 4.03 ± 0.00 | |
| <i>Scardovia</i> ... | 2 | 3.73 ± 0.03 | 3.73 ± 0.03 | 3.74 ± 0.03 | 3.88 ± 0.01 | 4.01 ± 0.01 | 4.03 ± 0.00 | |
| <i>Actinomyces</i> ... | 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> ... | 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 | |

Sacarose

- Metabolismo mais eficiente que outros açúcares livres
- Leva a pH mais baixo que glicose ou frutose

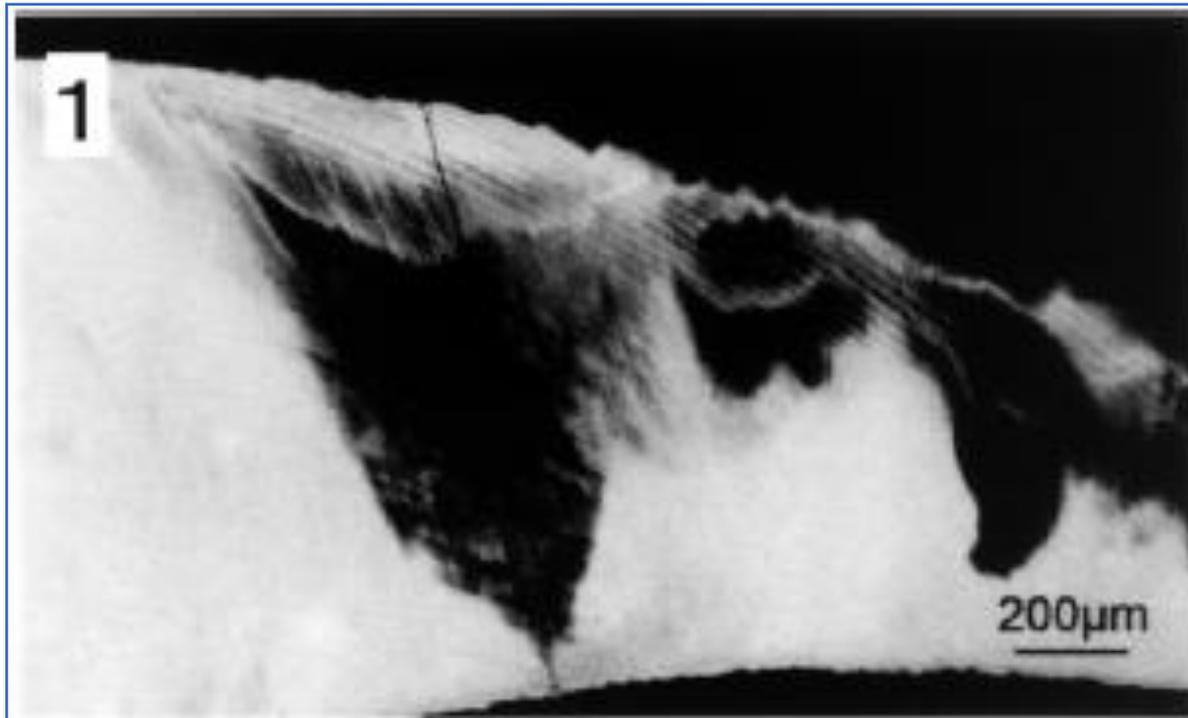
Estreptococos do grupo mutans

| 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> | |

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:

a) Polissacarídeos extracelulares

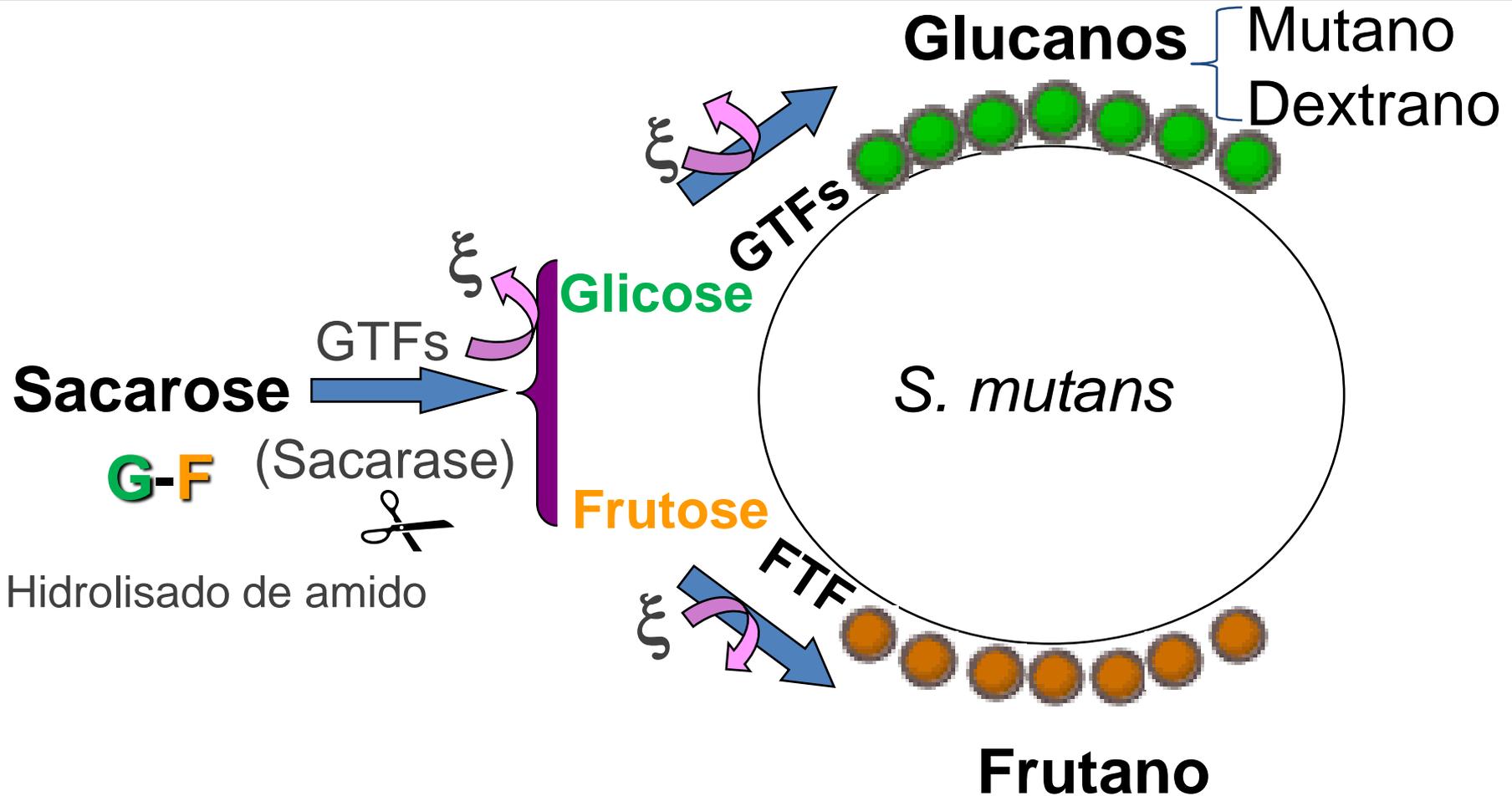
- mutano, dextrano e frutano produzidos por *S. mutans* e *S. sobrinus*
- dextrano e frutano produzidos por outras espécies
- polissacarídeo híbrido amido-glucano (mais complexo e insolúvel que os glucanos)

b) 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)

