

Microbiota associada à cárie dental

Aula 1

Placa dental cariogênica

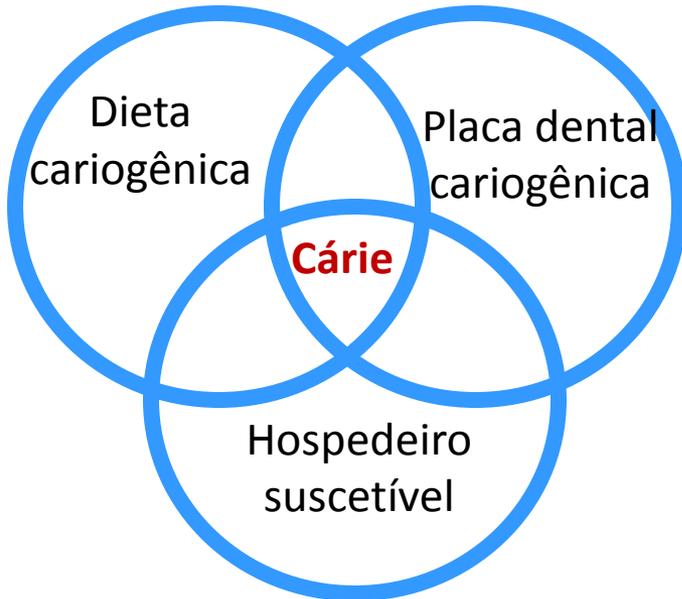
Fatores de virulência de bactérias cariogênicas



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

- **Profa. Dra. Maria Regina Simionato**

ETIOLOGIA DA CÁRIE DENTAL



Fitzgerald & Keyes

CÁRIE DENTAL:
Doença infecciosa endógena multifatorial

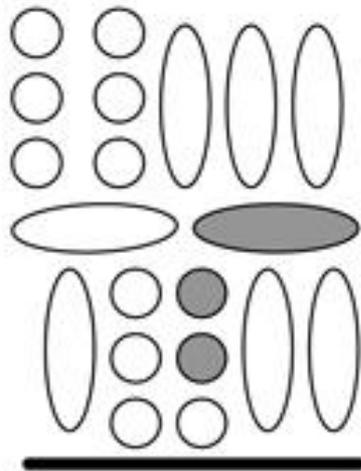
As interações entre **dieta** e **micro-organismo** tem um papel determinante da microbiota que coloniza a cavidade bucal desde o nascimento

PLACA DENTAL CARIOGÊNICA

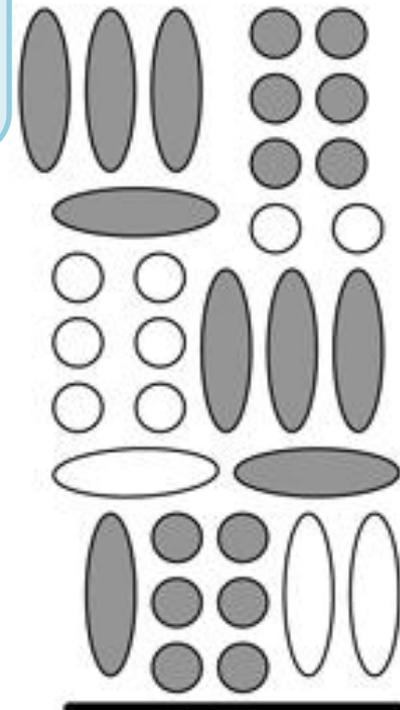
- + Supragengival
- + Composição e espessura ou localização suficientes para retardar a ação do tampão salivar



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) da **microbiota** disbiótica da **placa dental**

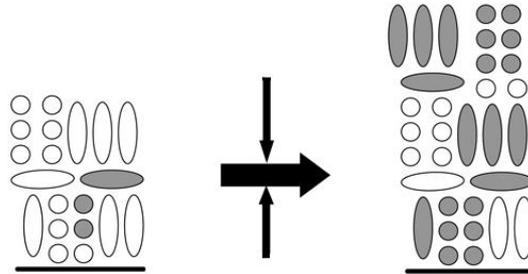
+

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 ter um metabolismo sacarolítico intenso:

- a) Produzir ácido orgânico forte (**ácido láctico**) a partir de diversos carboidratos;
- b) em grandes quantidades;
- c) rapidamente

NO BIOFILME DENTAL!!!

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*)



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

2. 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* e *Propionibacterium*

↑ número na
placa dental

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

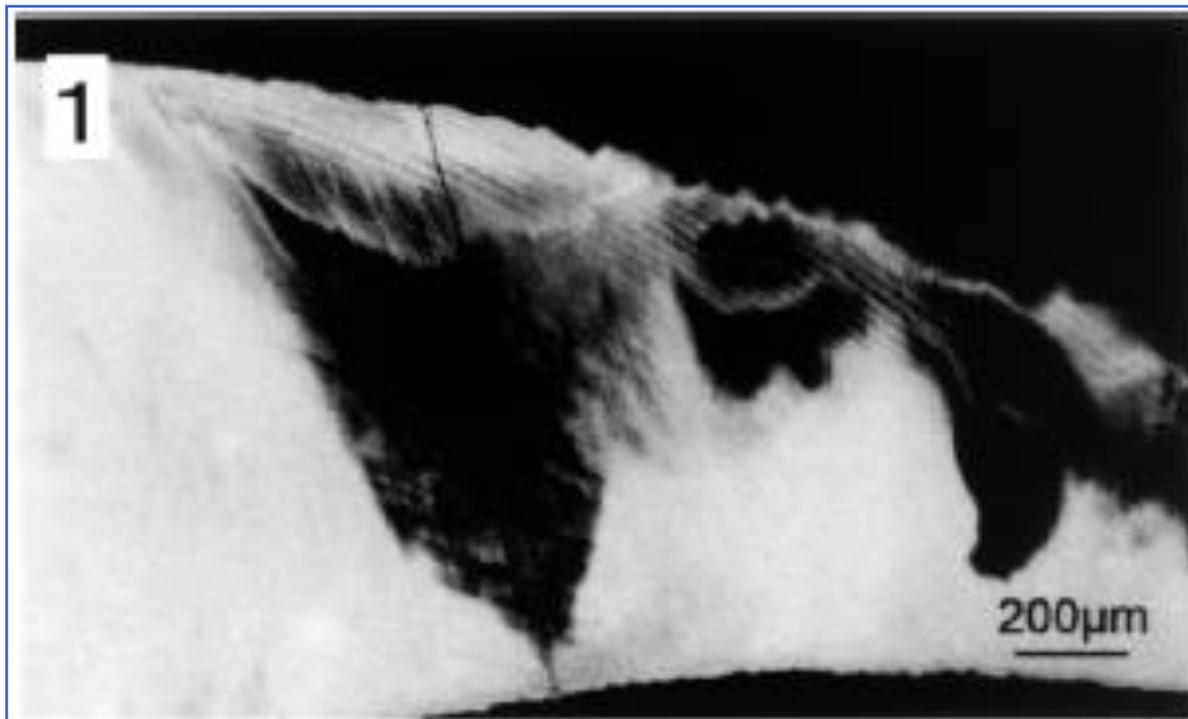
Estreptococos do grupo mutans

Espécie	Hospedeiro
S. mutans sorotipos c, e, f	Homem
S. sobrinus	Homem
S. rattus	
S. ferus	
S. cricetus	

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:

