

Apostila 3

Disciplina: Pré-Clínica II (DP-201) Aspectos microbiológicos da cárie dental

**Área de Microbiologia e Imunologia
FOP-UNICAMP**

**Profa. Dra. Renata O. Mattos Graner
Prof. Dr. Reginaldo B. Gonçalves
Prof. Dr. José Francisco Höfling
Leandro Moraes Furlan**

Piracicaba 2005

Cárie Dentária

A cárie dentária é definida como uma doença infecciosa multifatorial e transmissível. Embora não atenda todos os postulados de Henle-Koch¹, a cárie dentária é considerada infecciosa, uma vez que depende da infecção por microrganismos cariogênicos específicos. Microrganismos cariogênicos podem ser entretanto, identificados em indivíduos sem sinais clínicos da doença, o que, em parte, ocorre devido à natureza multifatorial da cárie dentária. Como discutimos na apostila 2, muitos microrganismos potencialmente patogênicos fazem parte da microbiota bucal indígena, mas em condições normais, encontram-se em baixos níveis. A doença cárie se desenvolve quando um desequilíbrio nesta comunidade favorece a proliferação de determinados microrganismos patogênicos oportunistas.

O entendimento da natureza infecciosa da cárie é fundamental para o sucesso do seu tratamento. Este tratamento não se refere aos procedimentos restauradores das lesões de cárie, pois estes consistem simplesmente na remoção do tecido dentário destruído e reconstrução do mesmo, através da aplicação de materiais restauradores. A simples restauração das lesões de cárie consiste em tratamento paliativo, de reparo das estruturas dentárias perdidas, enquanto o tratamento efetivo da doença cárie consiste no controle das condições que propiciam a infecção e proliferação de microrganismos cariogênicos na placa dental e o reestabelecimento de uma microbiota indígena comensal. Para isto, é importante compreender a natureza multifatorial da cárie e os mecanismos biológicos envolvidos na patogenia desta doença.

O pesquisador Paul H. Keyes desenvolveu um diagrama que demonstra a natureza multifatorial da cárie. Neste diagrama, observa-se que pelo menos três fatores etiológicos são essencialmente necessários para que a doença cárie se desenvolva (Figura 1). Estes são denominados **fatores etiológicos primários** e são:

- (1) hospedeiro susceptível (com dentes),
- (2) microbiota cariogênica da placa dental,
- (3) substratos da dieta, os quais são metabolizados pelos microrganismos da placa,
- (4) tempo: este quarto fator foi posteriormente acrescentado por Newbrun (20,35), uma vez que os três primeiros precisam estar presentes por um determinado período de tempo, para que a desmineralização progressiva do esmalte ocorra.

¹ Os **postulados de Henle-Koch** foram inicialmente formulados por Henle e adaptados em 1877 por Robert Koch. Estes postulados são comumente referidos como postulados de Koch. Segundo Koch, quatro postulados devem ser comprovados para que se possa estabelecer uma relação causal entre uma bactéria específica (ou outro microrganismo) e uma doença. Os postulados são:

- (1) o microrganismo deve ser isolado de todos os indivíduos atingidos pela doença;
- (2) o microrganismo isolado não deve ser identificado em indivíduos afetados por outras doenças.
- (3) uma vez isolado, este microrganismo deve ser capaz de reproduzir a doença se inoculado em animais de laboratório.
- (4) este microrganismo deve ser novamente re-isolado do animal afetado pela doença. Estes postulados foram posteriormente revisados por Alfred Evans em 1976. Nem todas as doenças infecciosas, no entanto, se encaixam perfeitamente nestes postulados.

Os **fatores etiológicos secundários** são aqueles que, embora não essenciais para que a doença se inicie, podem favorecer a progressão e severidade da mesma (**atividade de cárie**). Os fatores etiológicos secundários são todos aqueles que interferem em cada um dos três fatores primários. Assim, fatores que prejudicam a mineralização dos dentes durante a sua formação e fatores que reduzem o fluxo salivar e as propriedades de defesa da saliva podem ser todos classificados como fatores etiológicos secundários, pois tornam o fator “hospedeiro” mais susceptível à doença. Fatores que tornam a dieta (substrato) mais cariogênica ou que favoreçam a proliferação de microrganismos cariogênicos são todos fatores etiológicos secundários. A aquisição de microrganismos cariogênicos através do contato intenso com a saliva de indivíduos altamente infectados aumenta o risco de infecção.

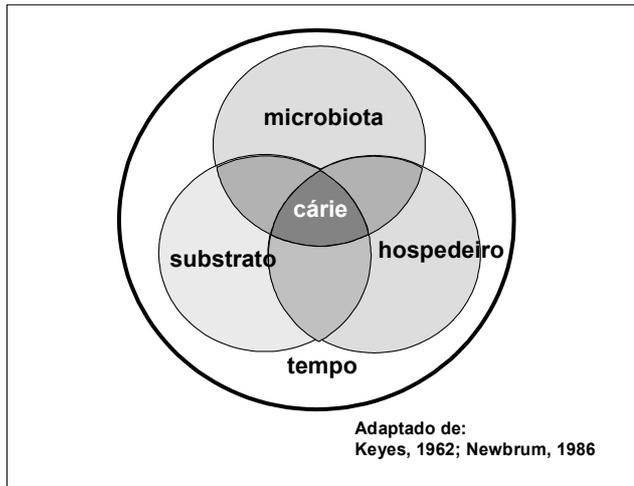


Figura 1. Fatores etiológicos primários da cárie dentária: 1) microbiota da placa dental, 2) substratos (originados principalmente da dieta), 3) hospedeiro susceptível, 4) tempo.