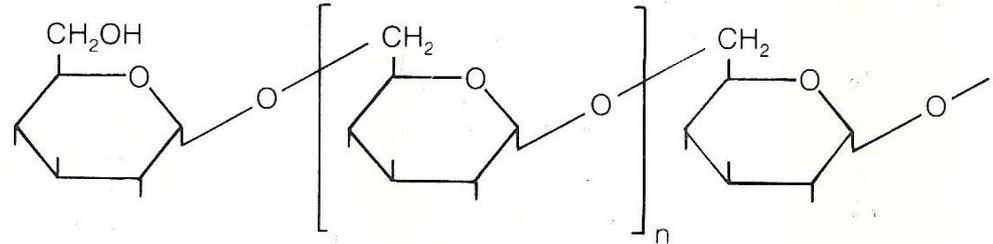
FTF = Frutosiltransferase

Características dos glucanos

Dextrano

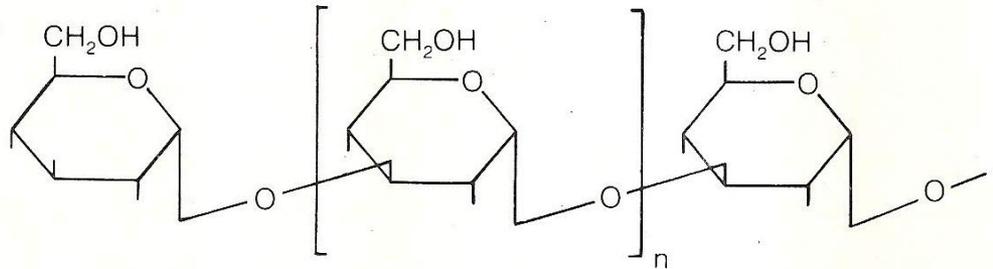
Glucano solúvel

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

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

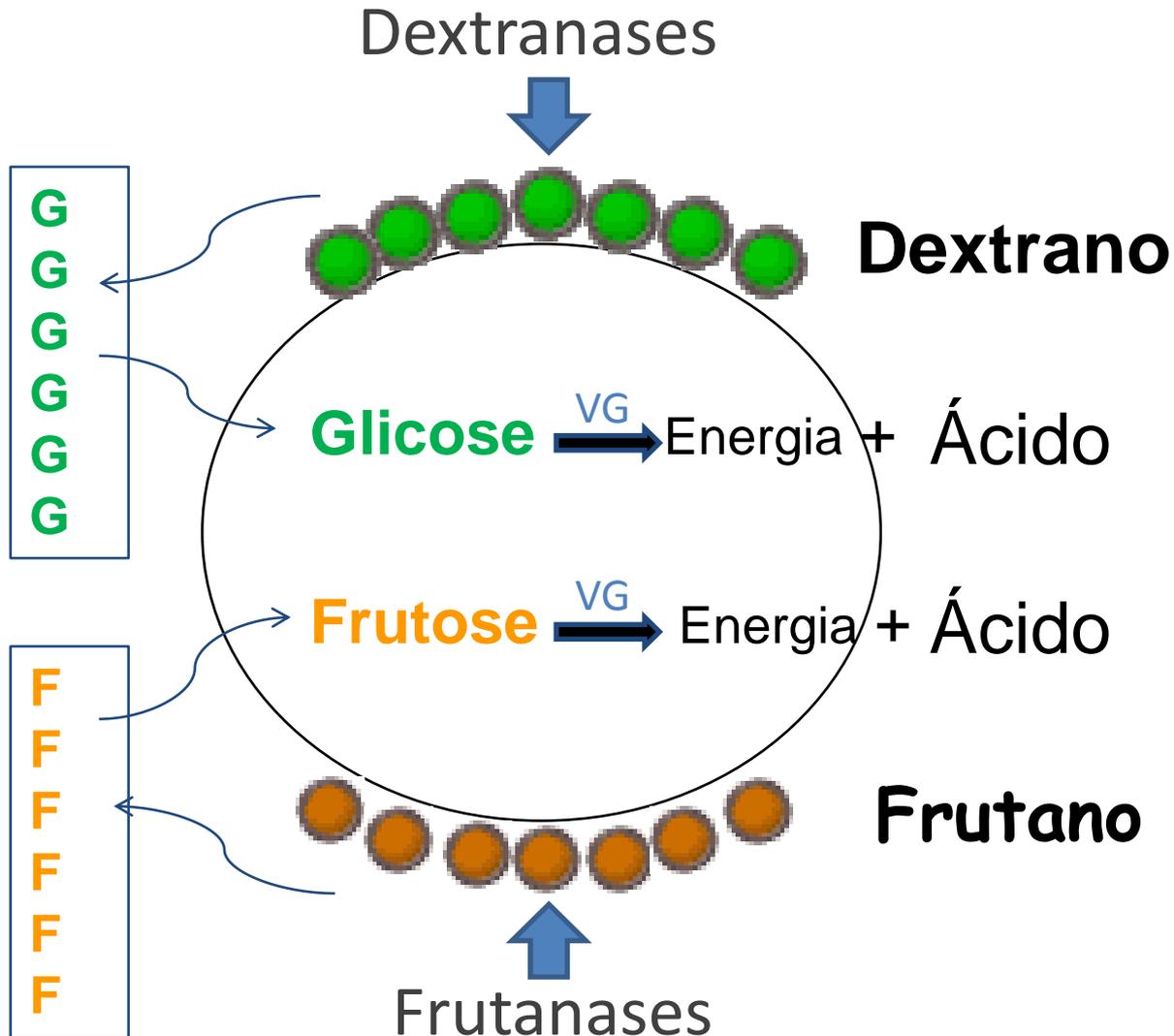
● Podem ser convertidos em ácidos nos períodos entre refeições

(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)

