

# Microbiota associada à cárie dental

## Aula 1

Placa dental cariogênica

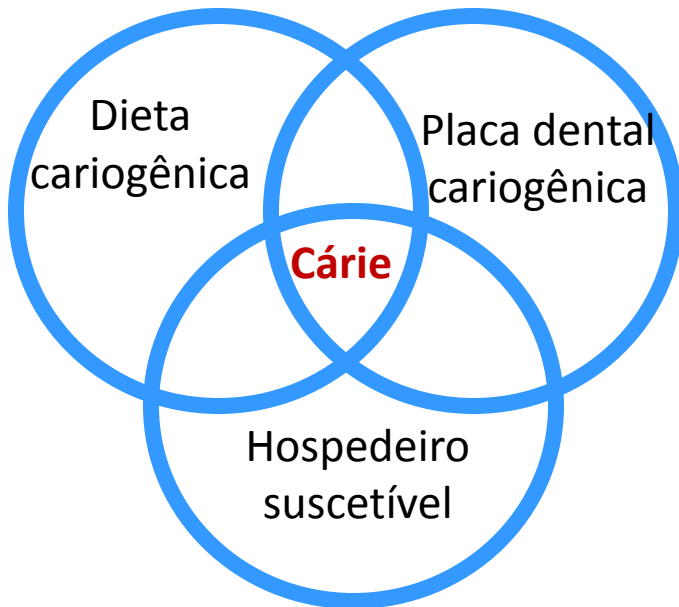
Fatores de virulência de bactérias cariogênicas



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**

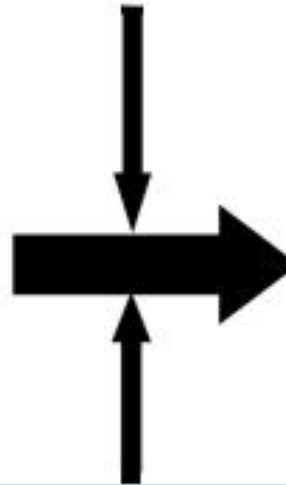
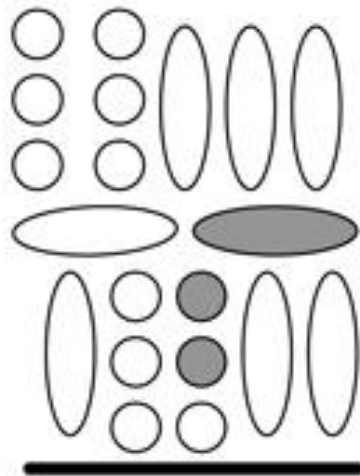
As interações entre **dieta** e **micro-organismo** tem um papel determinante da microbiota que coloniza a cavidade bucal desde o nascimento

# PLACA DENTAL CARIOGÊNICA

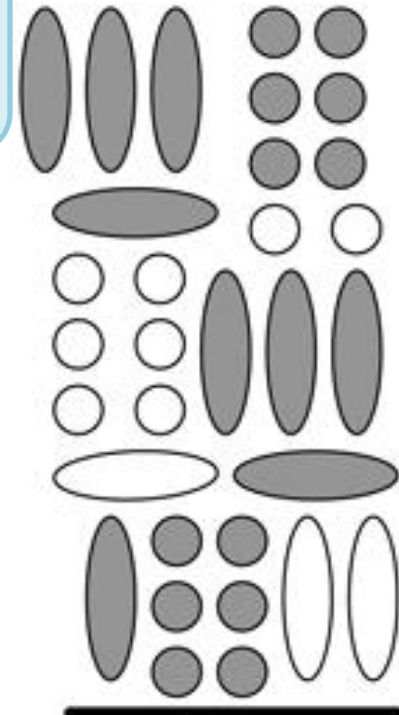
- + Supragengival
- + Composição e espessura ou localização suficientes para retardar a ação do tampão salivar



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**

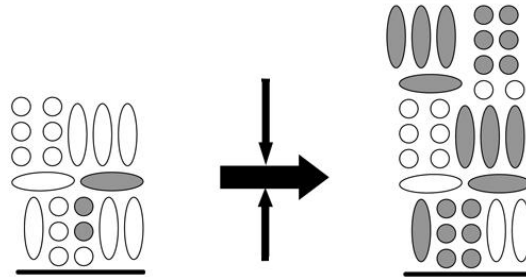
+

**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<br>Agar | Final pH Readings   |                      |                      |                       |                      |                      |                       |
|--|----------------|---------------------|----------------------|----------------------|-----------------------|----------------------|----------------------|-----------------------|
|  |                | pH 5.5 <sup>a</sup> | Initial pH 7.0       |                      |                       | Initial pH 5.5       |                      |                       |
|  |                |                     | Glucose <sup>b</sup> | Sucrose <sup>b</sup> | Fructose <sup>b</sup> | Glucose <sup>b</sup> | Sucrose <sup>b</sup> | Fructose <sup>b</sup> |
| <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

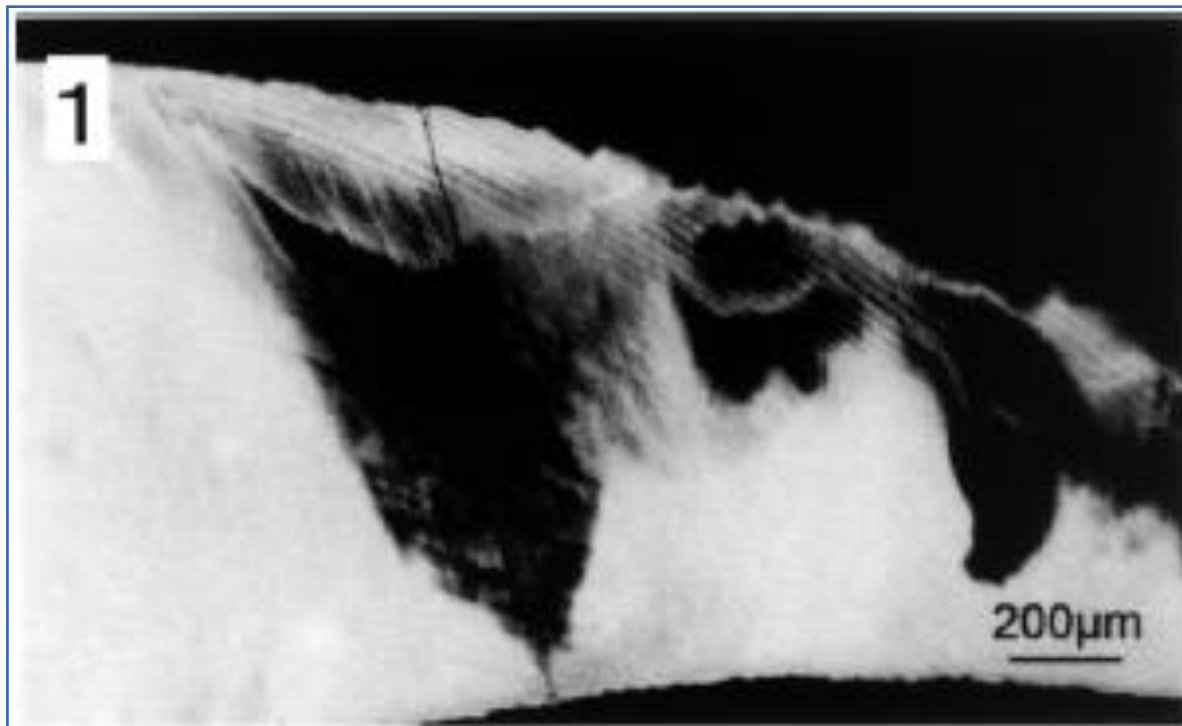
## Estreptococos do grupo mutans

| <b>Espécie</b>              | <b>Hospedeiro</b> |
|-----------------------------|-------------------|
| 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  $\mu\text{m}$  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)