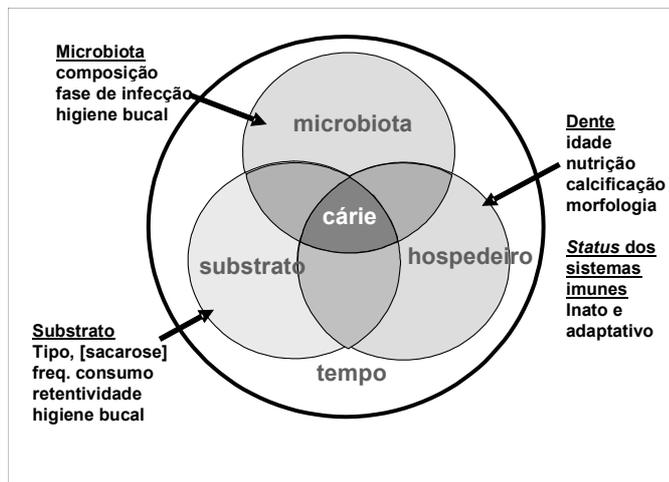


Figura 2. Os fatores etiológicos secundários da cárie dentária são aqueles que potencializam os fatores etiológicos primários, favorecendo a proliferação e virulência da microbiota da placa, aumentando a susceptibilidade do hospedeiro ou potencializando a cariogenicidade da dieta.

2. Patógenos da cárie dentária

A complexa microbiota da placa dental pode conter alguns patógenos da cárie, os quais aumentam em número e proporção, quando sob pressões seletivas específicas. Os principais patógenos envolvidos na etiologia da cárie em humanos são aqueles envolvidos no processo de desenvolvimento inicial de lesões (A). Há outras espécies, as quais, embora sejam pouco capazes de iniciar a doença cárie, podem contribuir para a progressão de lesões estabelecidas (B). Entretanto, estas últimas **não** são agentes causais da cárie, mas podem aumentar em proporção no biofilme, em decorrência dos patógenos principais. As principais espécies envolvidas nestas duas etapas estão listadas abaixo:

(A) Processo de início/estabelecimento de lesão de cárie:

Estreptococos do grupo mutans, os quais incluem as espécies *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sobrinus*, exclusivamente detectadas em humanos. A espécie *S. mutans* é drasticamente a mais prevalente e a mais amplamente estudada. A espécie *S. sobrinus* é a segunda espécie mais comum. Outras espécies identificadas em animais, como a espécie *S. rattus*, também foram detectadas em humanos, porém em menor frequência e restrita a algumas populações específicas (21).

(B) Processo de progressão de lesões de cárie estabelecidas

Incluem *Lactobacillus spp.*, *Actinomyces spp.* e outros microrganismos capazes de sobreviver e proliferar em meios ácidos, como por exemplo, o fungo *Candida albicans*. Geralmente, estes microrganismos são favorecidos pelas condições cariogênicas promovidas por estreptococos do grupo mutans. Entretanto, a atuação destes parece se limitar à progressão de lesões. A atuação de espécies do gênero *Actinomyces* como agente causal (A) e/ou na progressão de lesões de cárie (B) é ainda controverso.

3. Natureza infecciosa da cárie dentária

A natureza infecciosa transmissível da cárie dentária causada por estreptococos do grupo mutans foi demonstrada através de experimentos em ratos e hamsters, realizados por pesquisadores americanos, Paul H. Keyes e Robert J. Fitzgerald, a partir dos anos 50. Através destes estudos, estes pesquisadores demonstraram que a cárie é de fato uma doença infecciosa, transmissível, causada por microrganismos descritos pela primeira vez em 1924, por Clarke, na Inglaterra, os *Streptococcus mutans* (10,14,32). A Figura 3 ilustra os principais experimentos realizados por estes pesquisadores.