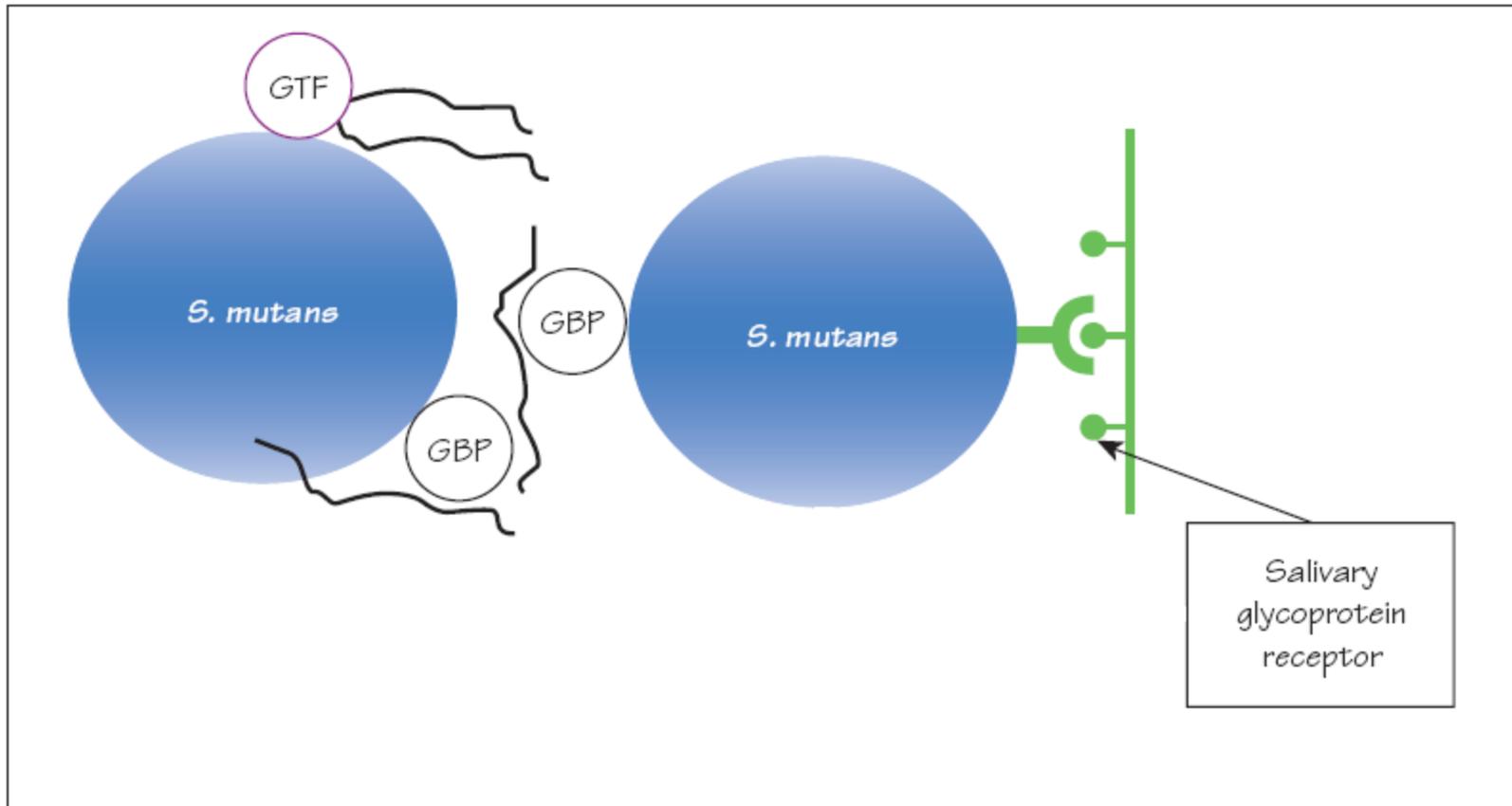
- ① Enzimas extracelulares
- ② Apresentam afinidade de ligação
 - superfície de ***S. mutans*** ou outras bactérias
 - película adquirida
 - glucano
- ③ Produzem glucanos *in situ*

② Mecanismos sacarose dependentes

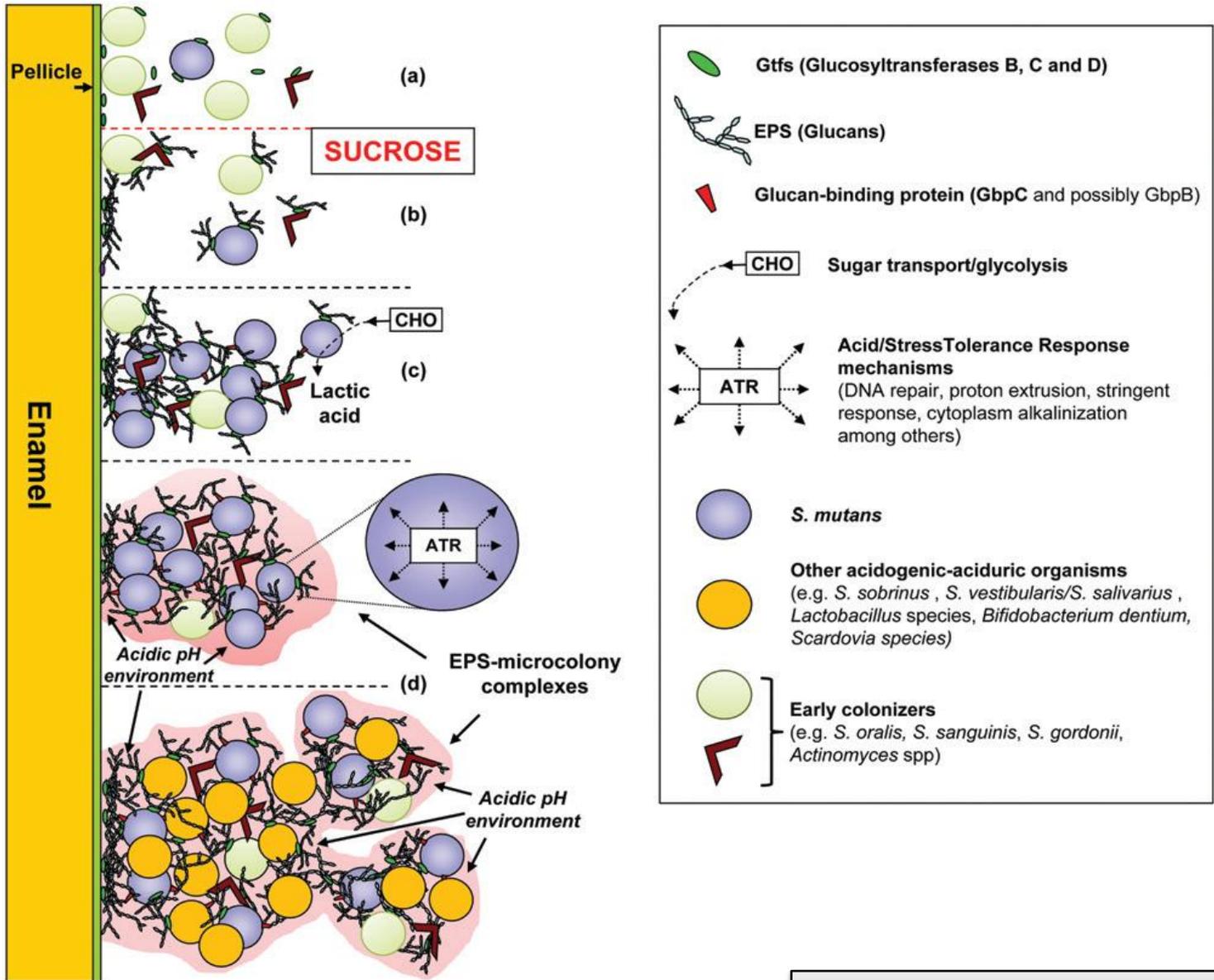
Glucan Binding Proteins (GbpA, GbpB, GbpC e GbpD) (proteínas sem atividade enzimática)