- ① Aumenta a aderência de microrganismos
- ② Fonte de energia e nutrientes
- ③ Protege microrganismos aumentando a tolerância a antimicrobianos
- ④ Afeta a difusão de substâncias no biofilme
- ⑤ Concentra íons de metais e outros nutrientes no biofilme

② Matriz polissacarídica

Principais componentes da matriz da placa cariogênica:

a) Polissacarídeos extracelulares

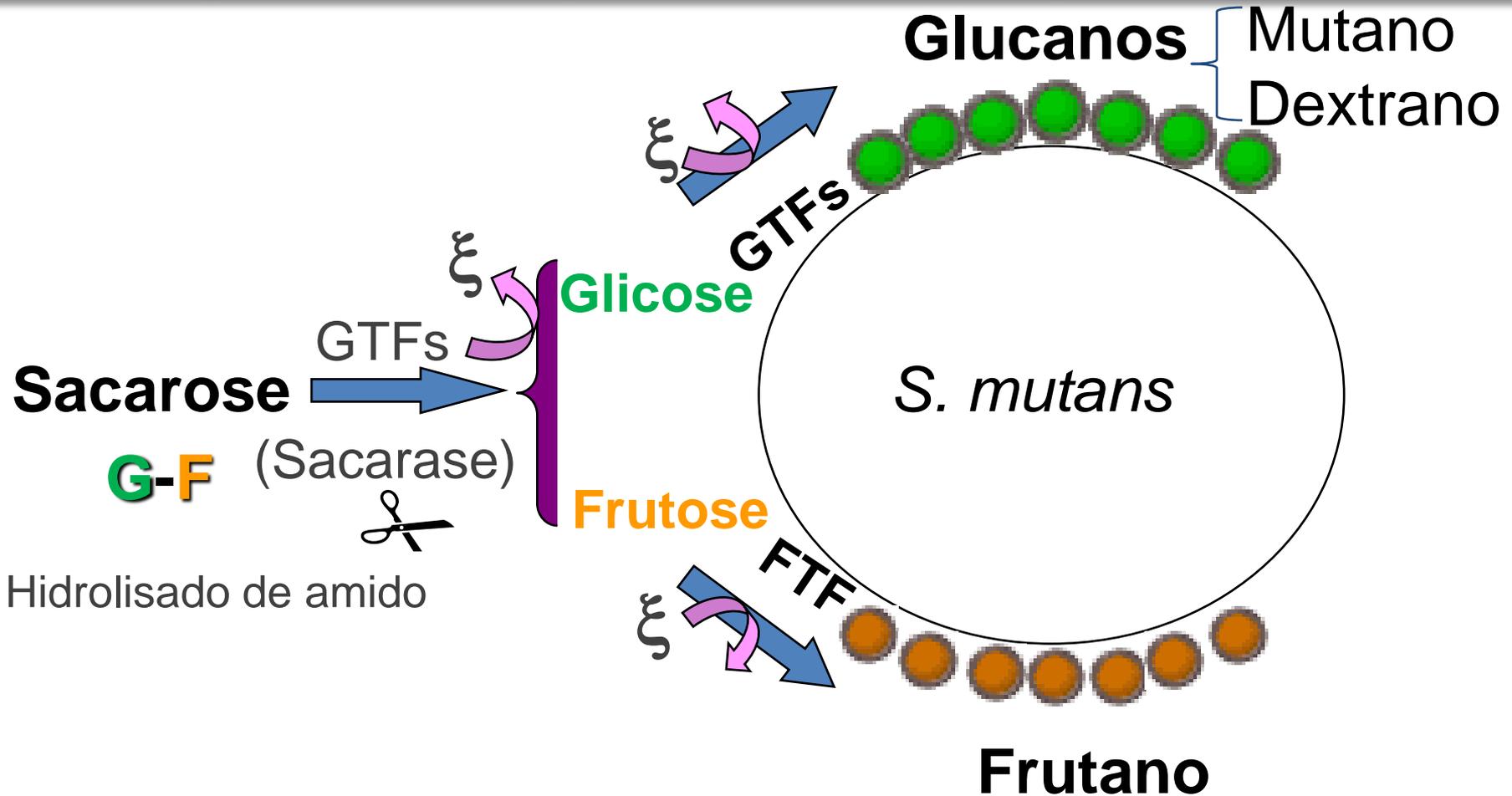
- mutano, dextrano e frutano produzidos por *S. mutans* e *S. sobrinus*
- dextrano e frutano produzidos por outras espécies
- polissacarídeo híbrido amido-glucano (mais complexo e insolúvel que os glucanos)

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)

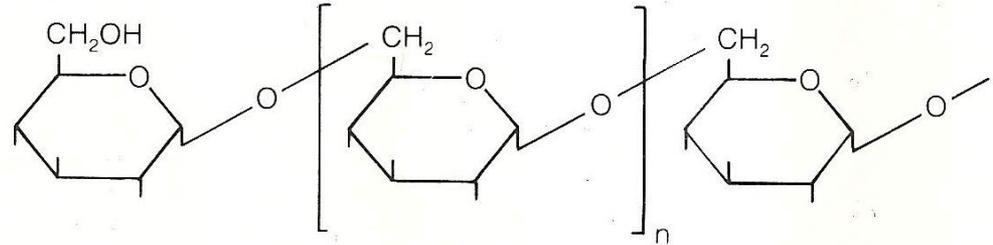
FTF = Frutosiltransferase

Características dos glucanos

Dextrano

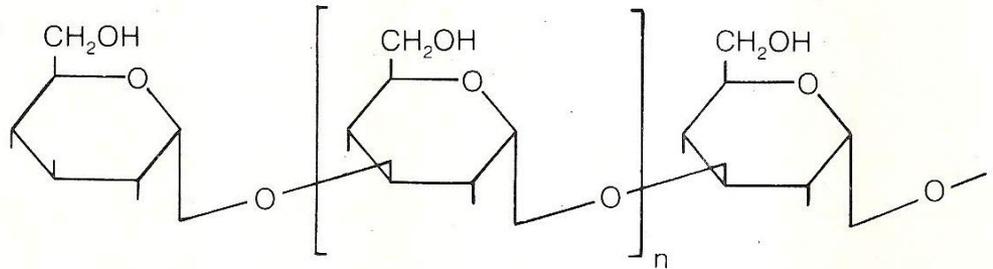
Glucano solúvel

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) (ligações α-1,3)</p>	<p>Insolúvel = Solúvel</p>	<p>>Solúvel (dextrano) (ligações α-1,6)</p>