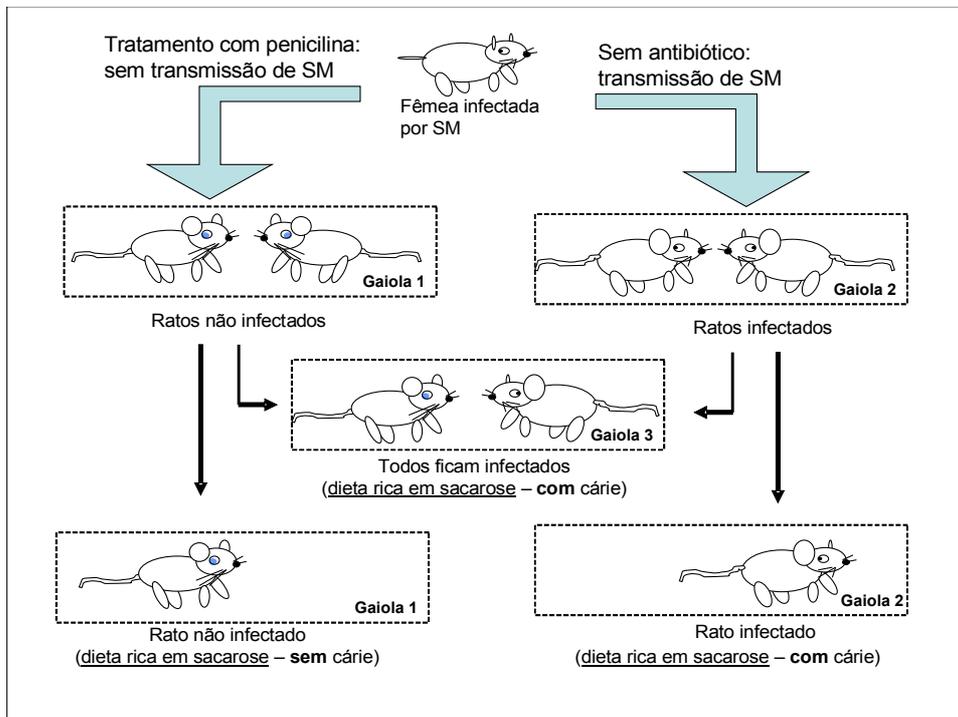


Figura 3. Esquema dos principais experimentos em ratos e hamsters realizados por Paul H. Keyes e Robert J.Fitzgerald, para demonstrar que a cárie dentária é uma doença infecciosa transmissível, causada por estreptococos do grupo mutans (SM). Filhotes não infectados por SM não são infectados ao serem mantidos na mesma gaiola que a mãe infectada por SM, se esta for previamente tratada com antibiótico antes do contato com os filhotes (gaiola 1). Estes filhotes não desenvolvem cárie, mesmo se receberem uma dieta rica em sacarose. Por outro lado, os filhotes de fêmeas infectadas e não tratadas com antibióticos são infectados por SM ao serem mantidos na mesma gaiola das mães (gaiola 2). Estes animais desenvolvem muitas lesões de cárie ao receberem uma dieta rica em sacarose. Filhotes de fêmeas tratadas com antibiótico são infectados com SM se mantidos na mesma gaiola dos filhotes das fêmeas não tratadas (gaiola 3), sendo que todos desenvolvem cárie se submetidos a uma dieta rica em sacarose. A transmissão de estreptococos do grupo mutans ocorre pela saliva, mas em ratos e hamsters ocorre também através da coprofagia (ingestão das fezes).

Por causa das evidências de que *S. mutans* é o principal patógeno responsável pelo desenvolvimento da cárie dentária, esta é atualmente uma das espécies mais pesquisadas. Uma cepa de *S. mutans*, isolada pelo grupo do pesquisador Page W. Caufield de uma criança americana com altos índices de cárie na Universidade do Alabama (a cepa UA159, de University of Alabama, E.U.A.) em 1982, foi selecionada para seqüenciamento do seu genoma. A seqüência do genoma da cepa *S. mutans* UA159 foi publicada no ano de 2002, na revista científica *Proceedings of the Natural Academy of Science* (1). Os dados do genoma estão disponíveis para toda a comunidade científica no banco de dados público *GenBank*, sendo que qualquer pessoa pode acessá-lo através do site do *National Center for Biotechnology Information* (NCBI) (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genomes/lproks.cgi>), criado pelo governo americano. Hoje, qualquer um de nós pode consultar o código genético desta espécie patogênica. O genoma de *S. mutans* é organizado em um único cromossomo circular que consiste de aproximadamente 2,03 milhões de pares de base (Mb). Neste cromossomo, foram identificados um total de 1.960 genes que codificam proteínas e 80 genes que codificam RNAs ribossômicos e RNAs transportadores. Diversos estudos científicos têm sido realizados para analisar a participação de vários genes de *S. mutans* nas suas

características de virulência. Alguns dos principais fatores de virulência serão abordados a seguir.

4. Fatores de virulência dos microrganismos cariogênicos

Os fatores de virulência podem ser definidos como as características que tornam um microrganismo patogênico. Assim, o estudo dos fatores de virulência de bactérias cariogênicas tem contribuído para a compreensão dos mecanismos moleculares da patogenia da cárie. Somente conhecendo estes mecanismos é que poderemos definir estratégias para controle efetivo da cárie dental. Atenção especial tem sido dada à pesquisa da espécie *S. mutans*, pois esta é a espécie mais prevalente, com capacidade de iniciar a doença.

4.1 Fatores de virulência de *Streptococcus mutans*.

Para iniciar o processo de cárie, *S. mutans* precisam de um conjunto de fatores de virulência que os tornem capazes de colonizar e de aumentar em proporção na placa dental cariogênica, produzindo e tolerando grandes quantidades de ácidos, os quais promovem a desmineralização progressiva dos tecidos dentários, e conseqüentemente, a perda irreversível de tecido dentário. Os principais fatores de virulência de *S. mutans* são descritos a seguir.