- ① Presentes na superfície de *S. mutans*
- ② 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

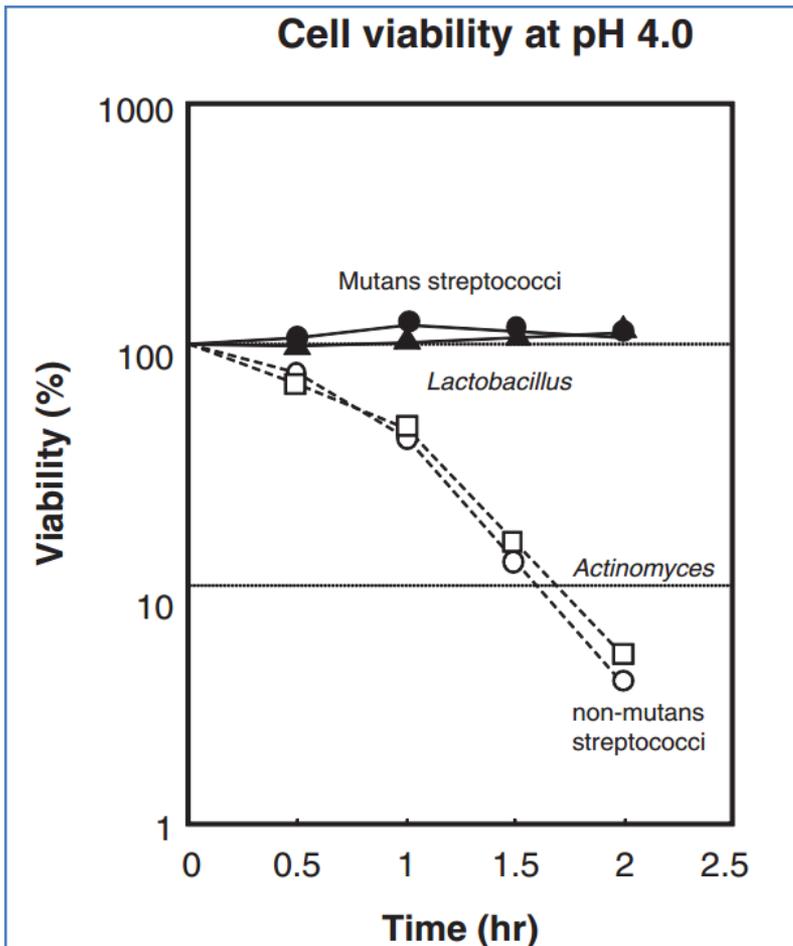
② Matriz polissacarídica

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

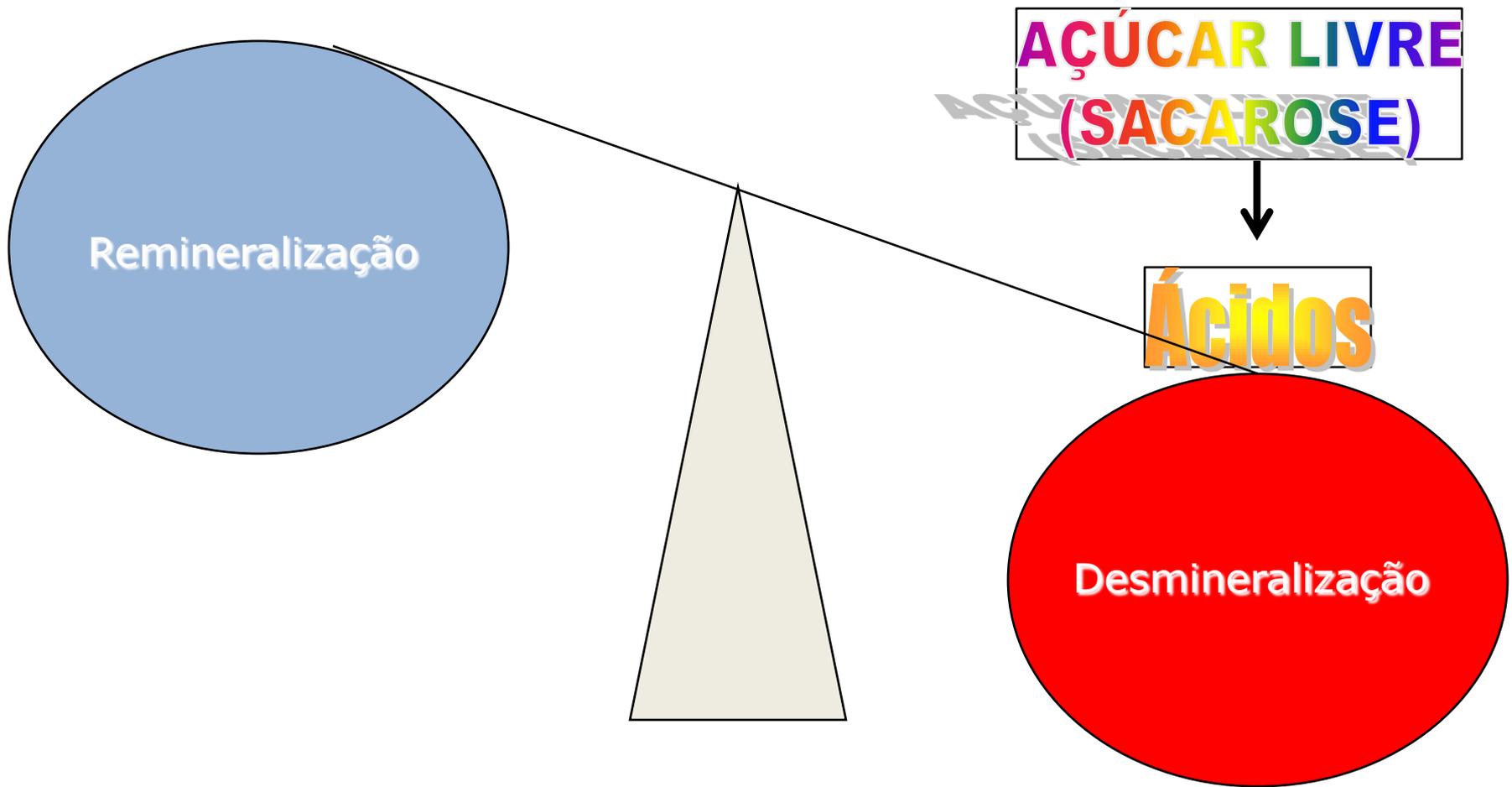
S. mutans e *S. sobrinus*

- ☺ 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 da superfície dental → CAVITAÇÃO