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

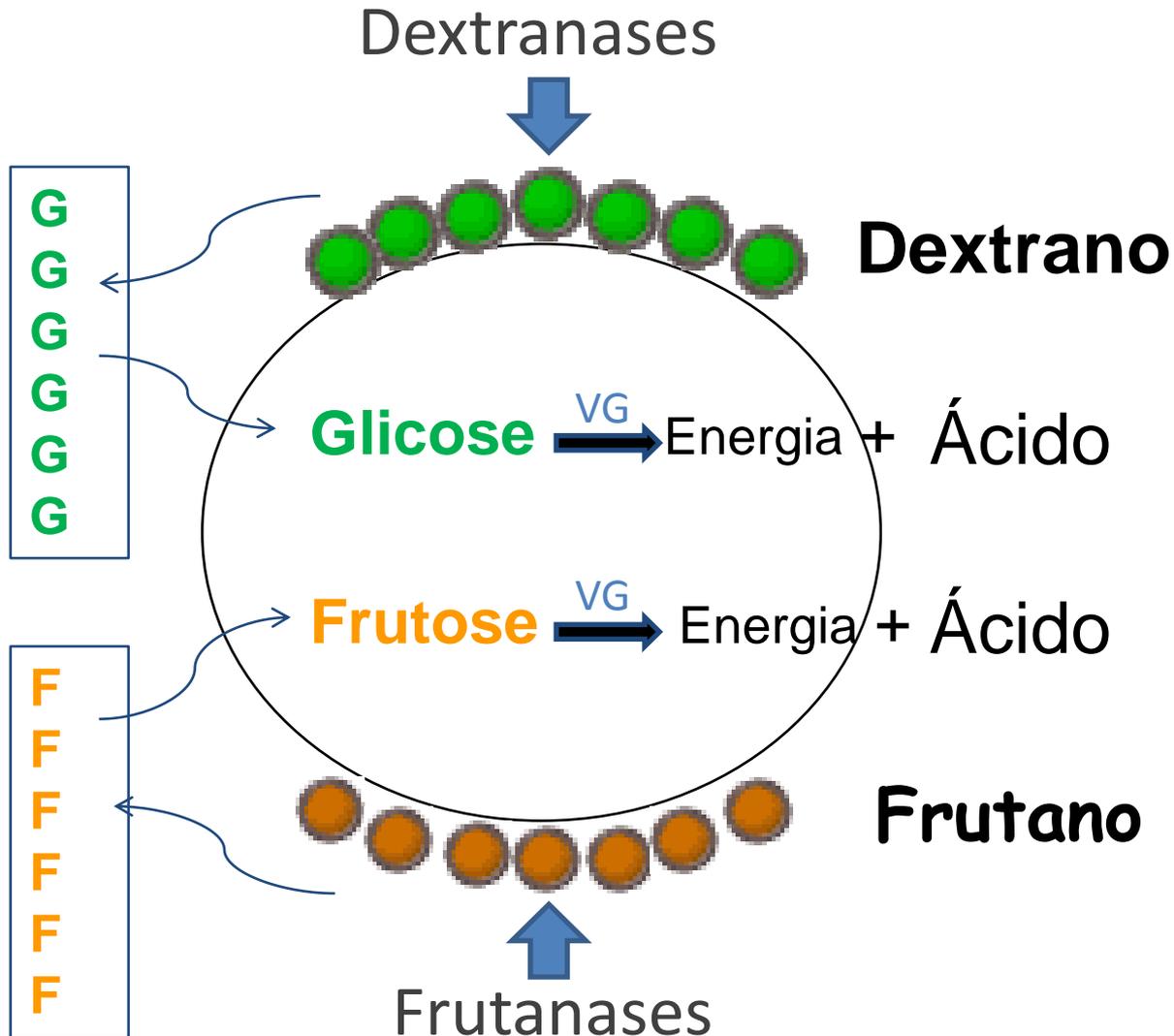
● Podem ser convertidos em ácidos nos períodos entre refeições

(Frutanasases e Dextranasases)