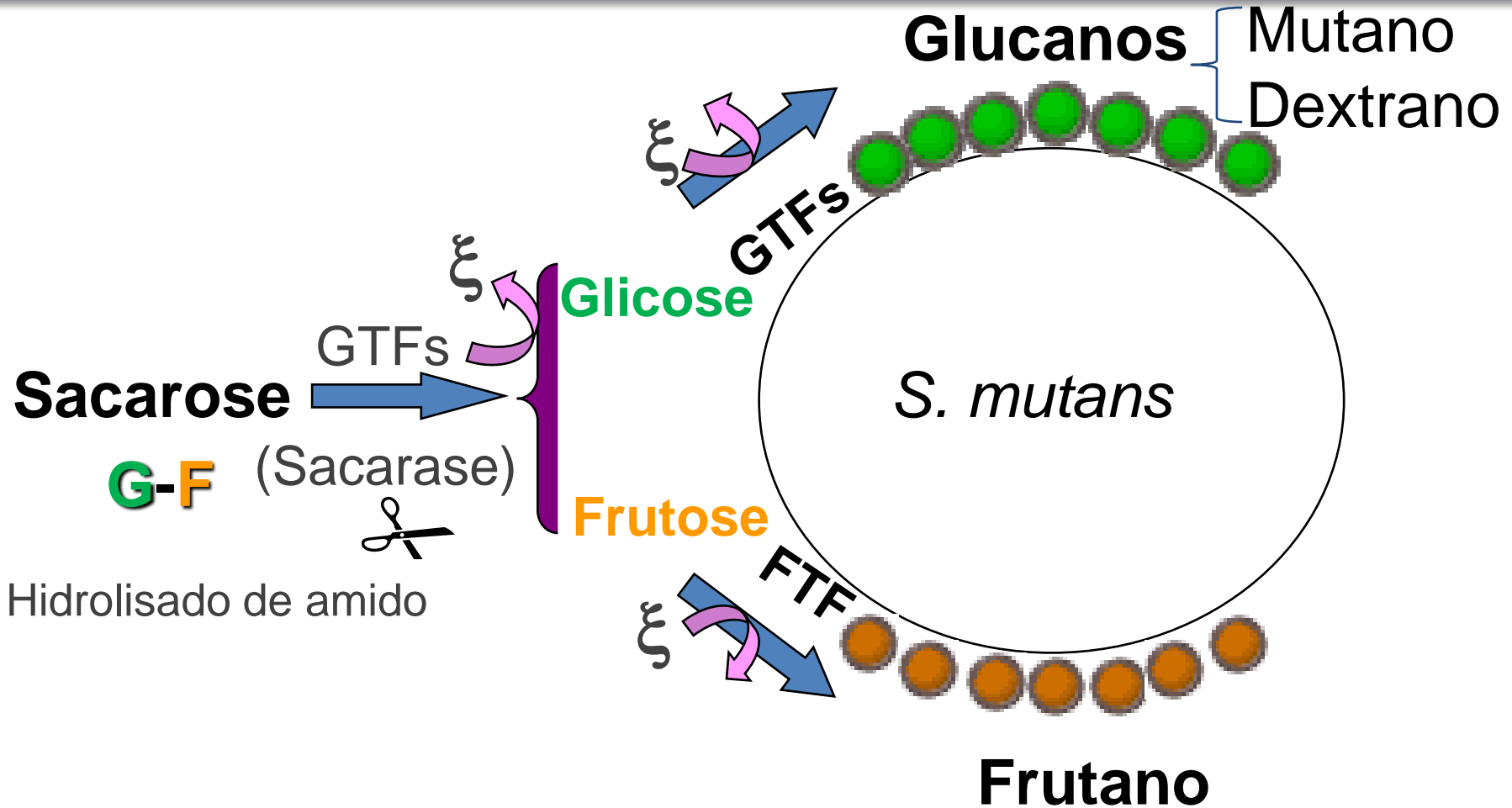
### b) eDNA

- 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)

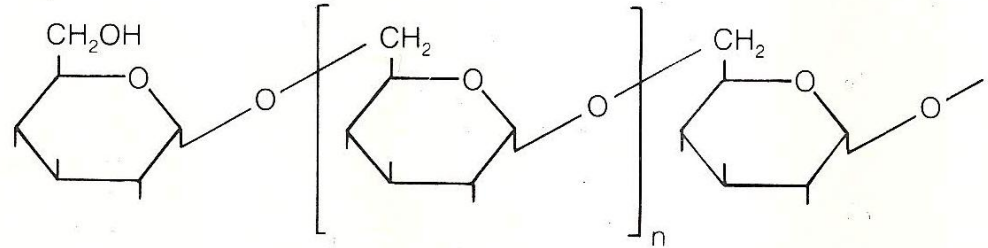
FTF = Frutosiltransferase

# Características dos glucanos

## Dextrano

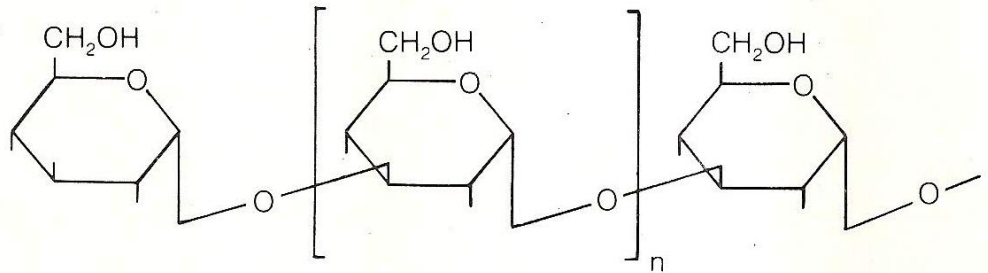
Glucano solúvel

Ligações  $\alpha$ -1,6



Glucano insolúvel

Ligações  $\alpha$ -1,3



## Mutano

*S. mutans*

*S. sobrinus*

Dextrano > Mutano

(Solúvel > Insolúvel)

Mutano > Dextrano

(Insolúvel > Solúvel)

# Gtfs de *S. mutans*

|                   | GtfB   | GtfC  | GtfD   |
|-------------------|--|---|--|
| Afinidade         | <p><b>Superfícies bacterianas</b><br/>e película adquirida</p> <p><i>S. mutans</i><br/><i>A. viscosus</i><br/><i>L. casei</i><br/><i>Candida spp</i></p> <p>converte não produtores de glucano em produtores</p> | <p><b>Película adquirida</b></p> <p>&gt;nº de sítios de ligação à PA que GtfB e D</p> | <p><b>Película adquirida</b></p> <p>poucos sítios de ligação à PA</p>      |
| Glucano produzido | <p>&gt;<b>Insolúvel (mutano)</b><br/><br/>(ligações <math>\alpha</math>-1,3)</p>   | <p>Insolúvel = Solúvel</p>  | <p>&gt;Solúvel (dextranso)<br/><br/>(ligações <math>\alpha</math>-1,6)</p> |