4.1.1 Acidogenicidade

A acidogenicidade consiste na capacidade de produção de ácidos a partir da fermentação de carboidratos. Como vimos na Apostila 1, diversos microrganismos comensais ou patogênicos são capazes de produzir ácidos a partir da fermentação de açúcares. Entretanto, a espécie *S. mutans* é capaz de metabolizar a maior variedade de carboidratos entre todas as espécies de bactérias Gram-positivas sequenciadas até o momento ((1). *Streptococcus mutans* apresentam diversos maquinários enzimáticos capazes de transportar diferentes açúcares para o interior da célula. Estes sofrem processo de fermentação e há produção de ácidos, principalmente o ácido láctico. *S. mutans* apresenta pelo menos 14 sistemas de transporte fosfotransferases (PTS, de *phosphotransferase system*) específicos para diferentes açúcares (1). Os sistemas PTS consistem de duas proteínas inespecíficas (IIa e IIb) de transferência de energia, uma enzima I, uma proteína estável ao calor (HPr, de *heat-stable protein*) e uma enzima II específica para o açúcar a ser transportado (Enzima IIc), a qual é uma permease específica (Figura 4). Além dos sistemas PTS, *S. mutans* apresentam 5 sistemas de transporte do tipo ABC (de *ATP-binding cassette*) (Figura 5), incluindo-se o sistema de metabolismo de múltiplos açúcares (*MSM*, de *multiple sugar metabolism*).

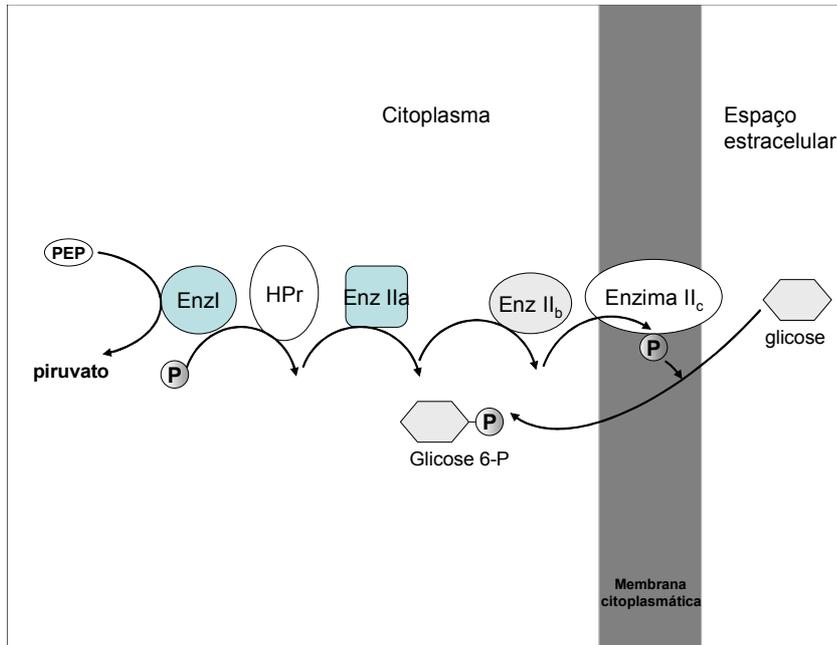


Figura 4. Representação esquemática de um sistema fosfotransferase (PTS). Estes sistemas são compostos por uma enzima transmembranica (Enzima II_c), a qual é específica para o tipo de açúcar a ser transportado (no exemplo, glicose) e deve estar fosforilada (P), para transportar através da membrana e fosforilar o substrato translocado. A Enzima II_c é fosforilada através de um processo intracelular em cascata, o qual se inicia pela transferência do P originado da conversão do fosfoenolpiruvato (PEP) em piruvato, por uma Enzima I. O P é então transferido, através da proteína HPr, para a Enzima II_a e desta, para a Enzima II_b, e finalmente, para a Enzima II_c. Notar que a glicose foi fosforilada ao ser transportada através da membrana

É importante lembrar que as bactérias da placa dental precisam se adaptar às drásticas variações nas concentrações de nutrientes disponíveis. Durante o dia, há períodos de baixa concentração de açúcares e períodos em que as concentrações de açúcares são extremamente altas, advindas da dieta. Nestas fases, a concentração de açúcares na placa pode abruptamente subir cerca de 10.000 vezes e muitas bactérias morrem por um processo denominado “morte acelerada pelo substrato”. Para enfrentar esta condição de estresse, *S. mutans* e outras espécies de estreptococos bucais desenvolveram mecanismos sofisticados de transporte de açúcares, glicólise e reserva de carboidratos (vide PICs). *S. mutans* é a espécie com capacidade para transportar e metabolizar diversos açúcares, incluindo-se a glicose, frutose, sacarose, lactose, galactose, manose, celobiose, rafinose, melibiose, matose/maltodextrose, ribulose, trealose, β-glucosídeos, isomaltossacarídeos e amido (1). Além disto, *S. mutans* são capazes de converter açúcares alcoólicos, como sorbitol e manitol, em intermediários para a fermentação.