● 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

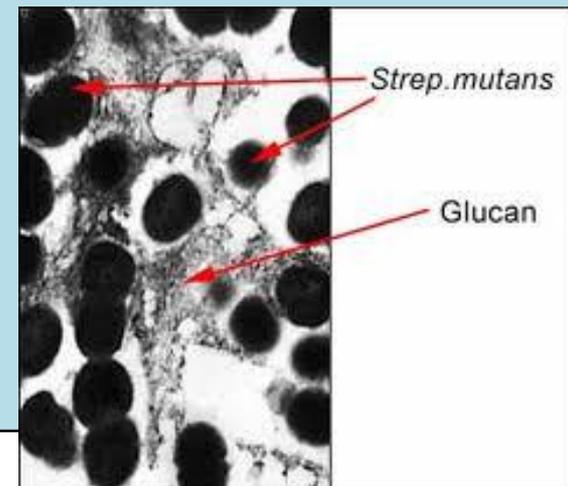
② Apresentam afinidade de ligação

superfície de *S. mutans* ou outras bactérias

película adquirida

glucano

③ Produzem glucanos *in situ*

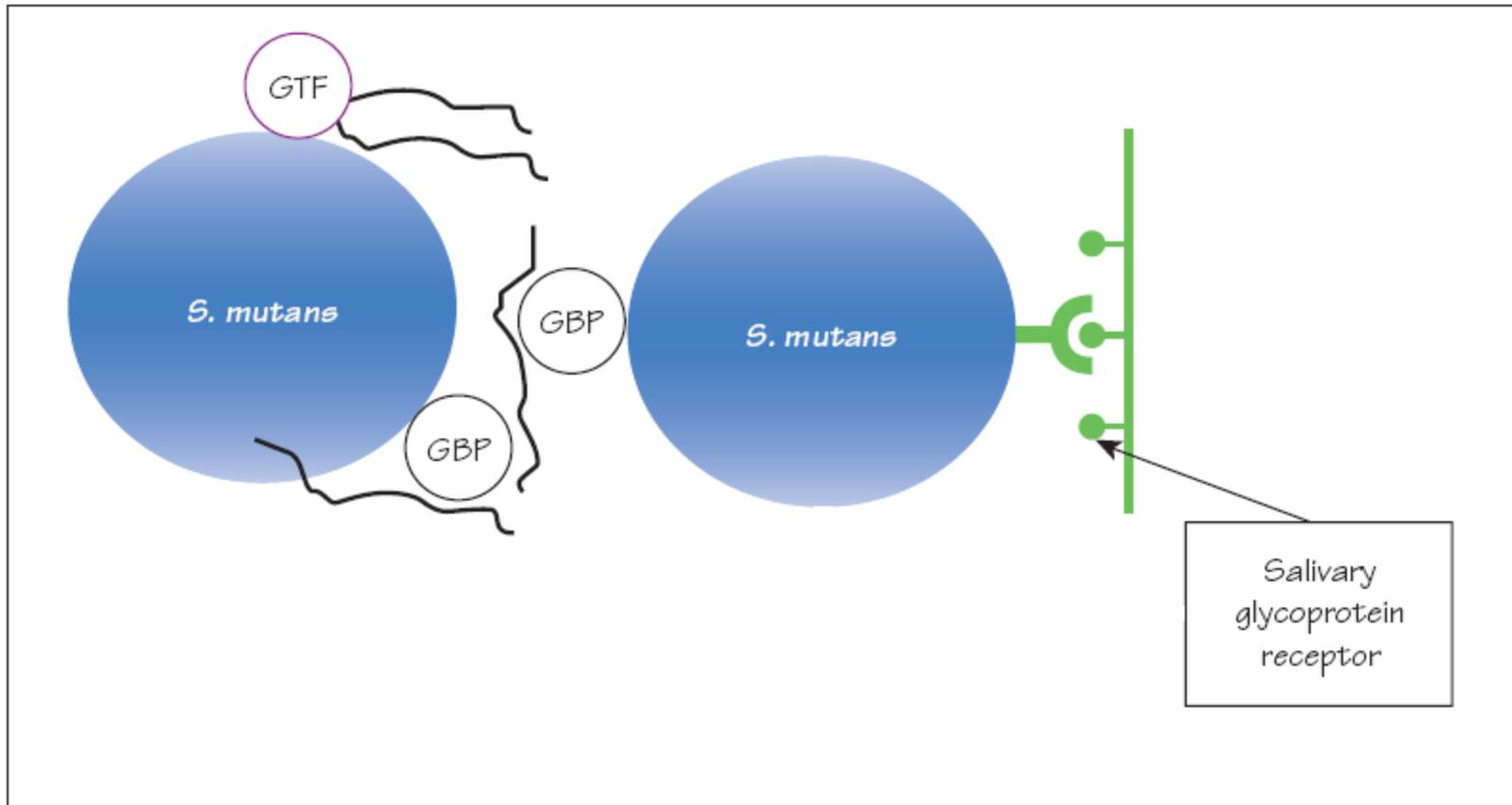


② Mecanismos sacarose dependentes

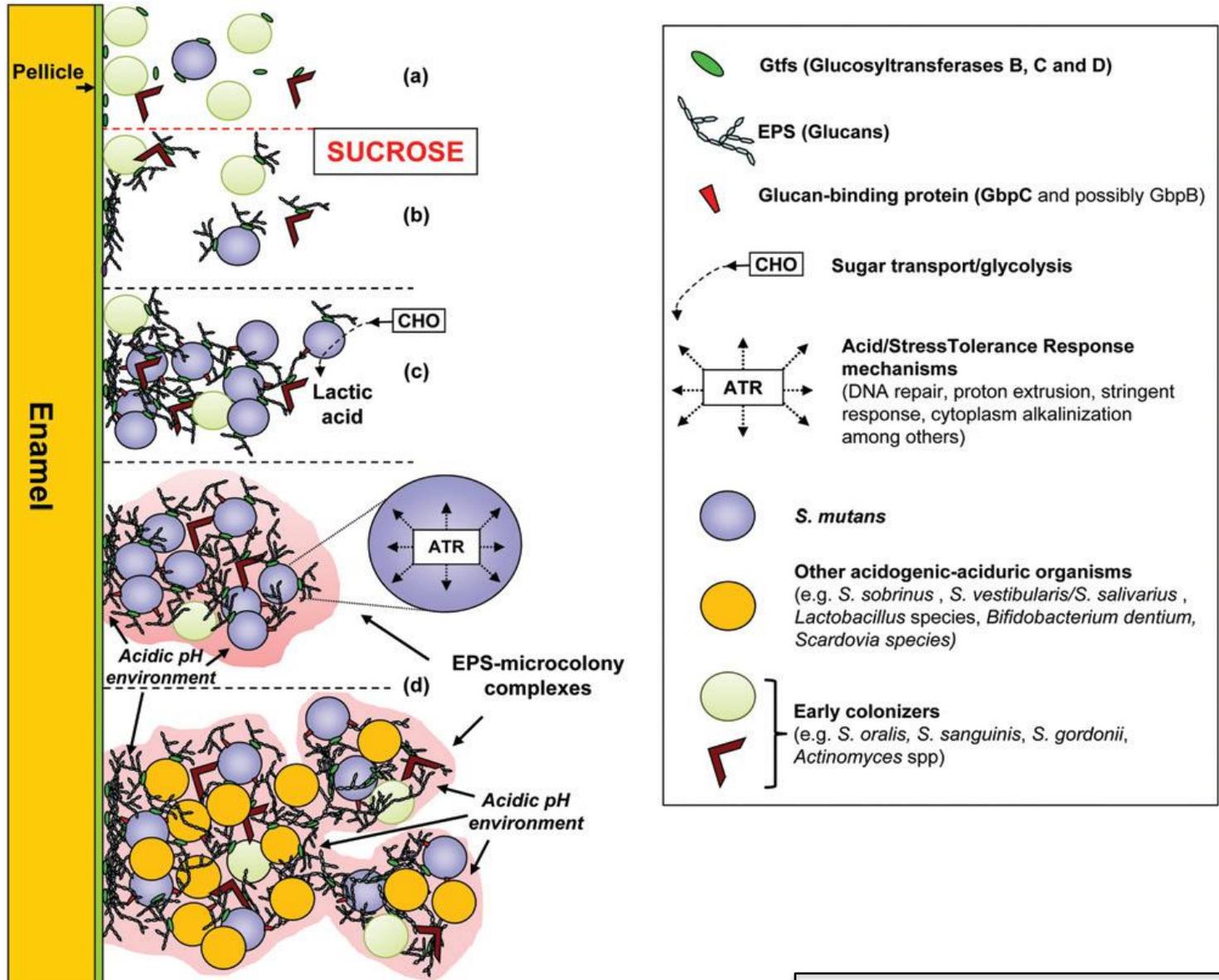
Glucan Binding Proteins (GbpA, GbpB, GbpC e GbpD) (proteínas sem atividade enzimática)