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

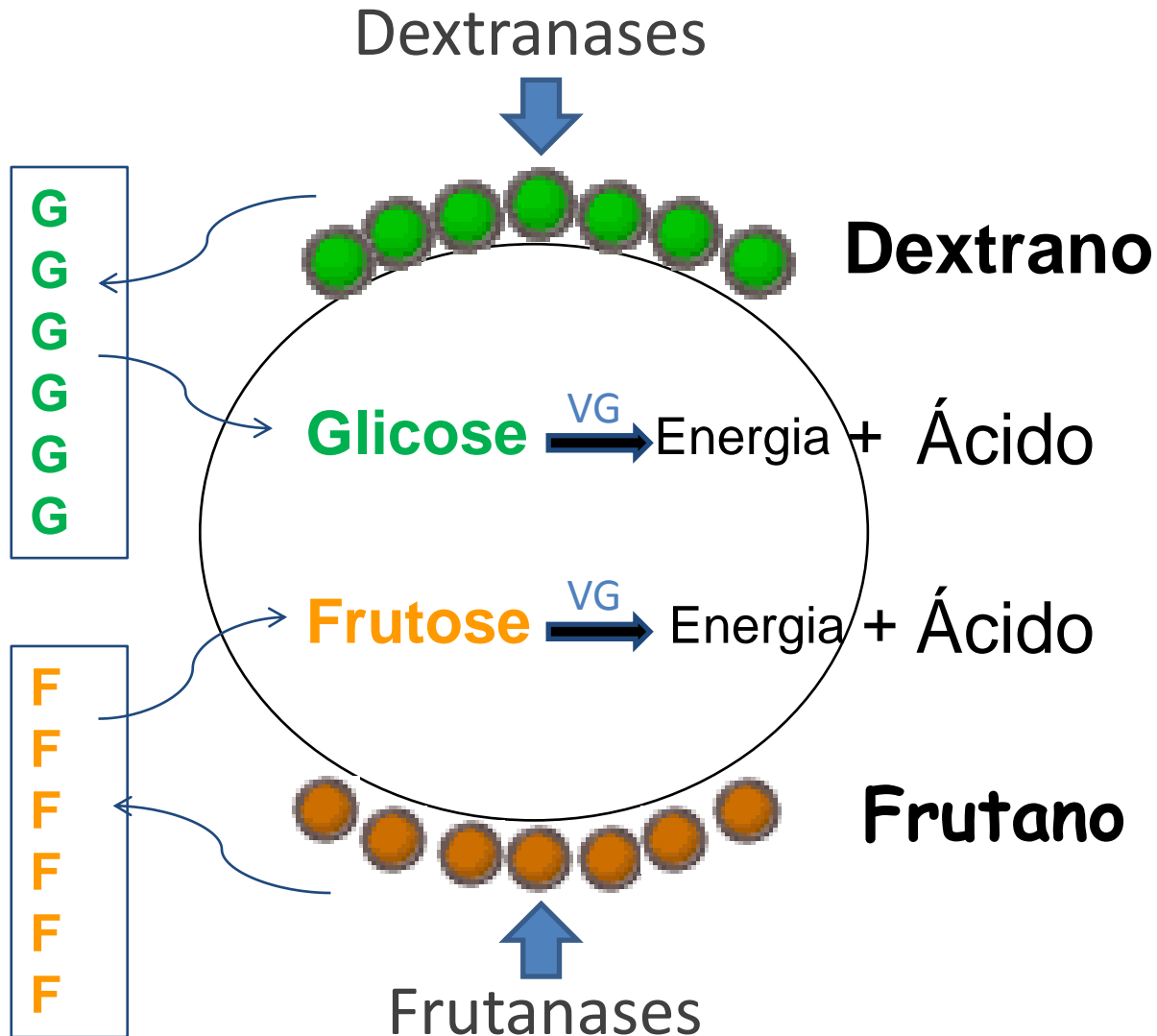
● Podem ser convertidos em ácidos nos períodos entre refeições