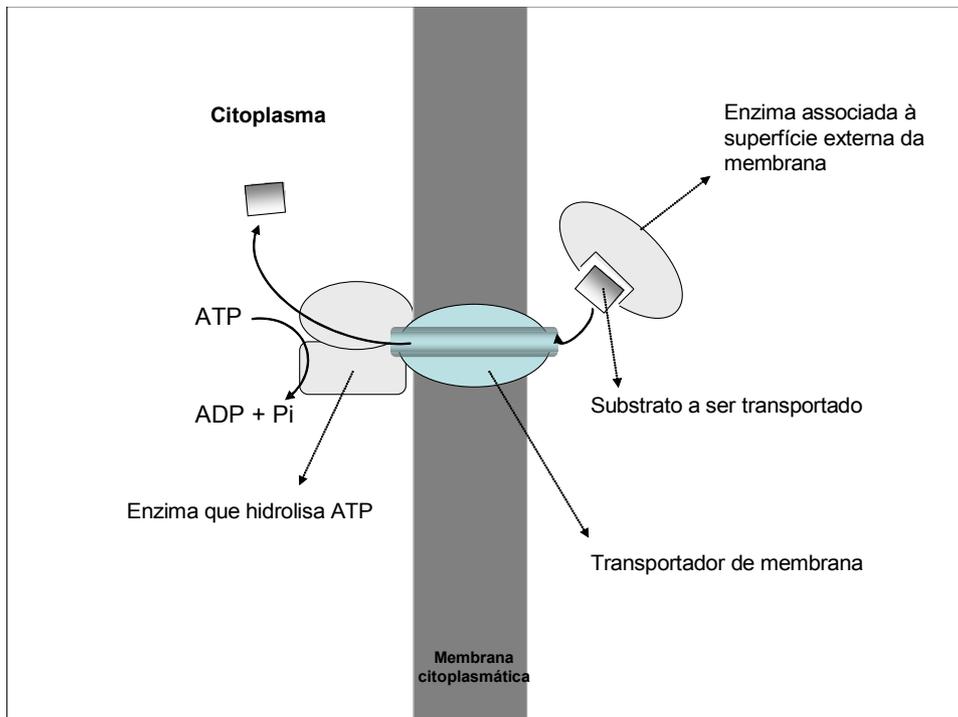


Figura 5. Esquema de um sistema de transporte de substratos para o interior do citoplasma bacteriano do tipo ABC. Em geral, estes sistemas consistem de uma proteína associada à superfície externa da membrana citoplasmática, a qual se liga especificamente a um tipo de substrato a ser transportado. Esta proteína de alta afinidade ao substrato específico carrega o mesmo para ser translocado para o interior da célula, através de uma proteína transmembrânica transportadora. Assim, o substrato é transportado para o citoplasma, através do canal da proteína transportadora. Para este processo, é necessária energia gerada pela hidrólise de ATP. A hidrólise de ATP é realizada por uma enzima deste sistema, localizada na superfície citoplasmática da membrana.

4.1.2 Aciduricidade

A aciduricidade é definida como a capacidade de tolerar e proliferar em meios com pHs ácidos. A acidificação do biofilme, decorrente da fermentação de diversos carboidratos, inibe o crescimento de diversos microrganismos comensais competidores da placa dental, como por exemplo *S. sanguinis*, o que favorece o crescimento de *S. mutans* devido à sua aciduricidade. Esta tolerância a ácidos ocorre principalmente porque *S. mutans* apresenta uma bomba translocadora de prótons H^+ na sua membrana celular, denominada F_0F_1 ATPase, a qual funciona para manter o pH intracelular por volta de 7,5. Além disto, *S. mutans* possui um sistema semelhante ao sistema arginina-deiminase de outros *Streptococcus spp.*, através do qual utiliza amino-ácidos (que não a arginina) para a conversão de prótons H^+ em aminas (5).

4.1.3 Produção de polissacarídeos extracelulares (PEC)

Glucanos

Streptococcus mutans produzem e secretam enzimas (exoenzimas) denominadas glucosiltransferases (Gtfs), as quais hidrolisam a sacarose em glicose e frutose e polimerizam as moléculas de glicose liberadas, formando polissacarídeos extracelulares (PEC) denominados glucanos (Figura 6). Diversos tipos de glucano são produzidos, os quais variam na solubilidade em água, dependendo do tipo e proporção das ligações entre as moléculas de glicose, as quais podem ser do tipo α -(1-3) ou do tipo α -(1-6). Os glucanos insolúveis em água são aqueles onde prevalecem as ligações do tipo α -(1-3), e são os mais importantes na formação de uma matriz extracelular “pegajosa” insolúvel,

essencial para o acúmulo de *S. mutans* no biofilme dentário. A alta estabilidade da aderência e acúmulo de *S. mutans* nas superfícies duras na presença de sacarose pode ser facilmente observada em laboratório. Ao submergirmos bastões de vidro a uma cultura de *S. mutans* contendo sacarose, observamos a formação de biofilmes de difícil remoção. Estes biofilmes somente são removidos com auxílio de ultra-som ou da raspagem ou escovação das superfícies de vidro.