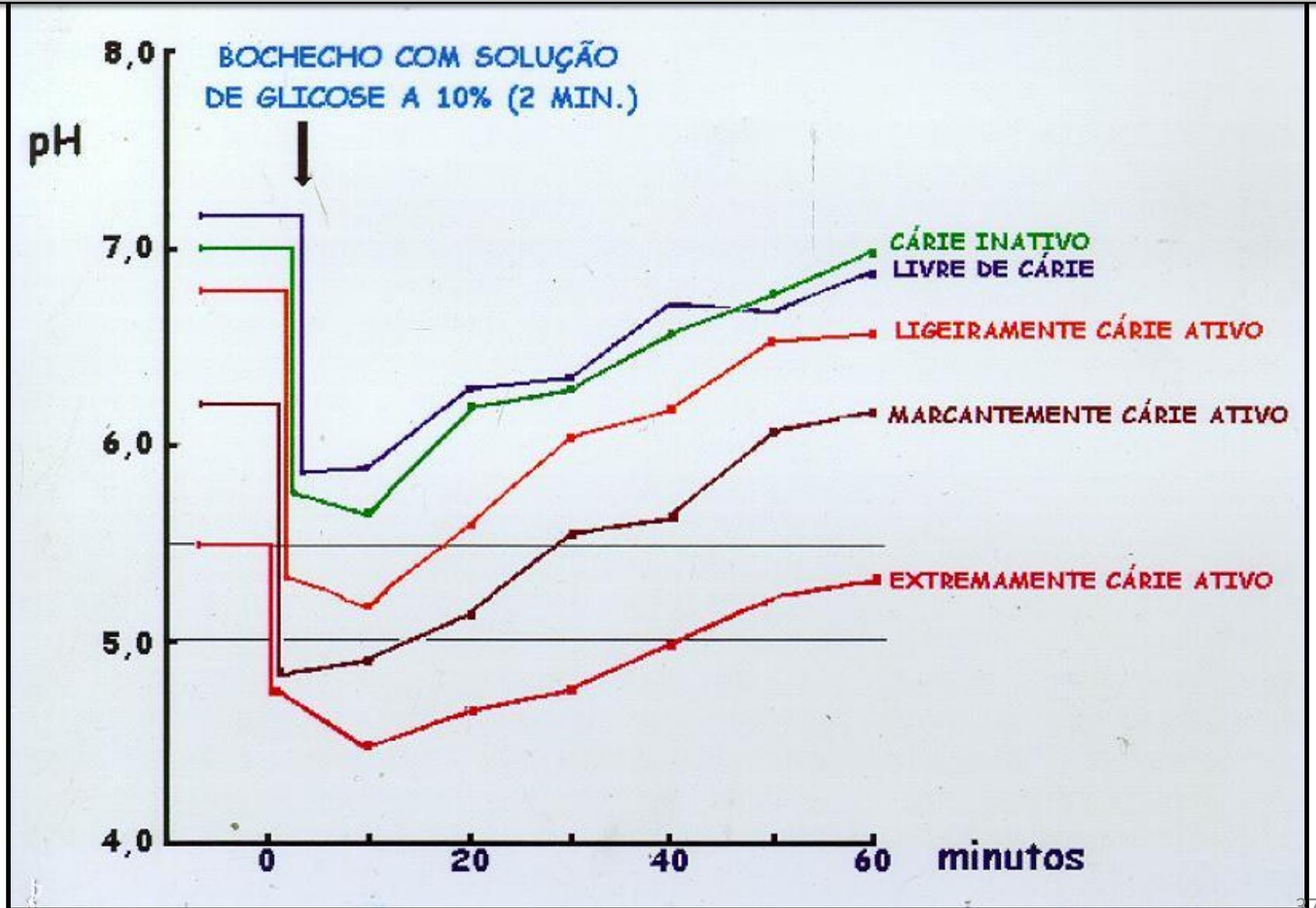
SUSCETIBILIDADE DO HOSPEDEIRO

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

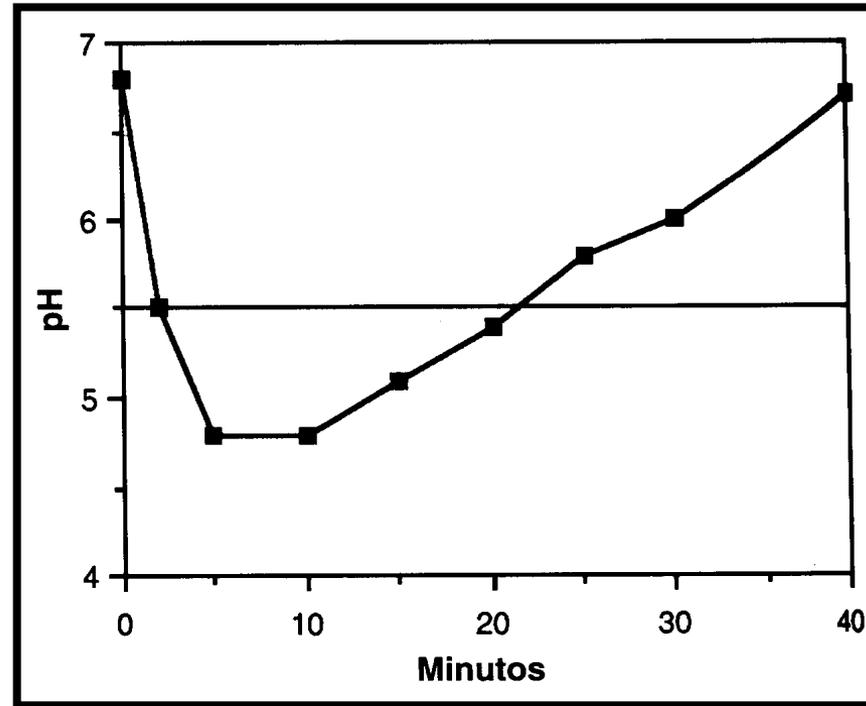


pH da placa dental após bochecho de glicose a 10%

Queda rápida de pH



Produção rápida e intensa de ácidos



Recuperação do pH



Remineralização

Permanência abaixo do pH crítico



**Seleção de acidúricos
Desmineralização**

DIETA CARIOGÊNICA

Dieta cariogênica

Sacarose

Amido

Sacarose + amido

Principais carboidratos da dieta moderna

Cariogenicidade da sacarose

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*

Dieta cariogênica

Sacarose + amido

AMIDO

Amilases salivares