(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

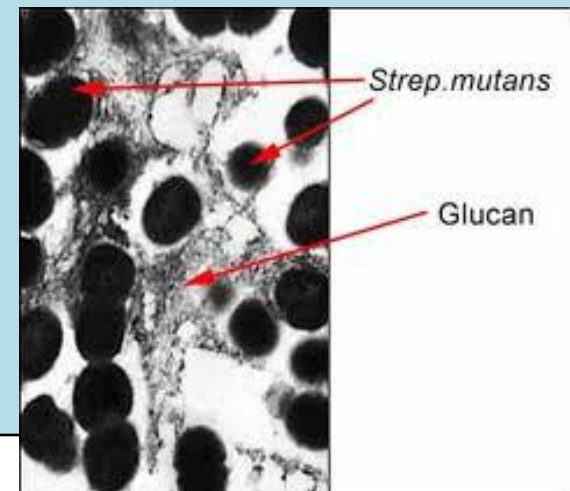
② Apresentam afinidade de ligação

**superfície de *S. mutans*** ou outras bactérias

película adquirida

glucano

③ Produzem glucanos *in situ*

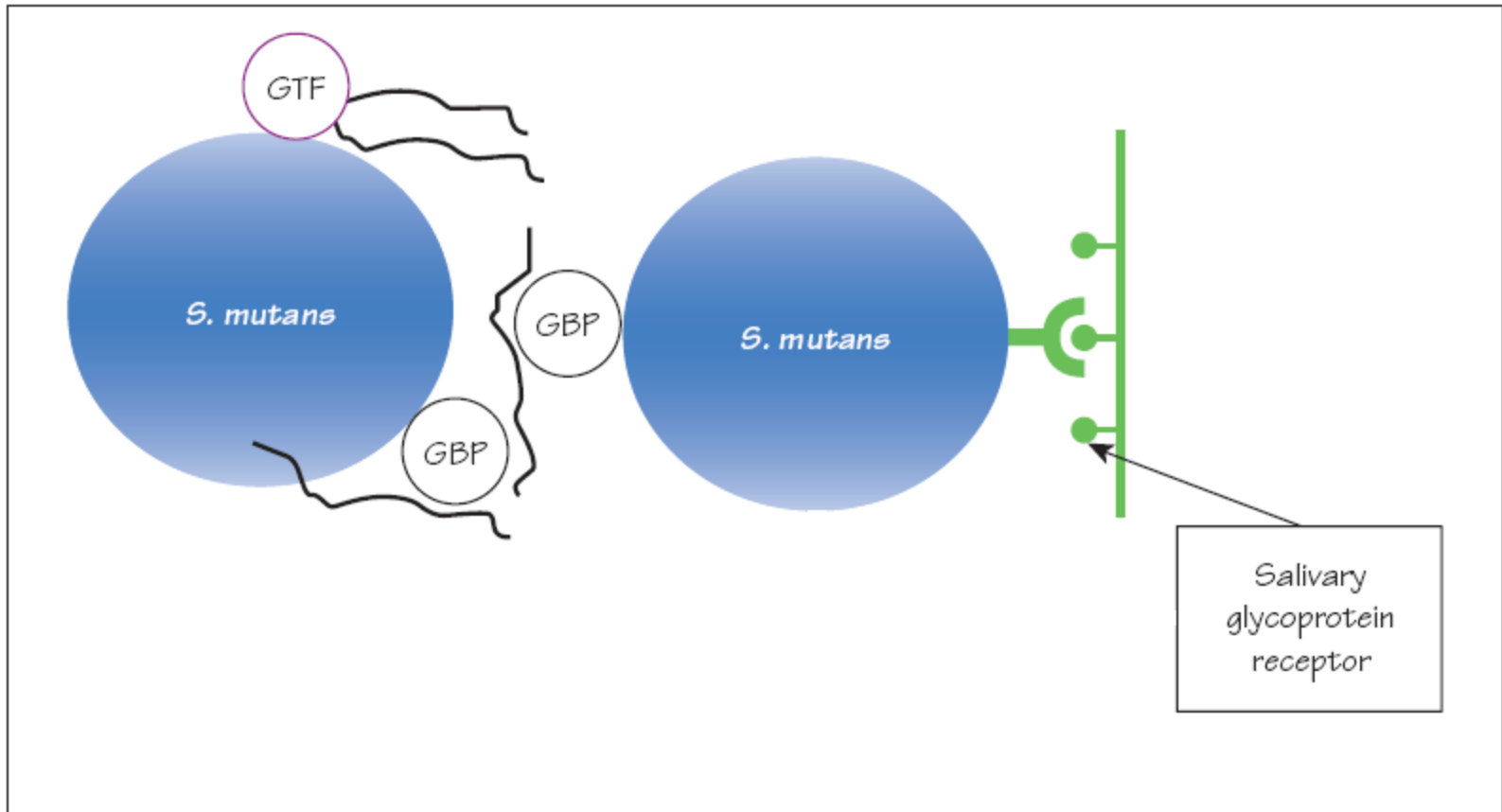


## ② Mecanismos sacarose dependentes

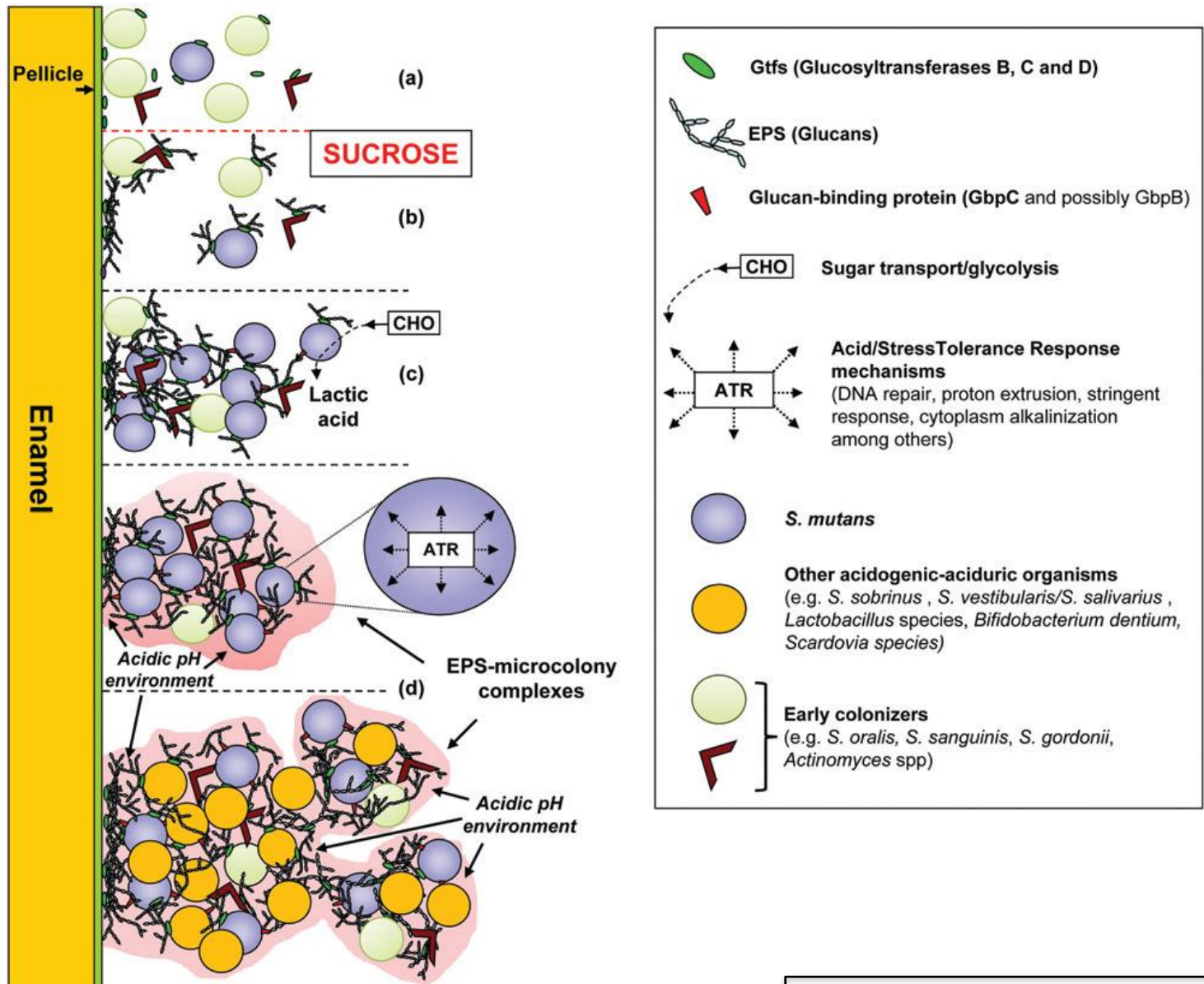
### **Glucan Binding Proteins (GbpA, GbpB, GbpC e GbpD)** (proteínas sem atividade enzimática)