- 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**

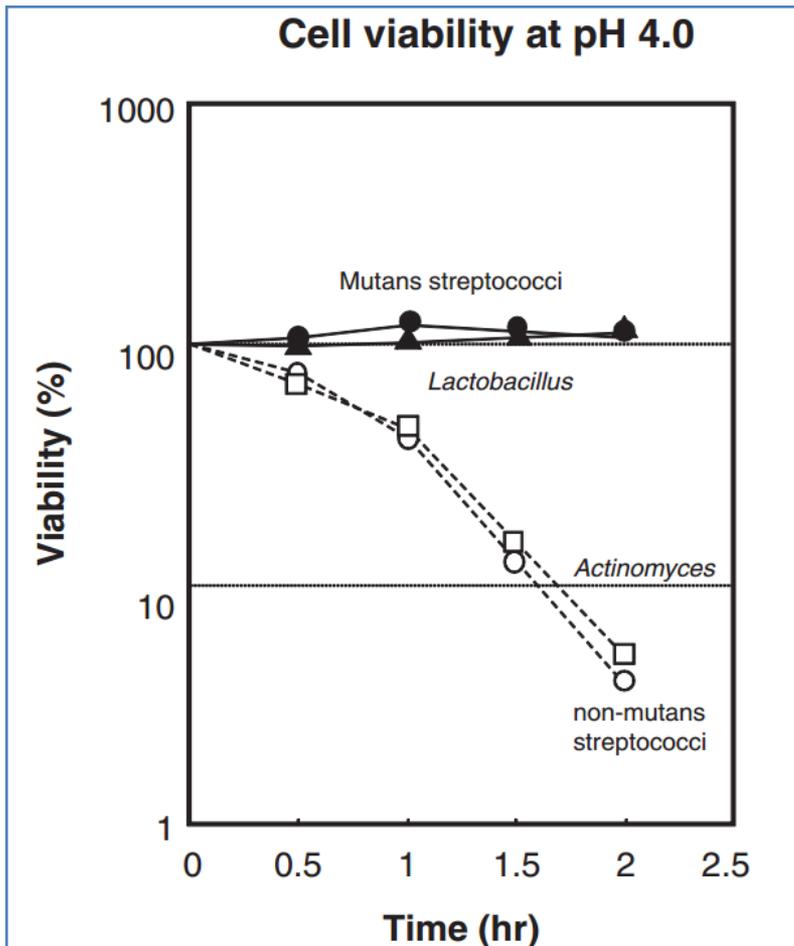
② **Matriz polissacarídica**

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

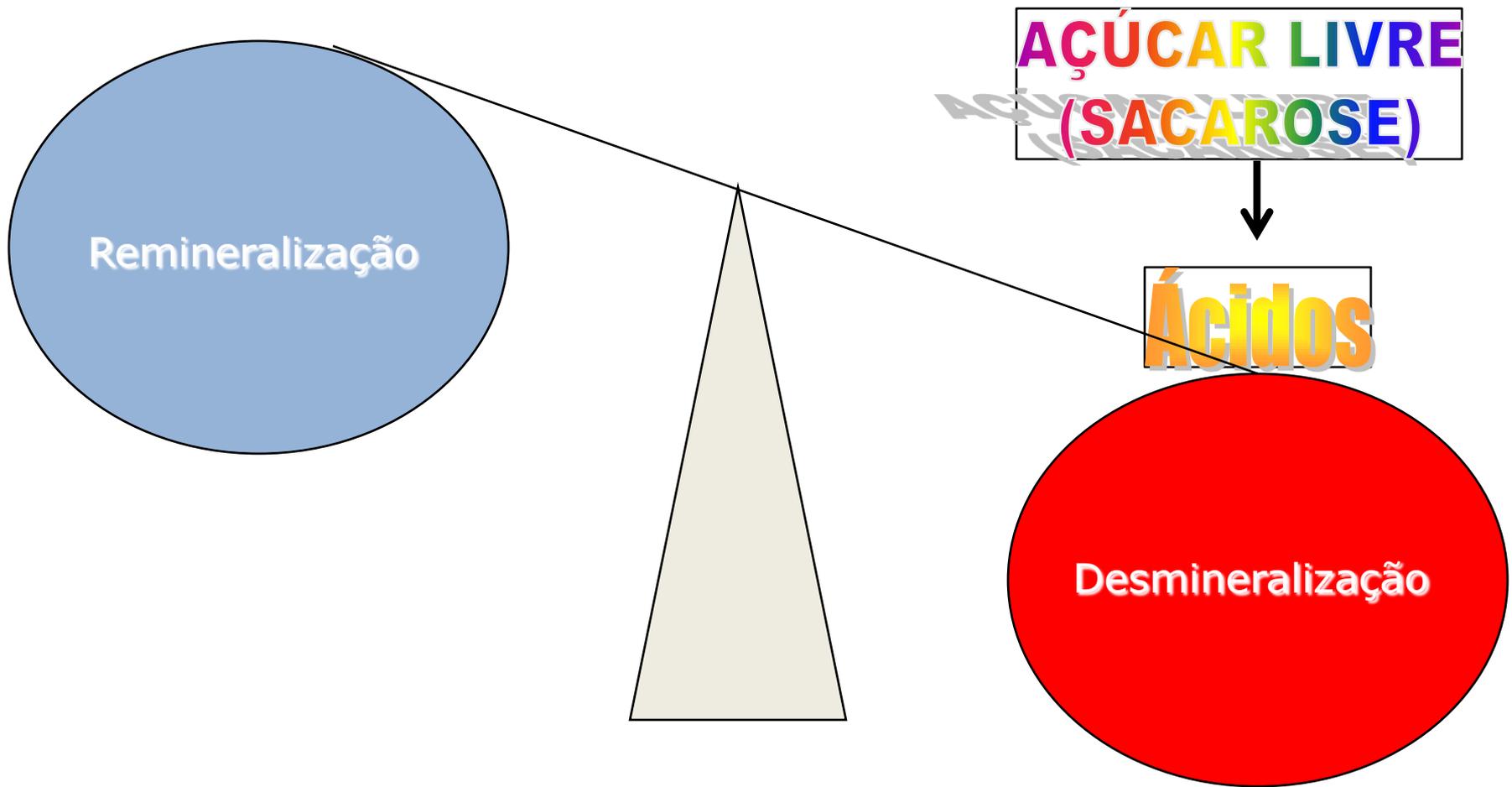
S. mutans e *S. sobrinus*

- ☺ 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





Microbiota associada à cárie dental

Aula 2

Suscetibilidade do hospedeiro

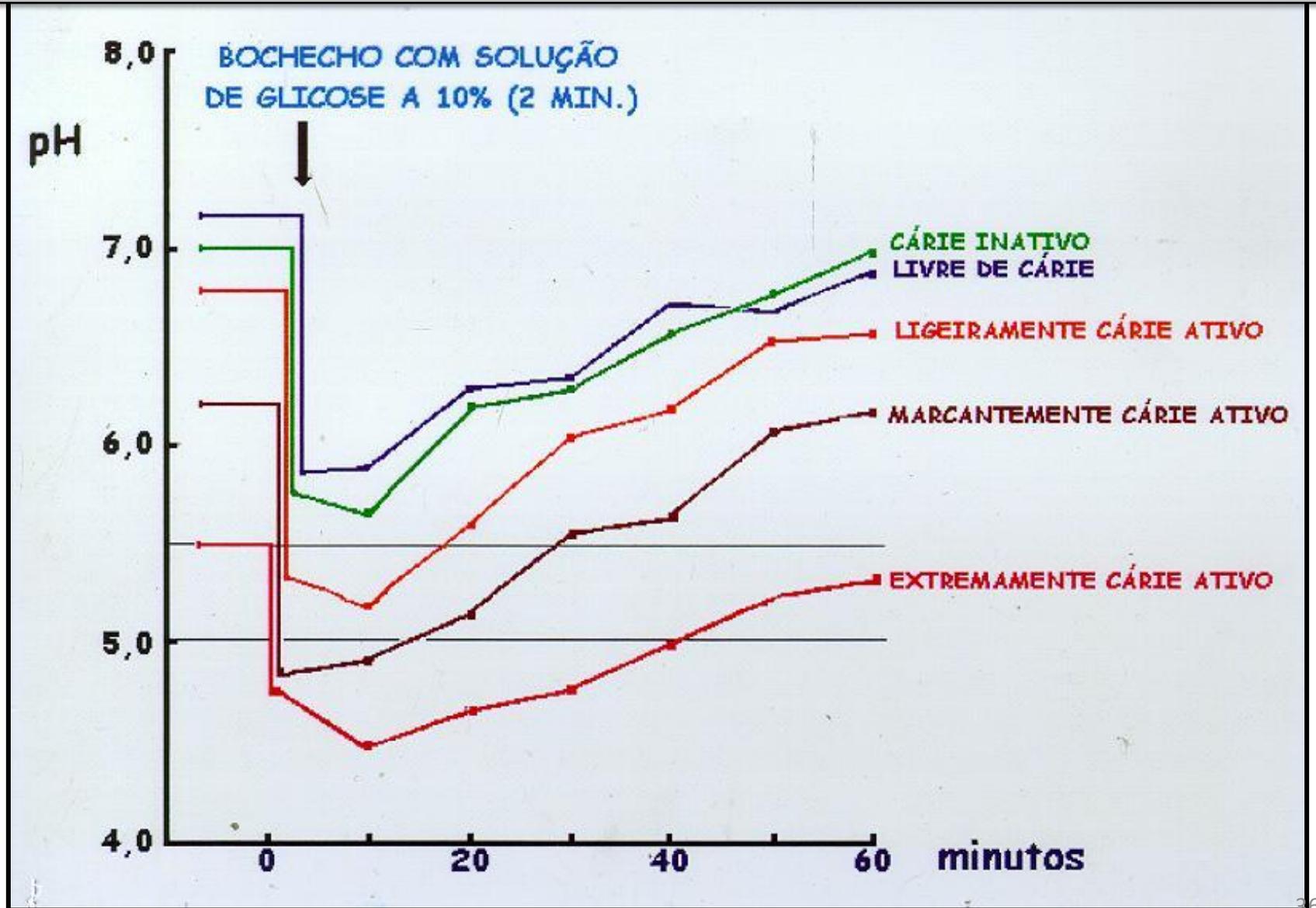
Dieta cariogênica

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



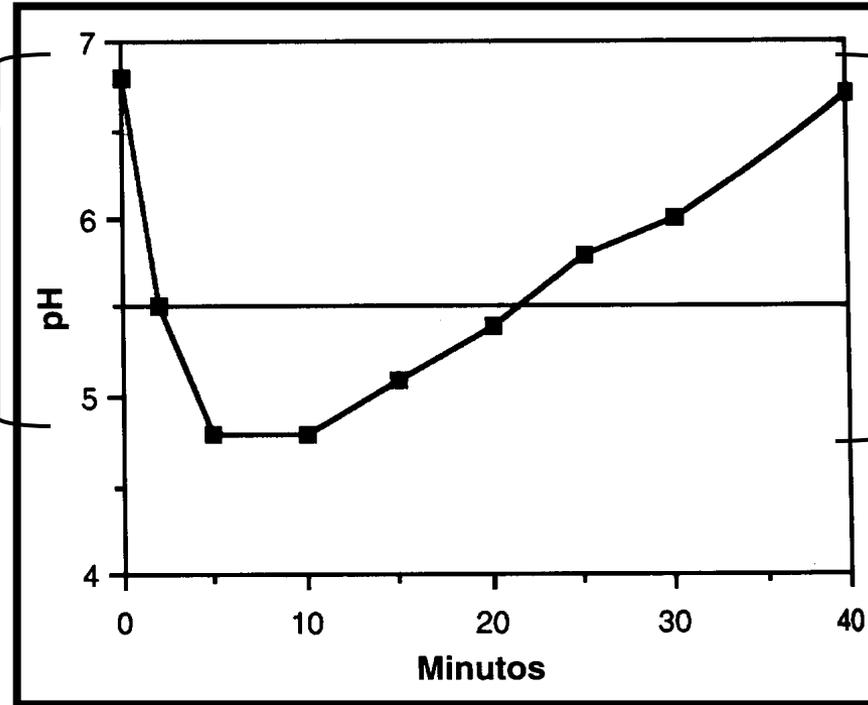
Curva de Stephan

pH da placa dental após bochecho de glicose a 10%

Queda rápida de pH



Produção rápida e intensa de ácidos



Recuperação do pH



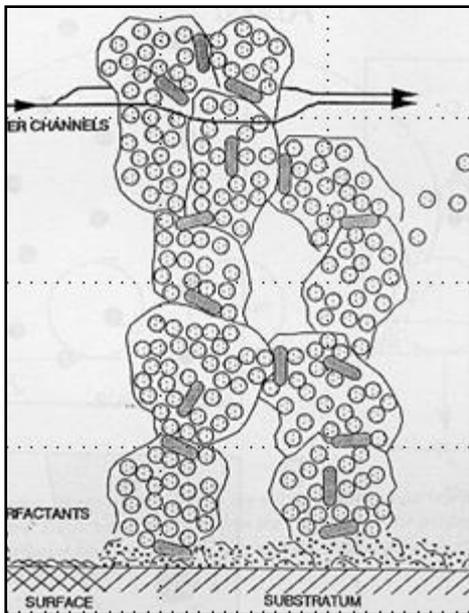