Hidrolisados de amido
(maltose, maltodextrinas e outros oligossacarídeos)



Incorporação durante a síntese de glucanos por GTFB

GtfB e amilase → atuam em conjunto aumentando a síntese de glucanos mais complexos, mais ramificados e portanto mais insolúveis

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

★ Estudos antropológicos

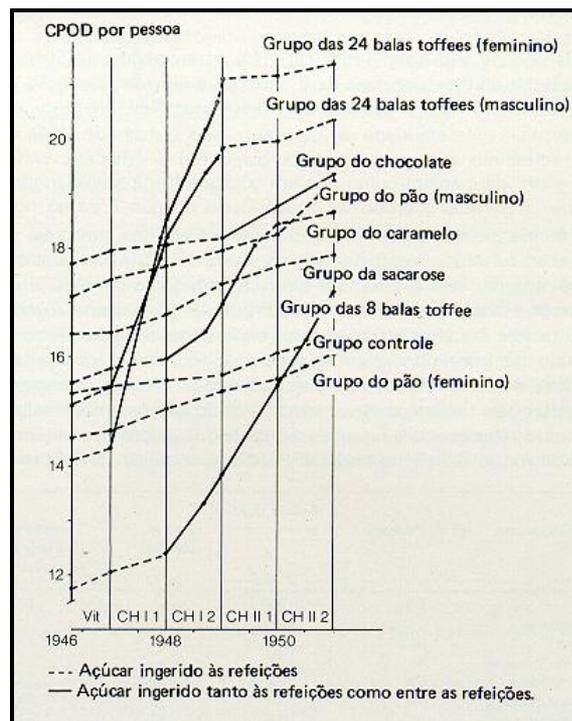
Dentes de crânios antigos exibem cáries cervicais e oclusais, mas são raras as cáries nas superfícies lisas do esmalte.

★ 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

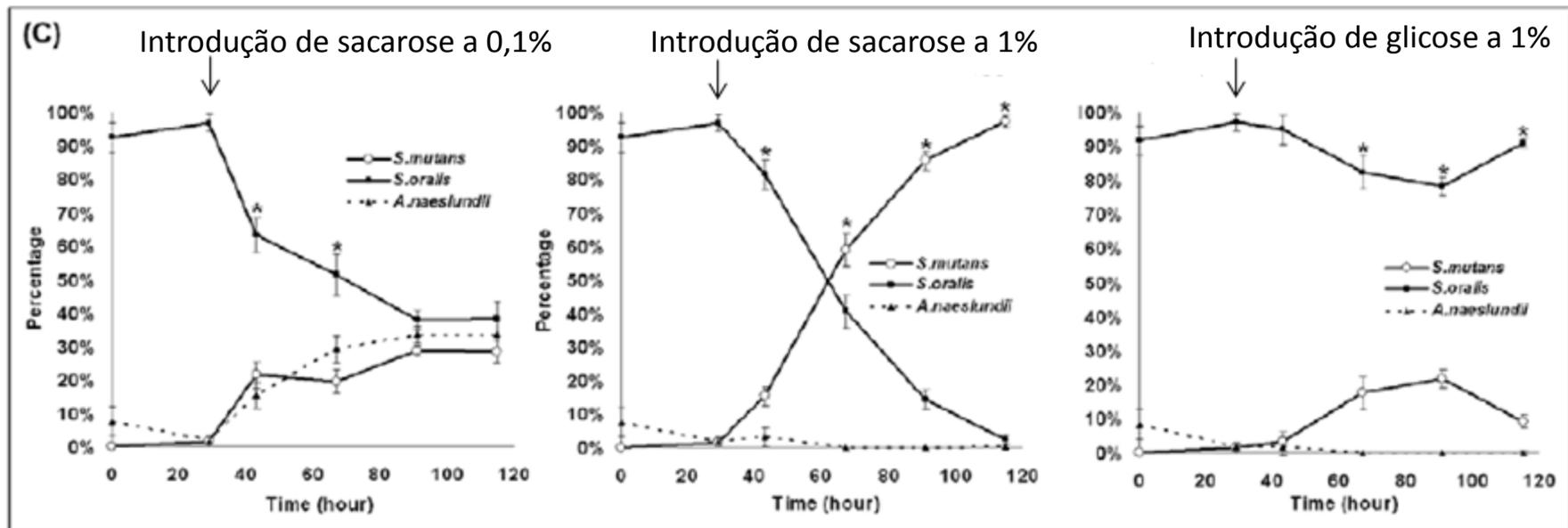
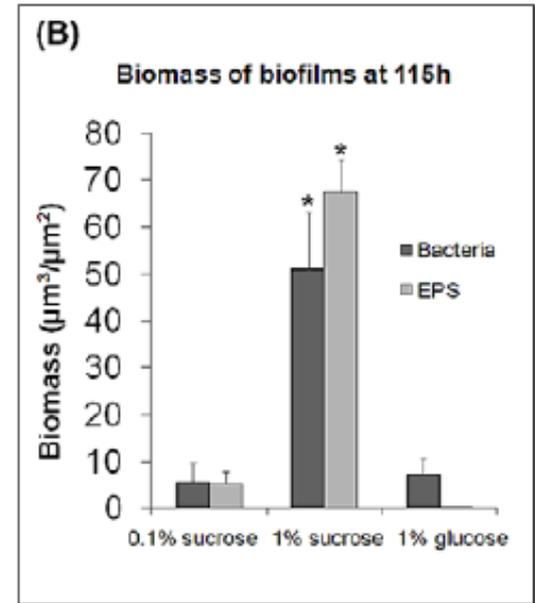
Estudo de Vipeholm
(Suécia)