- 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**

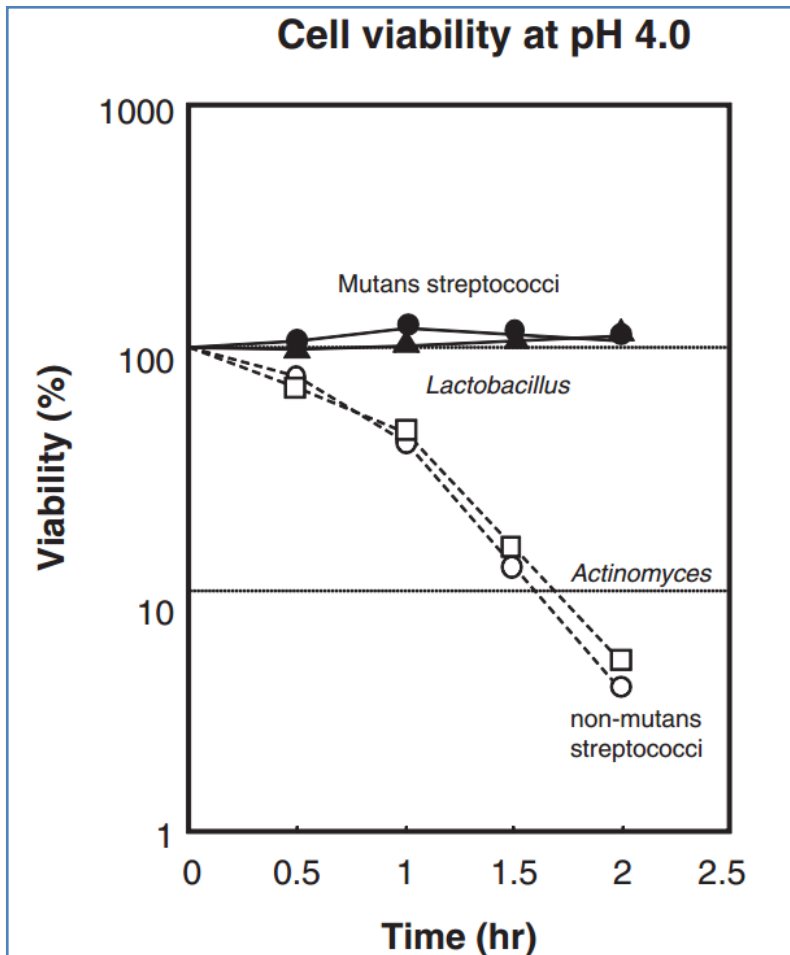
② **Matriz polissacarídica**

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*

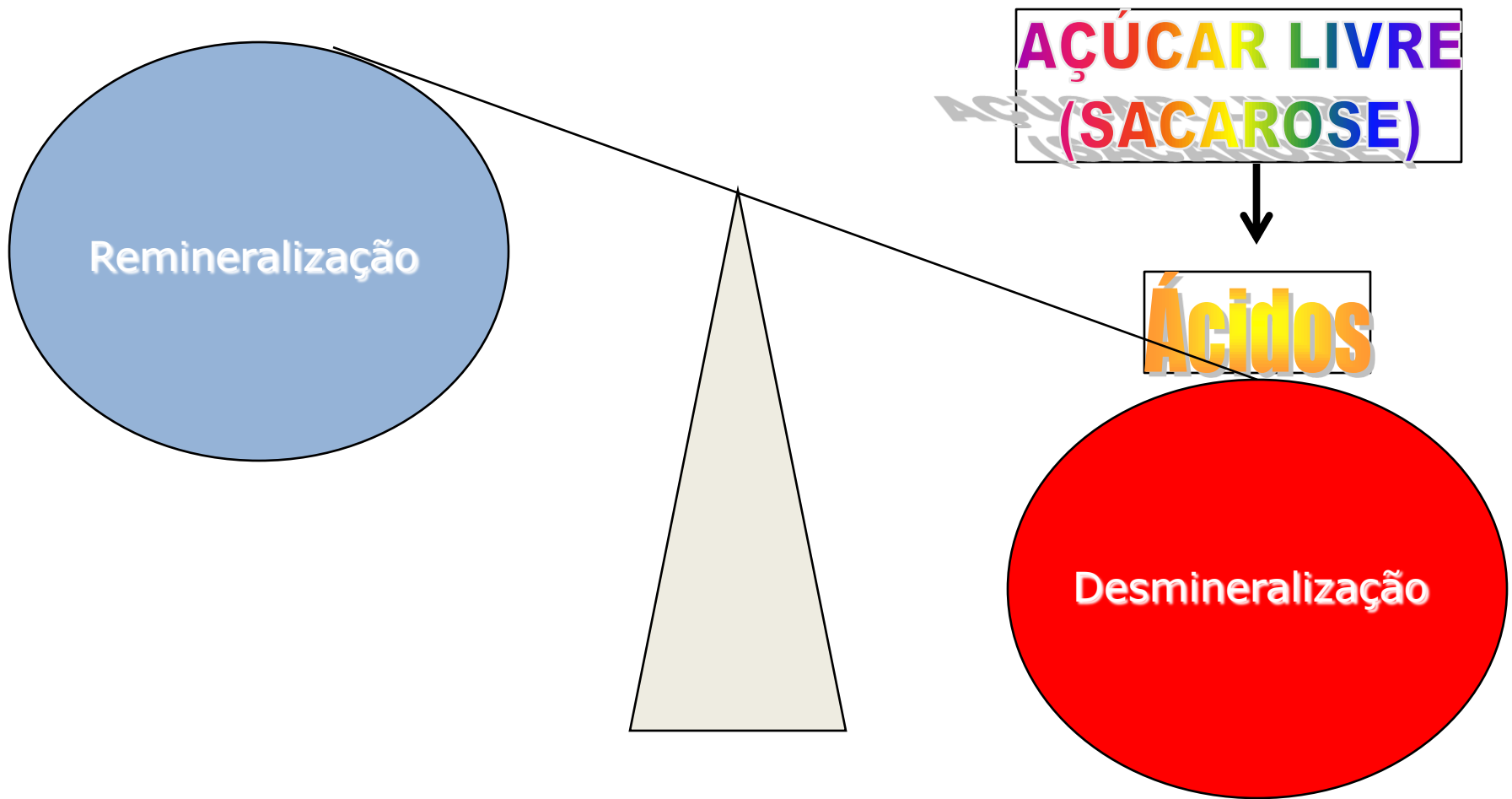
- ☺ extrusão de íons  $H^+$  através do sistema F1-F0 ATPase
- ☺ aumento da proporção de ácidos graxos mono-insaturados na membrana, que diminuem a permeabilidade dos prótons
- ☺ produção de proteínas específicas em resposta ao stress ácido (chaperonas, proteases e proteínas de reparo de DNA)

# 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 Ca - PO<sub>4</sub> da superfície dental (pH < 5,0)
- 5 Desmineralização da superfície dental → CAVITAÇÃO