Remineralização

- ① Neutralização dos ácidos pelo tampão salivar ou Ca/fosfato derivados da superfície dental;
- ② Metabolização dos ácidos pela microbiota da placa;
- ③ Neutralização dos ácidos pela amônia derivada da hidrólise da uréia e lisina pela microbiota da placa.

Permanência abaixo do pH crítico



Seleção de acidúricos
Desmineralização



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

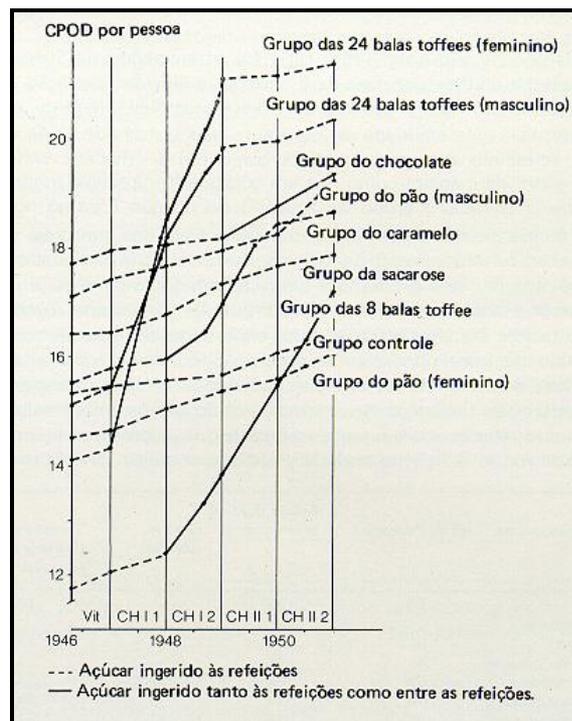
Dentes de crânios antigos exibem cáries cervicais e oclusais, mas são raras as cáries nas superfícies lisas do esmalte.

★ 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

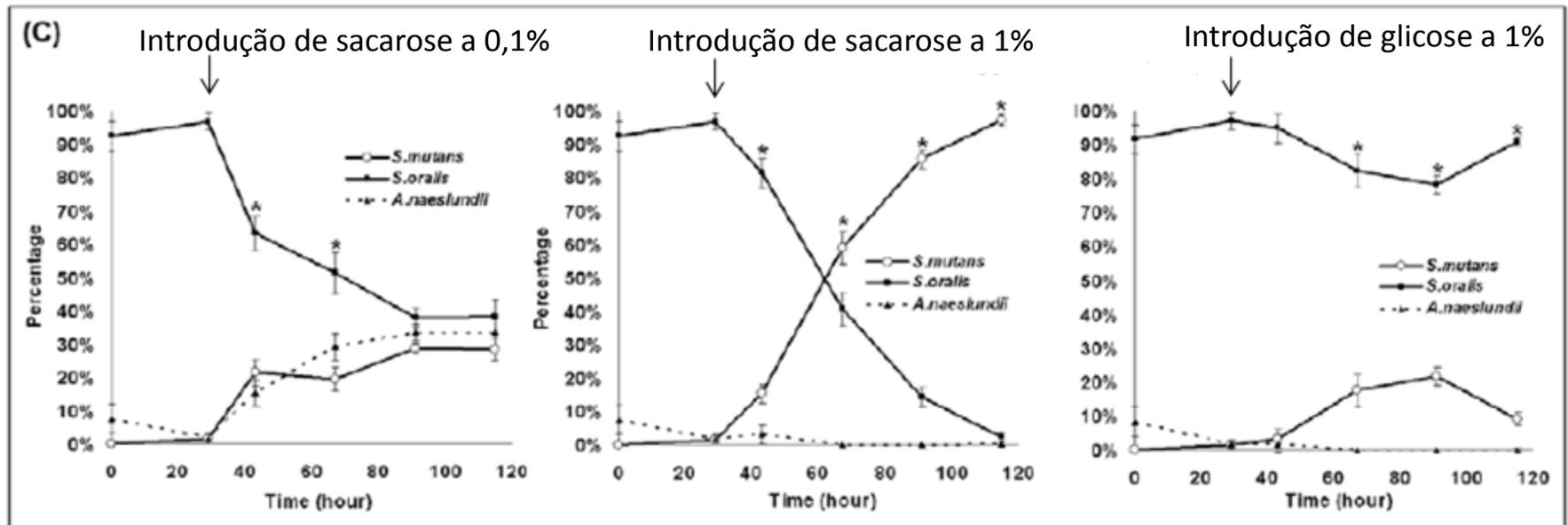
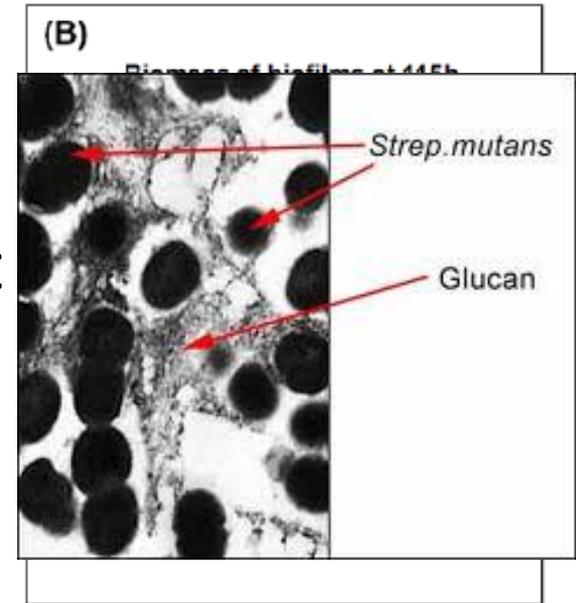
Estudo de Vipeholm
(Suécia)