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

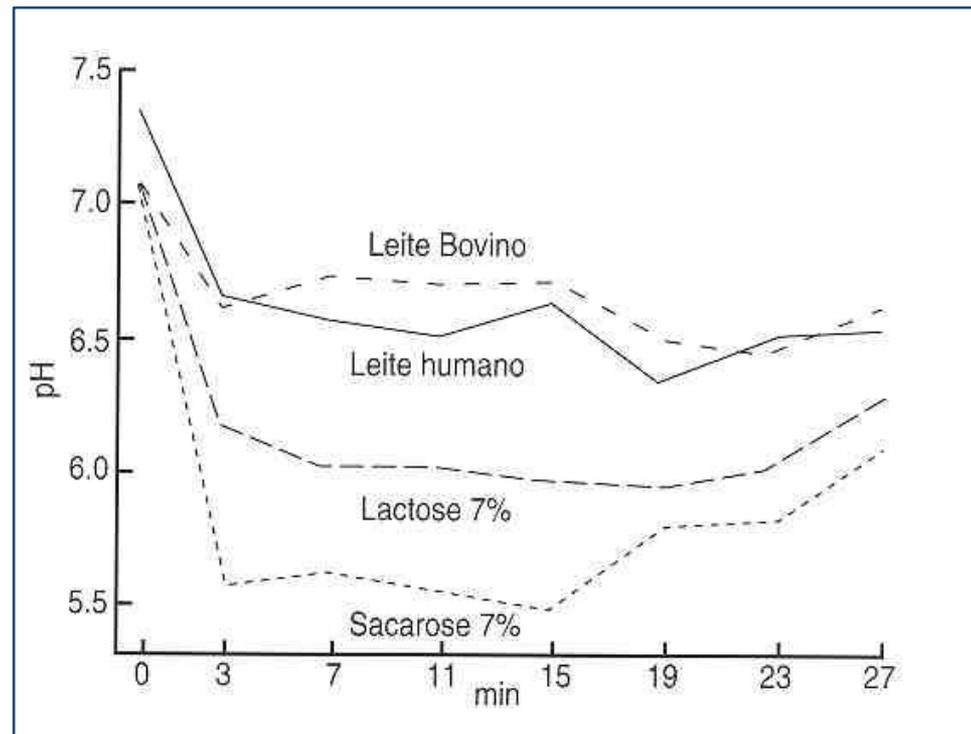
Dinâmica populacional do biofilme após
introdução de carboidratos



Fatores que determinam a cariogenicidade dos alimentos

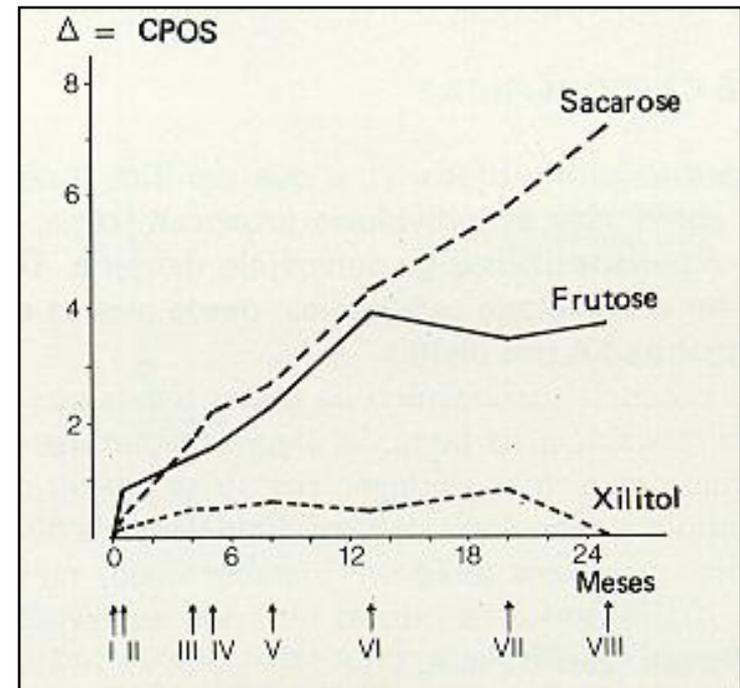
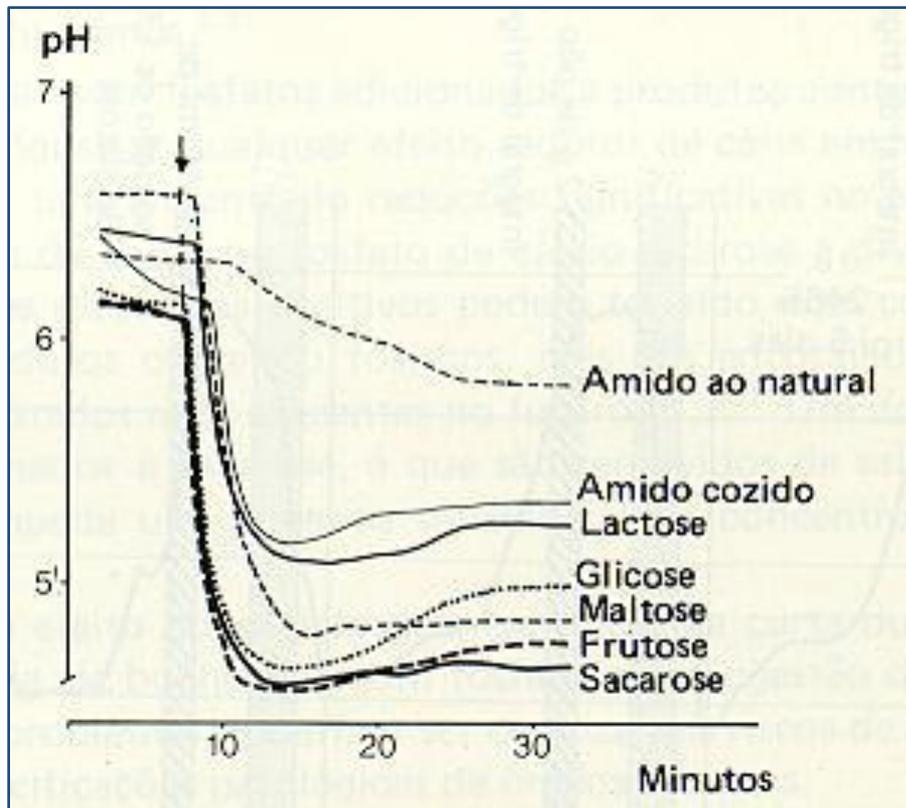
Fatores relacionados aos produtos