S. mutans produzem três tipos de Gtfs:

- (1) GtfB: catalisa a síntese de glucanos ricos em ligações do tipo α -(1-3) (insolúvel em água, também chamados de mutanos).
- (2) GtfC: catalisa a síntese de glucanos com os dois tipos de ligações, α -(1-3) e α -(1-6), mas ainda insolúveis em água.
- (3) GtfD: catalisa a síntese de glucanos com ligações α -(1-6), solúveis em água (também chamados de dextranos).

Os glucanos solúveis em água parecem funcionar como um reservatório extracelular de açúcares, sendo hidrolisado por outras exoenzimas produzidas, as dextranases (34).

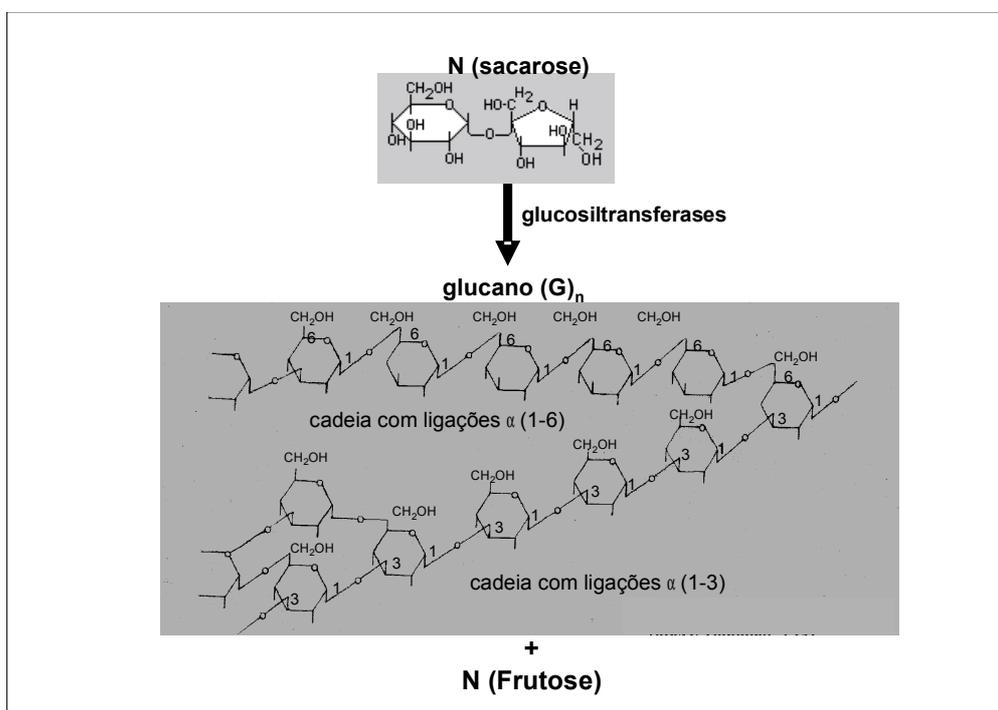


Figura 6. A sacarose é um dissacarídeo formado pela ligação entre uma hexose (glicose) e uma pentose (frutose). A ligação glicosídica entre estas duas moléculas é rica em energia, sendo a sacarose, o único açúcar a partir do qual as glucosiltransferases catalisam a síntese de glucanos. A partir da energia gerada pela hidrólise de N moléculas de sacarose, as glucosiltransferases produzem os polímeros de glicose (G), os glucanos, liberando N moléculas de frutose. A solubilidade destes polímeros é dependente da proporção de ligações do tipo alfa(1-3) e alfa(1-6).

Frutanos

Os frutanos também são polissacarídeos extracelulares formados pela ligação de moléculas de frutose liberadas com a hidrólise da sacarose. A síntese de frutanos também ocorre extracelularmente, sendo catalizada pela enzima frutossiltransferase. Os frutanos são solúveis em água; assim, seu papel na formação da matriz extracelular de PECs é limitada. Acredita-se que o principal papel dos frutanos na virulência de *S. mutans*, seja o fato de atuarem como reservatórios extracelulares de substratos, durante os períodos de escassez de nutrientes. Assim, nestas fases, exoenzimas denominadas

frutanases (sintetizadas por *S. mutans*) hidrolisam estes polissacarídeos, para que os monossacarídeos de frutose sejam transportados para o interior das células e metabolizados.

4.1.4 Síntese de proteínas ligantes de glucano (Gbps de *Glucan-binding proteins*).

S. mutans produzem pelos menos quatro tipos distintos de Gbps, a GbpA, GbpB, GbpC e GbpD. Estas proteínas são bem diferentes entre si, mas têm como característica comum, a afinidade a glucanos. Por serem proteínas extracelulares, normalmente associadas à parede celular de *S. mutans*, acredita-se que as Gbps sejam importantes para o acúmulo de *S. mutans* na presença de sacarose, pois formam uma “ponte” que liga as superfícies celulares destes microrganismos à matriz extracelular de glucanos sintetizada pelas exoenzimas Gtfs (3). Estas proteínas também promovem a agregação de *S. mutans* na presença de glucanos, o que pode ser facilmente observado em culturas de *S. mutans*, em tubos de ensaio contendo meio de cultura acrescido de sacarose.