# Microbiota associada à cárie dental

## **Aula 2**

Suscetibilidade do hospedeiro

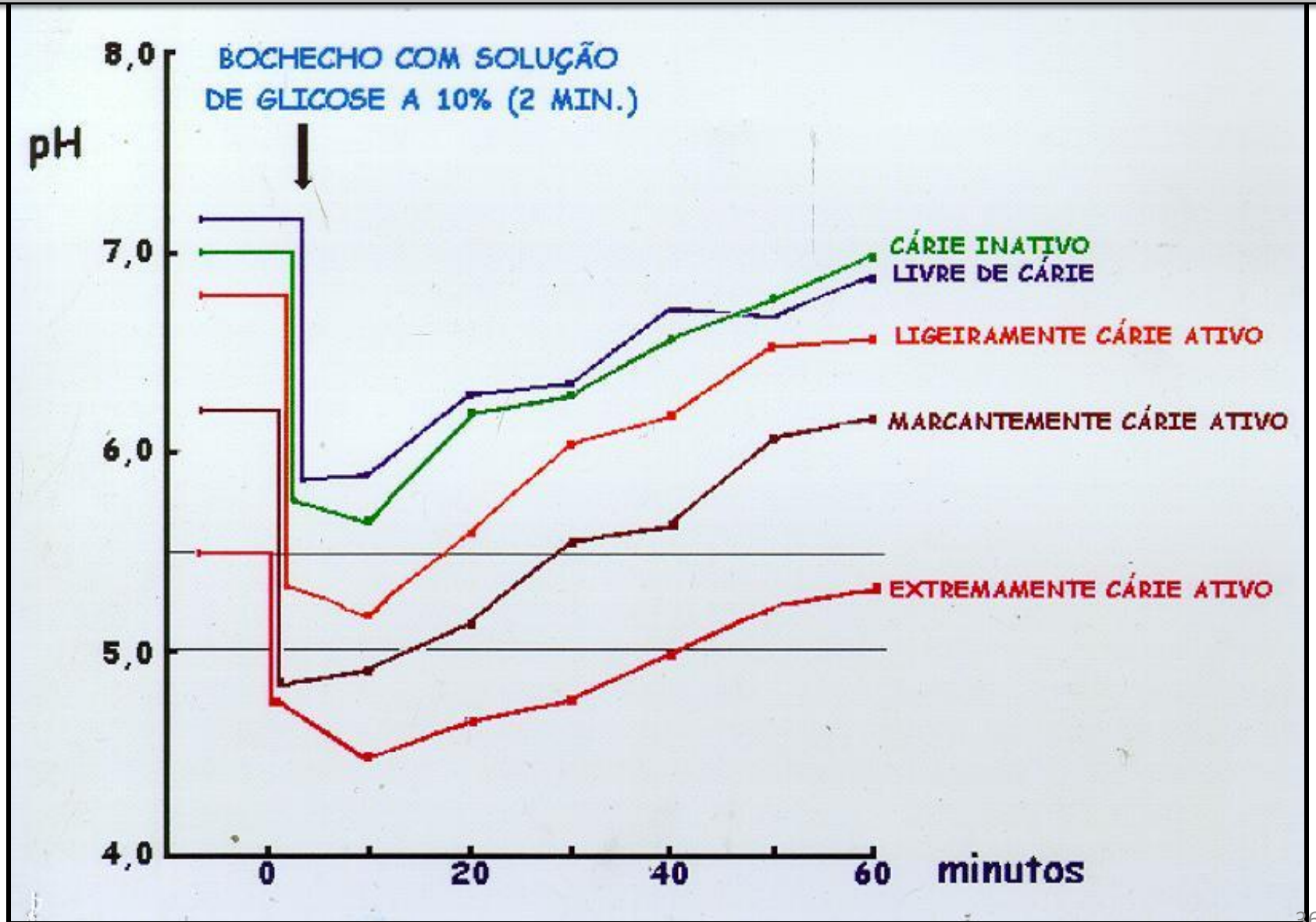
Dieta cariogênica

# 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



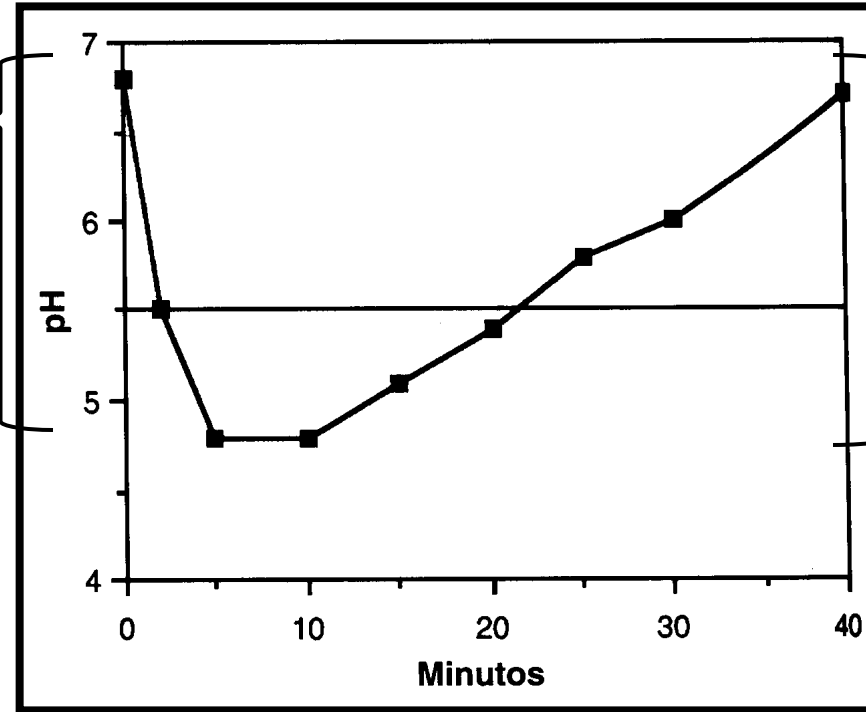
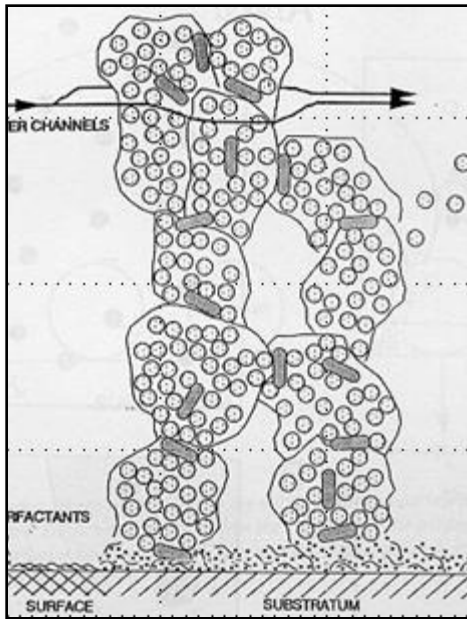
# Curva de Stephan

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

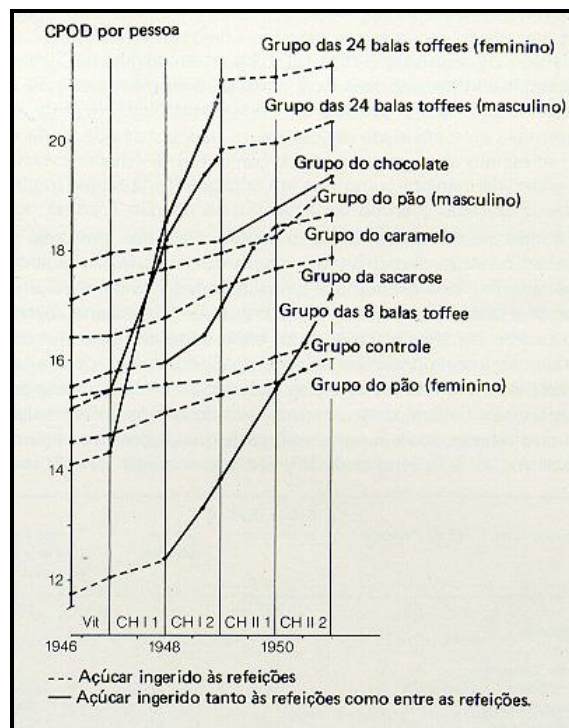
Dentes de crânios antigos exibem cáries cervicais e oclusais, mas são raras as cáries nas superfícies lisas do esmalte.

## ★ 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

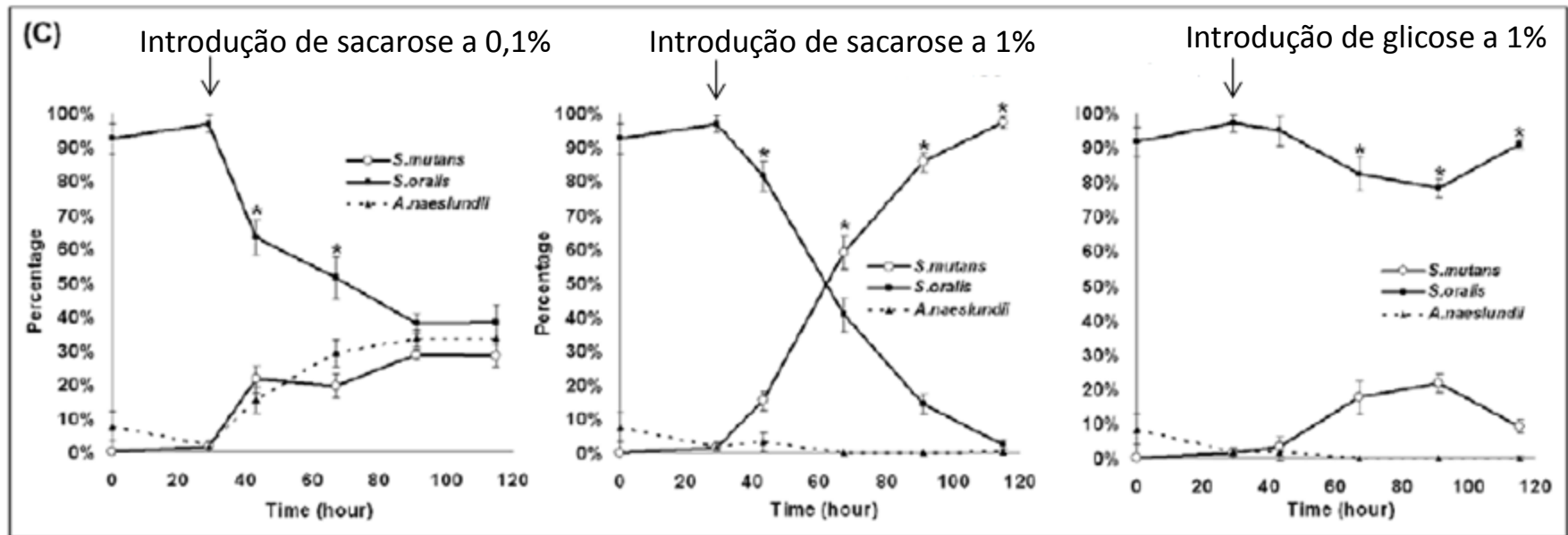
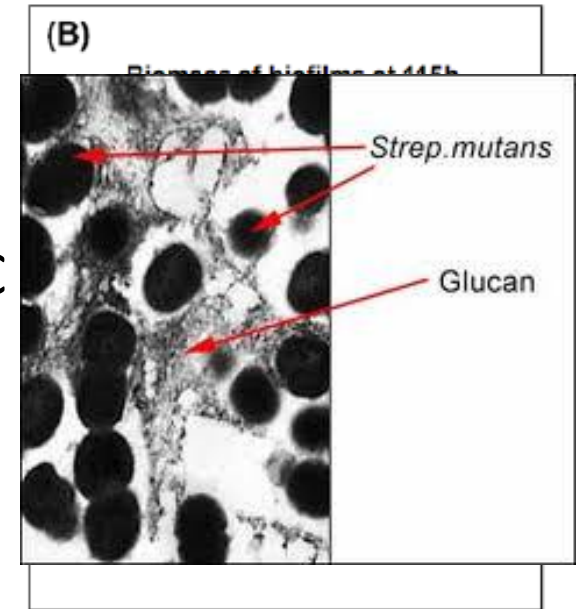
Estudo de Vipeholm  
(Suécia)