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

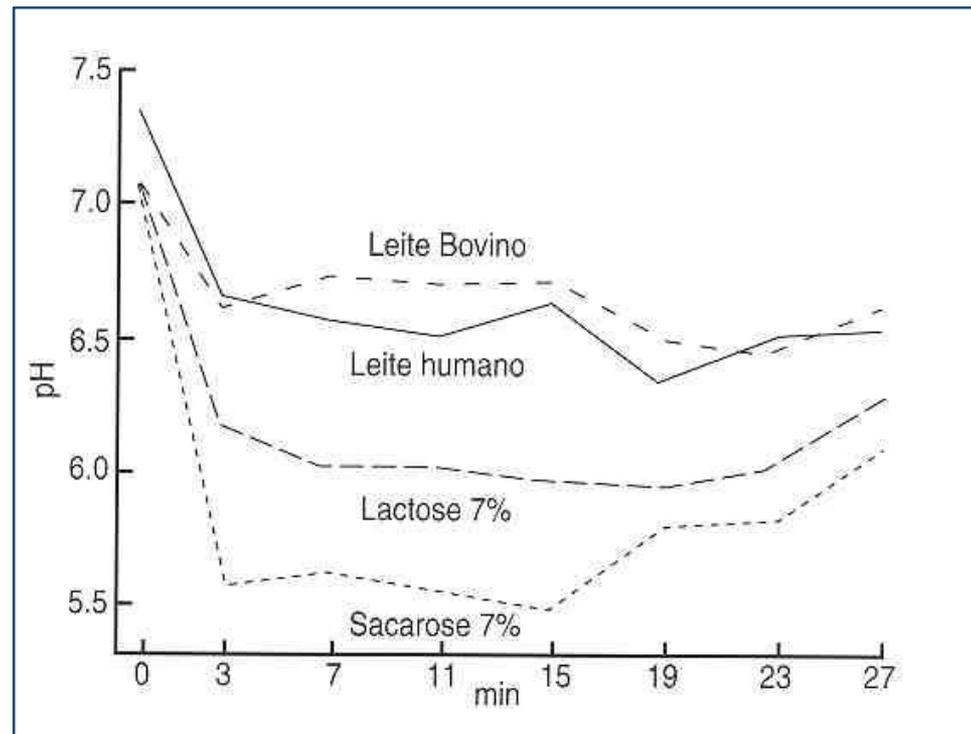
Dinâmica populacional do biofilme após introdução de carboidratos



Fatores que determinam a cariogenicidade dos alimentos

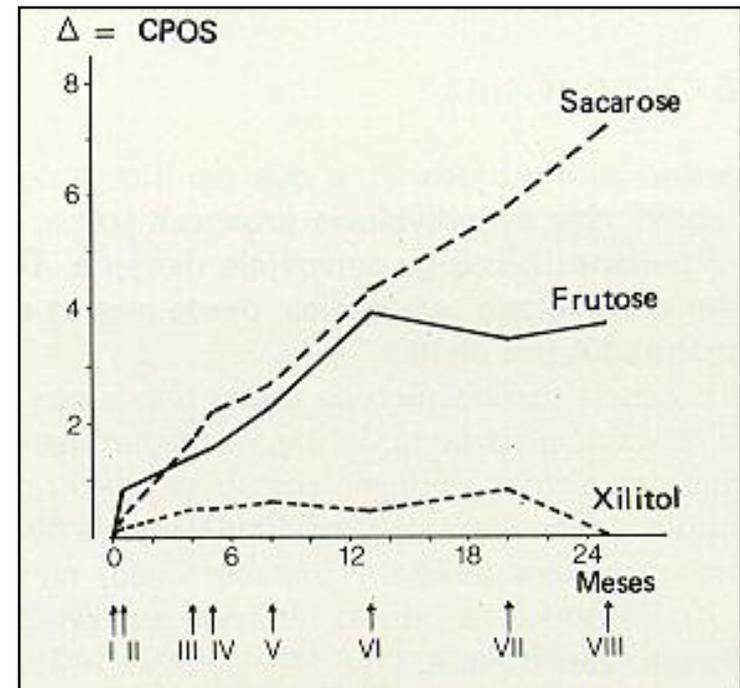
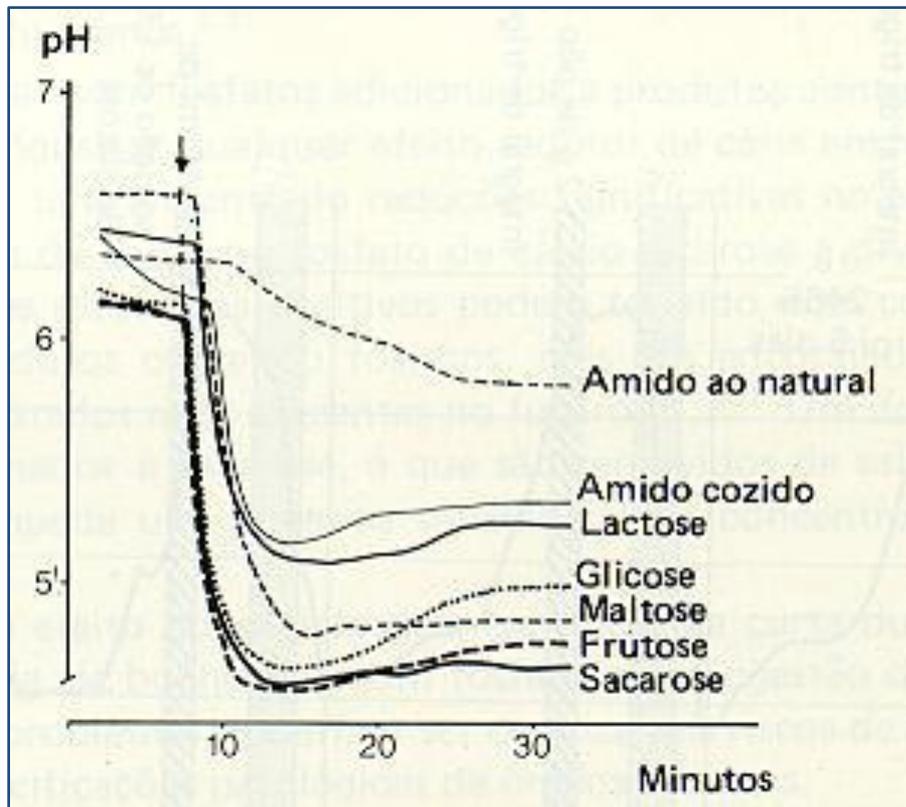
Fatores relacionados aos produtos