A participação de cada um dos tipos de Gbps na virulência é variável. Na verdade, apenas a GbpB tem sido sistematicamente associada à virulência de *S. mutans*. Experimentos em animais demonstram que a imunização com esta proteína é capaz de proteger contra o desenvolvimento de cárie induzida por uma dieta rica em sacarose (56% de sacarose) (30,31). Recentemente, verificamos dados muito interessantes sobre o papel da resposta imunológica específica a SM no risco de colonização inicial de crianças entre 12 e 30 meses de idade, expostas a condições ambientais que favorecem a infecção, como o alto consumo de sacarose e contato com indivíduos com altos níveis de SM (27). Crianças que naturalmente produzem anticorpos salivares IgA específicos à GbpB são menos frequentemente colonizadas por *S. mutans* (27), portanto, o padrão de especificidade de IgA a antígenos específicos de SM parece influenciar na susceptibilidade individual à colonização.

4.5 Produção de polissacarídeos intracelulares (PIC)

S. mutans também é capaz de sintetizar polissacarídeos intracelulares semelhantes ao glicogênio nas células humanas, os quais funcionam como uma reserva interna de carboidratos. Esta característica torna esta espécie ainda mais acidogênica, pois permite a fermentação de açúcares e conseqüente produção de ácidos durante os períodos em que não há disponibilidade de substratos da dieta (13).

4.1.6 Adesinas

S. mutans apresentam algumas adesinas que são capazes de se ligar especificamente a componentes da película adquirida. Assim, além das proteínas que se ligam aos glucanos (Gbps), *S. mutans* apresenta adesinas de superfície da família de adesinas SpaP, também chamada de AntígenoI/II (AgI/II) ou de P1. Entretanto, outros estreptococos comensais da cavidade bucal (por exemplo, *S. sanguinis*, *S. gordonii*, *S. mitis*) apresentam adesinas de superfície da mesma família (vide Tabela 1, da Apostila 2). Assim, o AgI/II não pode ser incluído entre os fatores de virulência mais importantes, porque não oferece uma vantagem competitiva significativa, embora participe do processo de aderência inicial de *S. mutans*. Isto explica o fato de que, em condições normais, *S. mutans* coloniza mais facilmente superfícies dentárias retentivas,

como as áreas de sulcos, cicatrículas e fissuras dos dentes, do que as superfícies dentárias lisas vestibulares e linguais.

4.1.7 Bacteriocinas

Como visto no tópico de interações bacterianas (Apostila 2), as bacteriocinas são substâncias secretadas por algumas espécies bacterianas capazes de inibir o crescimento de outras espécies relacionadas, compreendendo um mecanismo de competição microbiana. *S. mutans* produzem diversas bacteriocinas; estas são também chamadas de **mutacinas** (de *S. mutans*). As mutacinas são capazes de inibir diversos microrganismos comensais competidores como *S. sanguinis*, *S. mitis*, *S. gordonii*, *S. oralis*, *S. sobrinus* e até mesmo outras cepas da espécie *S. mutans*. Estudos sobre a transmissão de cepas de *S. mutans* das mães para os filhos, sugerem que as cepas de *S. mutans* das mães com maior número de mutacinas produzidas são as mais frequentemente transmitidas para os filhos, quando comparadas a outras cepas da cavidade bucal das mães com menor produção e/ou diversidade de mutacinas (11).

4.2 Fatores de virulência de *S. sobrinus*

Como mencionado no tópico 2.4, *S. sobrinus* é a segunda espécie do grupo mutans mais estudada quanto a sua participação no desenvolvimento de cárie. O sequenciamento do genoma de uma cepa da espécie *S. sobrinus* ainda está em andamento, mas pode ser consultado através do site do The Institute for Genomic Research (TIGR) de Rockville, MD, E.U.A. (<http://www.tigr.org/tdb/mdb/mdbinprogress.html>). *S. sobrinus* apresenta características de virulência semelhantes a *S. mutans*, embora os mecanismos moleculares envolvidos nestes fatores possam ser bem distintos. Assim como *S. mutans*, *S. sobrinus* são capazes de se acumular nas superfícies dos dentes na presença de sacarose e também de produzir e tolerar grandes quantidades de ácidos. Não se sabe no entanto, por que *S. sobrinus* são menos prevalentes em humanos do que a espécie *S. mutans* (19). Uma hipótese é de que *S. sobrinus* sejam detectados com menor frequência, quando comparados com *S. mutans*, porque os meios de cultura utilizados para isolamento bacteriano não sejam tão adequados para *S. sobrinus*, como o são para *S. mutans*. Por outro lado, estudos com sondas para as seqüências de DNA 16S indicam que *S. mutans* seja mesmo mais prevalente do que *S. sobrinus* (4), uma vez que esta espécie foi detectada em apenas 9 (30%) de 30 crianças com altos índices de cárie, enquanto *S. mutans* foi detectado em 100% das crianças afetadas (4).