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

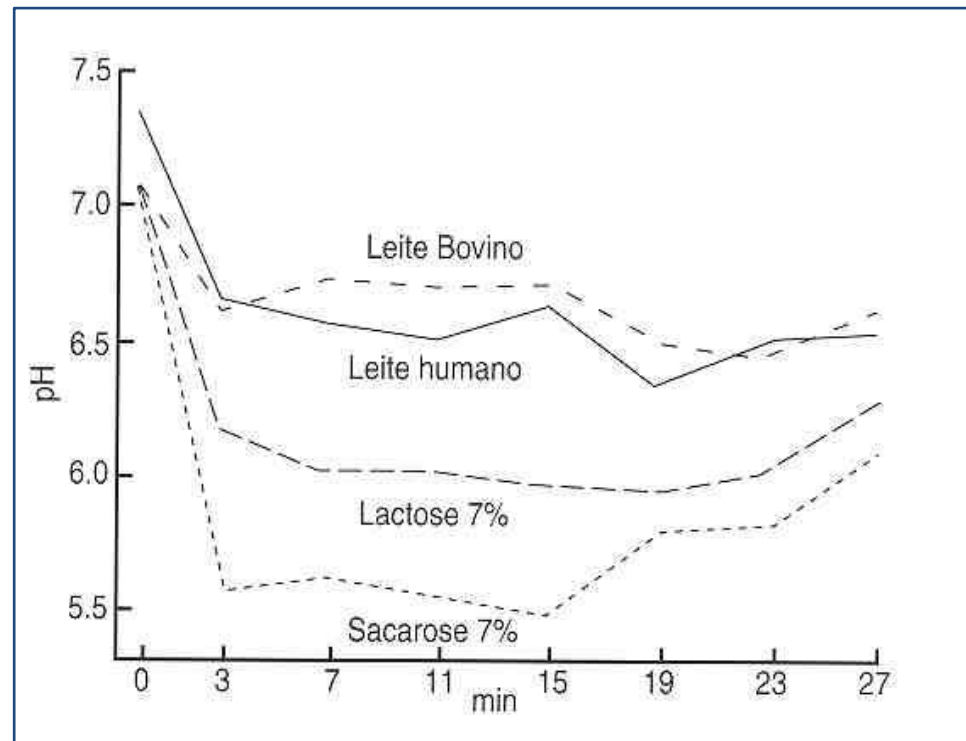
Dinâmica populacional do biofilme após  
introdução de carboidratos




# Fatores que determinam a cariogenicidade dos alimentos

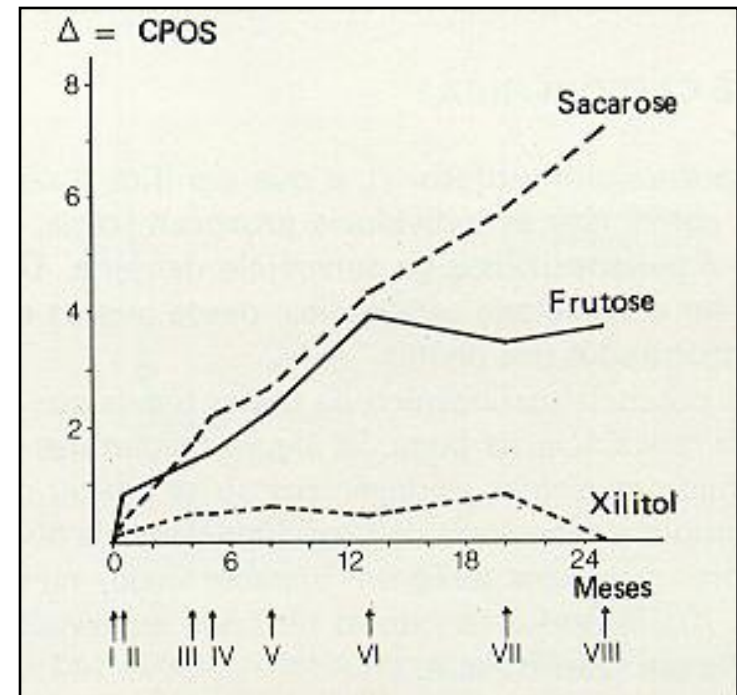
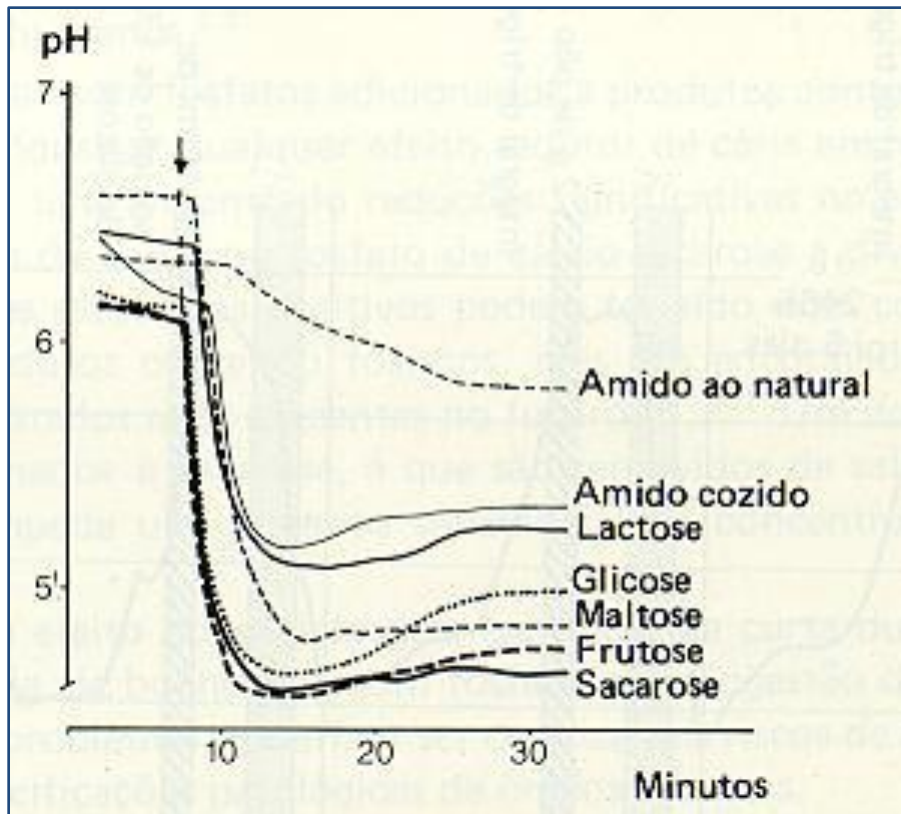
## Fatores relacionados aos produtos