Composição do alimento:



Fatores relacionados aos produtos

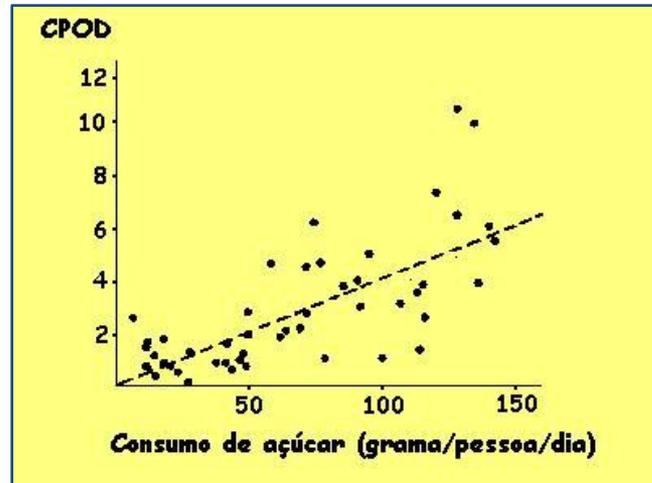
 **Tipo de carboidrato:** sacarose, glicose, frutose, amido, substitutos da sacarose, etc



Fatores relacionados aos produtos

Quantidade de carboidrato

Concentração de carboidratos

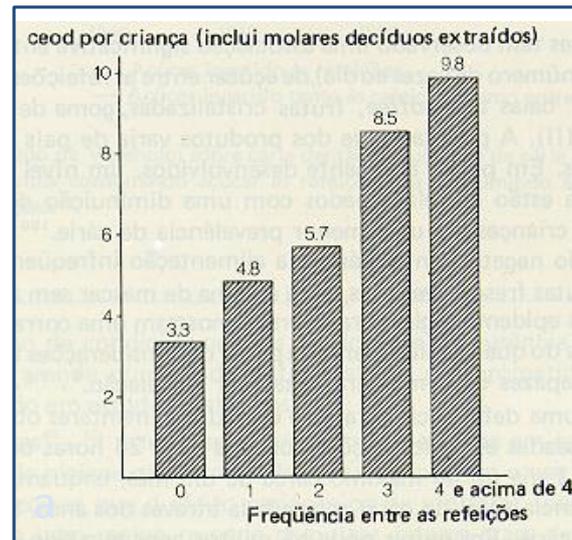


Viscosidade

Resistência à mastigação

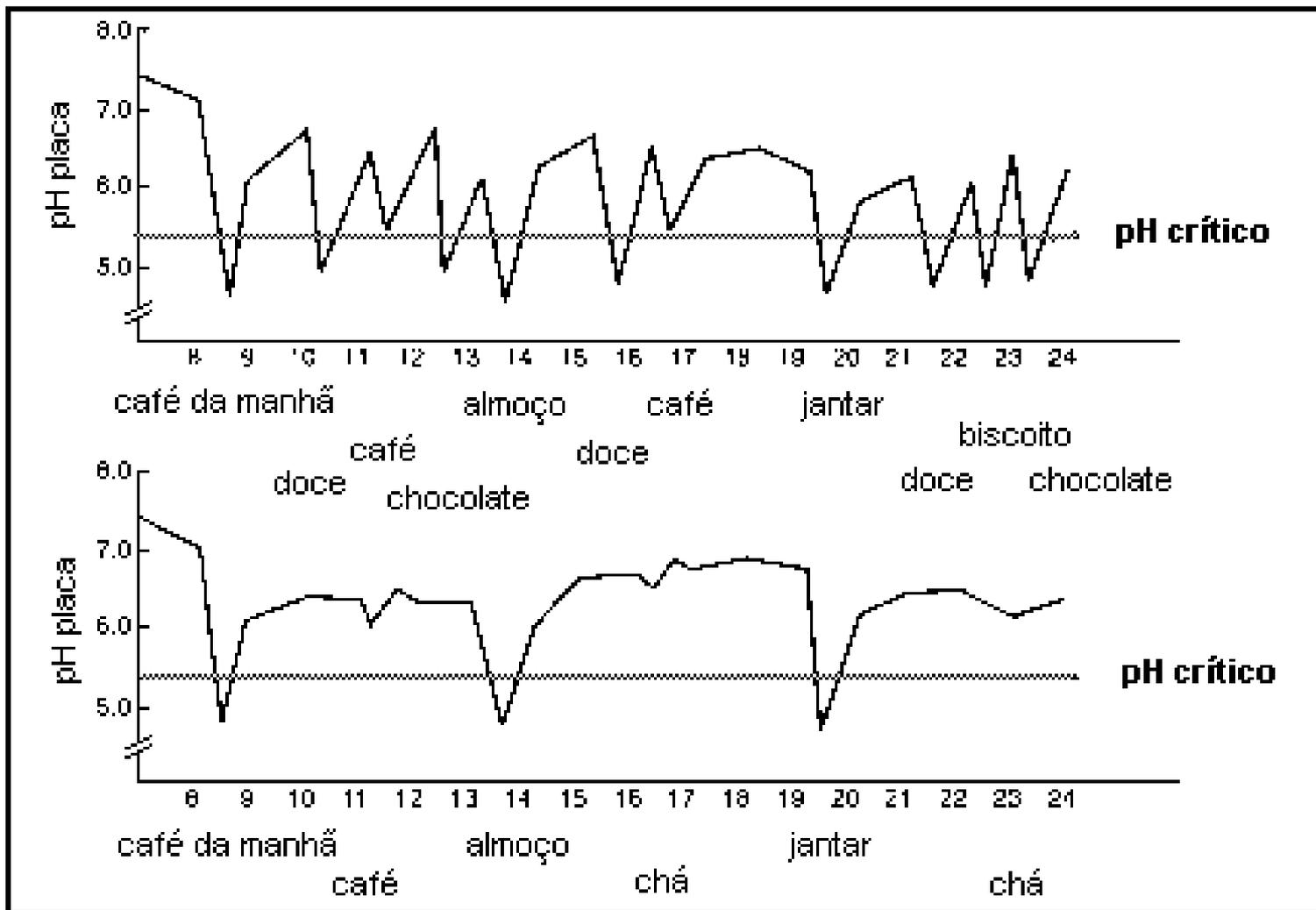
Fatores relacionados ao indivíduo

Freqüência de ingestão



Uso racional da sacarose

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



consumo de sacarose → seleção de acidúricos



placa cariogênica

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

Fatores relacionados ao indivíduo

Liberação oral

★ 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

Indução de aumento de secreção salivar no final da alimentação:

Alimentos duros e/ou de sabor agradável