Composição do alimento:



Fatores relacionados aos produtos

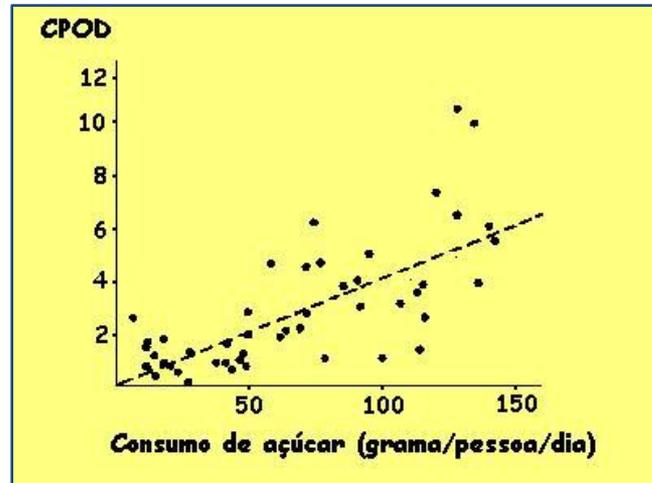
 **Tipo de carboidrato:** sacarose, glicose, frutose, amido, substitutos da sacarose, etc



Fatores relacionados aos produtos

Quantidade de carboidrato

Concentração de carboidratos

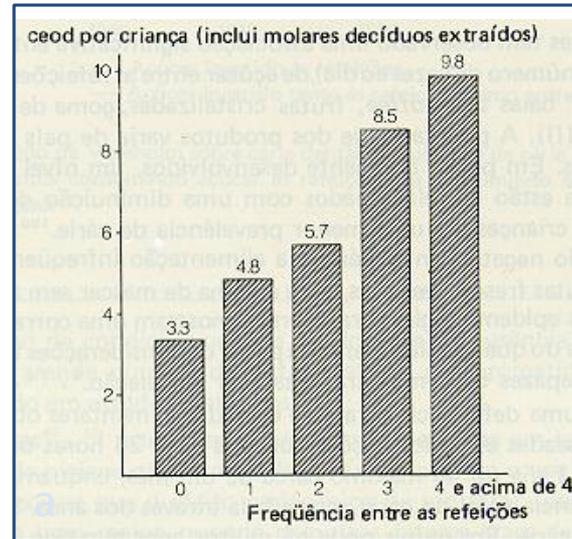


Viscosidade

Resistência à mastigação

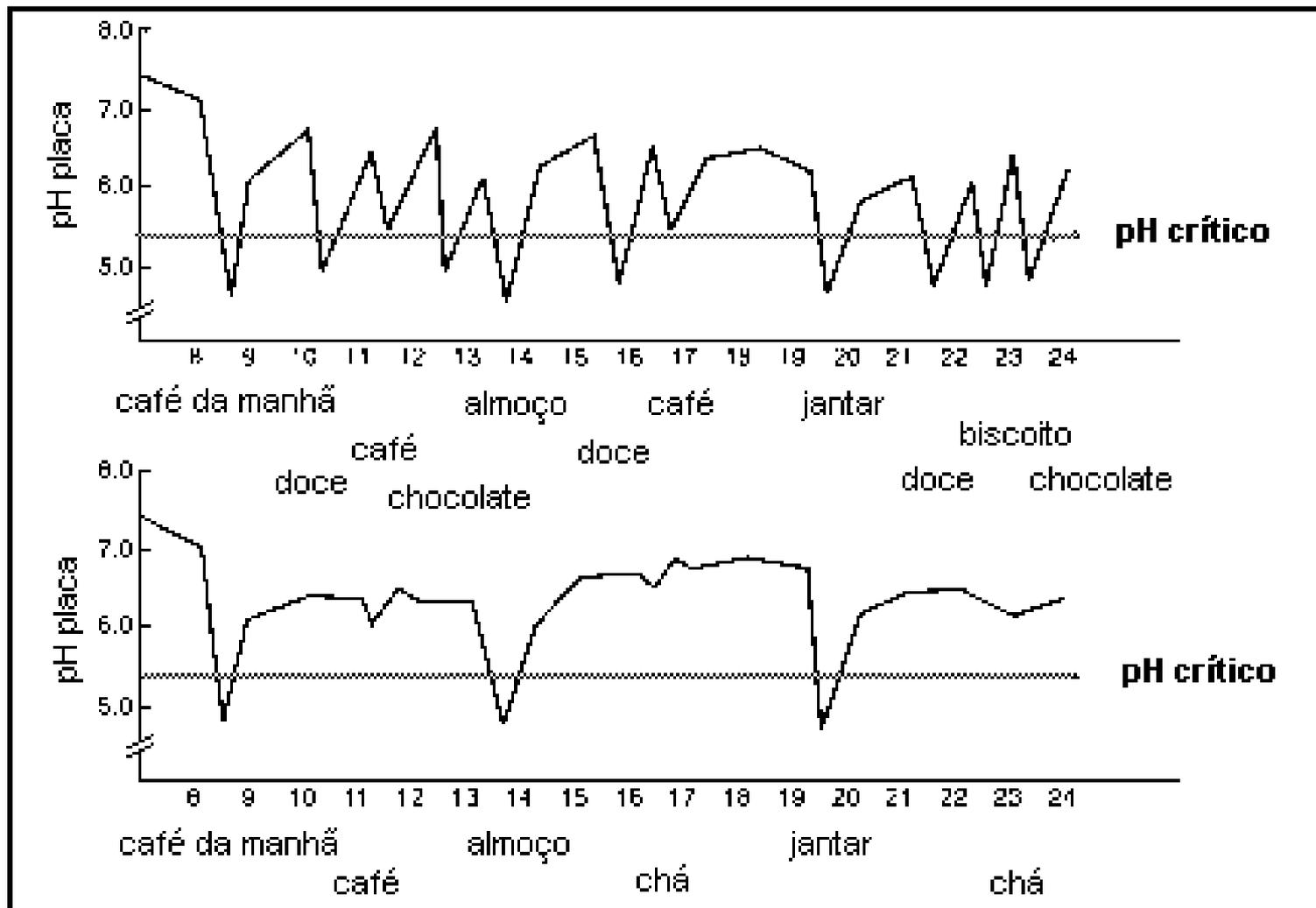
Fatores relacionados ao indivíduo

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

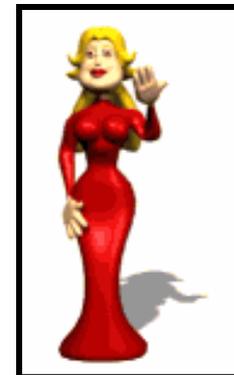
19:30 h – Jantar

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