### Composição do alimento:



# Fatores relacionados aos produtos

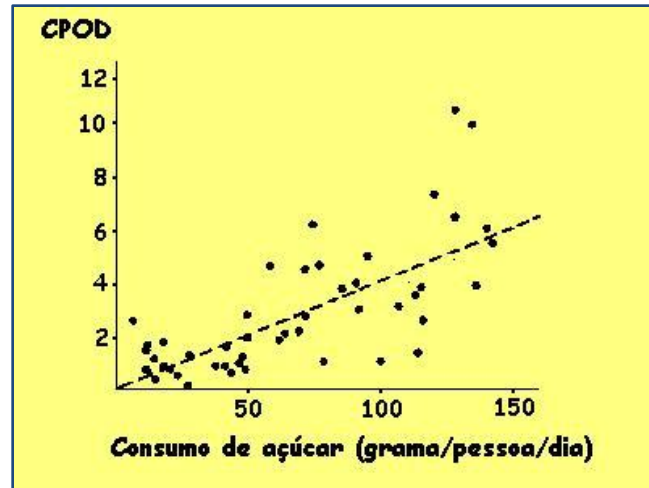
 **Tipo de carboidrato:** sacarose, glicose, frutose, amido, substitutos da sacarose, etc



# Fatores relacionados aos produtos

Quantidade de carboidrato

Concentração de carboidratos

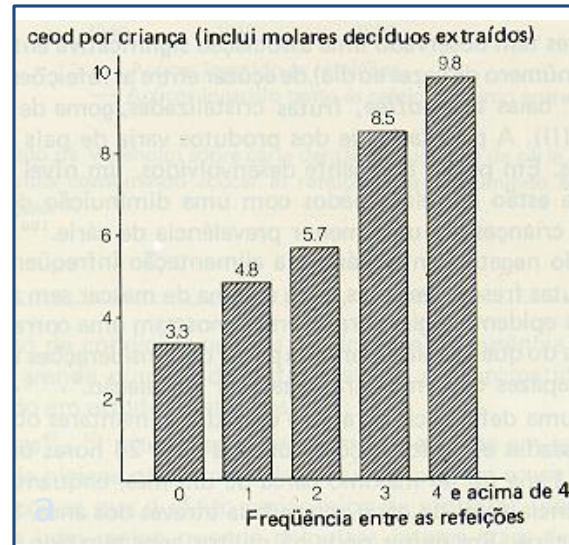


Viscosidade

Resistência à mastigação

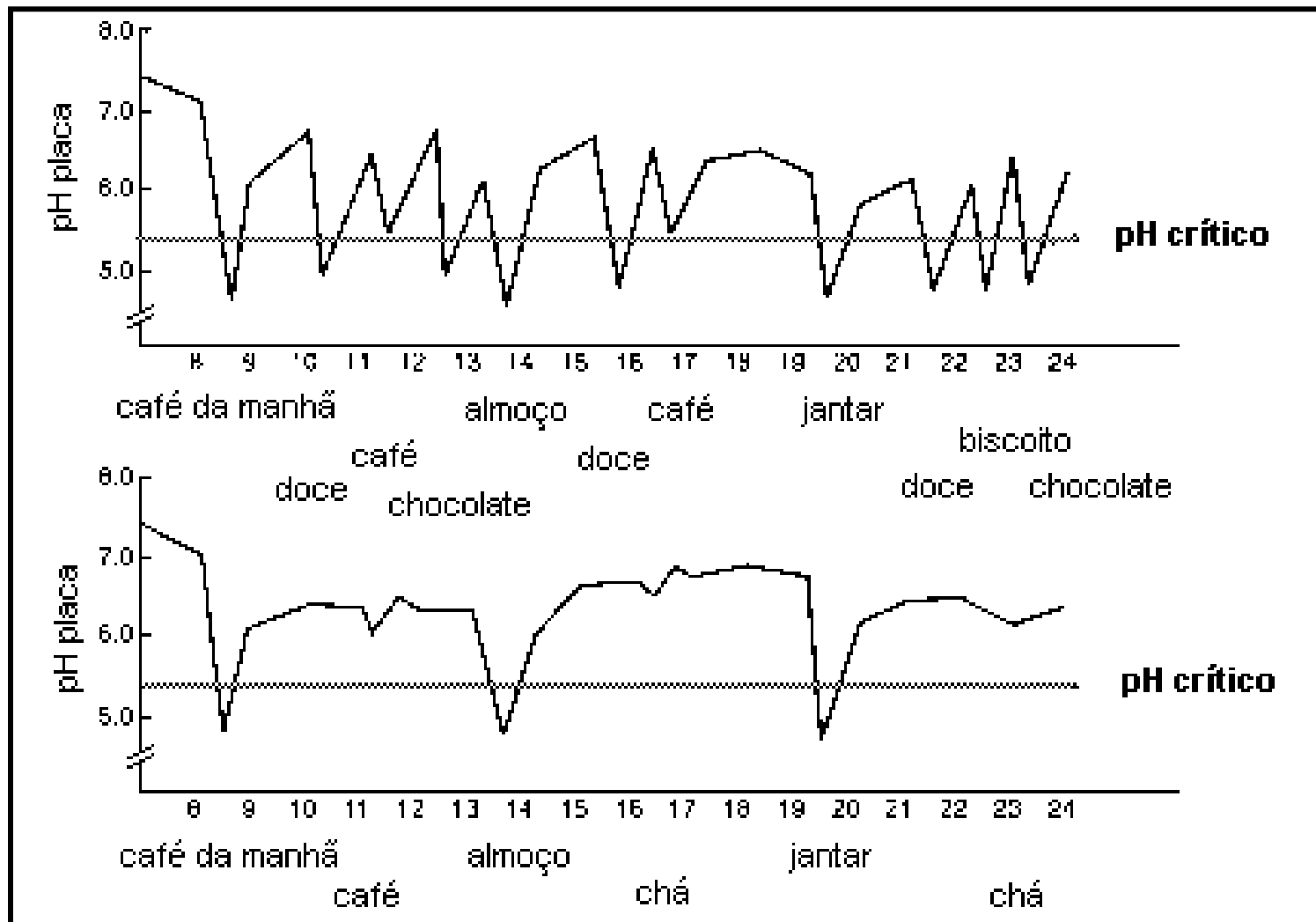
# Fatores relacionados ao indivíduo

## 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

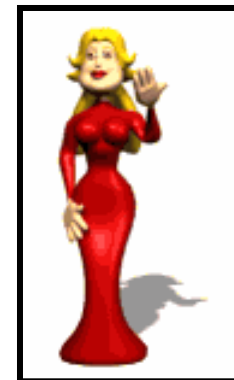
19:30 h – Jantar

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