4.2.1 Acidogenicidade.

S. sobrinus são capazes de produzir grandes quantidades de ácidos a partir de fermentação de diversos açúcares, embora nem todos os fermentados por *S. mutans*. Assim, *S. sobrinus* não é capaz de produzir ácidos a partir de açúcares como rafinose, melibiose e sorbitol. Estas características são muitas vezes utilizada para diferenciação destas espécies. Os sistemas envolvidos no transporte de diversos açúcares precisam ainda ser mais investigados (19).

4.2.2 Aciduricidade.

S. sobrinus parecem ser extremamente tolerantes a ácidos. Entretanto, sua alta tolerância não parece ser decorrente da atividade de bomba translocadora de prótons

(ATPase F_0F_1), como ocorre em *S. mutans*, mas sim do aumento da atividade de sistemas PTS (26).

4.2.3 Produção de polissacarídeos extracelulares (PEC)

Glucanos

Assim como *S. mutans*, *S. sobrinus* secretam diferentes glucosiltransferases (Gtfs), as quais catalisam a produção de glucanos com diferentes graus de solubilidade em água. *S. sobrinus* produz pelo menos 4 tipos de Gtfs (12,39), as quais sintetizam glucanos com diferentes proporções de ligações do tipo α -(1-6) e α -(1-3):

- 1) GtfI: catalisa a síntese de glucanos ricos em ligações do tipo α -(1-3) (insolúvel em água).
- 2) GtfS: catalisa a síntese de glucanos ricos em ligações do tipo α -(1-6), mas também ligações α -(1-3).
- 3) GtfSu: catalisa a síntese de glucanos ricos em ligações do tipo α -(1-6) e também com ligações α -(1-3).
- 4) GtfSi: catalisa a síntese de glucanos ricos em ligações do tipo α -(1-6) (solúvel em água).

Frutanos

Ao contrário de *S. mutans*, *S. sobrinus* não sintetiza frutanos, mas produzem frutanasas que quebram os frutanos presentes na matriz extracelular produzidos por outras espécies, como *S. mutans* e *S. salivarius* (34).

4.2.4 Síntese de proteínas ligantes de glucano (Gbps, *glucan-binding proteins*).

S. sobrinus parece produzir algumas proteínas de superfície celular com afinidade a glucanos. A função biológica desta proteína é entretanto, pouco conhecida (3).

4.2.5 Produção de polissacarídeos intracelulares (PIC).

Há pouca informação sobre esta característica na espécie *S. sobrinus*.

4.2.6 Adesinas

S. sobrinus apresenta a adesina da família dos AgI/II, como *S. mutans*. *S. sobrinus* também expressa a adesina *Dei* (de *Dextranase inhibitor*), não identificada em *S. mutans*. As adesinas de ambas as espécies *S. mutans* e *S. sobrinus*, têm no entanto, menor afinidade a componentes da PA, quando comparadas a adesinas de outros colonizadores primários dos dentes. Vide item 4.1.6.

4.2.7 Bacteriocinas

S. sobrinus produzem algumas bacteriocinas (11). (Vide funções no item 4.7).

4.3 Fatores de virulência de *Lactobacillus spp.*

Além da capacidade de produzir ácidos a partir da fermentação de açúcares, o principal fator de virulência de lactobacilos é a sua alta acidogenicidade, uma vez que estes microrganismos são capazes de crescer bem em pHs extremamente baixos (entre 5,0 e 4,0). Assim, lactobacilos são encontrados em altos níveis nas placas dentais associadas a lesões de cárie estabelecida, principalmente em lesões de dentina. Por isto,

antes dos estudos de Paul H. Keyes (vide tópico 2), lactobacilos eram considerados os agentes causais da cárie (32). *Lactobacillus spp.* não são capazes de se aderir e acumular nas superfícies hígidas pouco retentivas, mas aumentam em proporção em microbiotas associadas a lesões estabelecidas de cárie, como consequência de modificações ecológicas de alta acidogenicidade promovidas por estreptococos do grupo mutans. Portanto, as espécies de lactobacilos são consideradas como relevantes no processo de progressão de lesões de cárie já estabelecidas, mas não no processo de iniciação da cárie dental (19).

5. Controle da microbiota cariogênica.

Nos tópicos anteriores, ficou clara a natureza infecciosa da cárie dental, na qual *S. mutans* e *S. sobrinus* desempenham o papel de agente causal desta doença. A partir deste conceito, fica também claro que o tratamento da doença cárie deve consistir no controle de infecção por estes microrganismos e que o tratamento restaurador consiste apenas em uma intervenção paliativa e de reparo dos danos funcionais e estéticos das estruturas dentárias perdidas. É importante ressaltar que a durabilidade das restaurações depende intrinsecamente da capacidade do cirurgião dentista em controlar a doença cárie, portanto, controlar a infecção por *S. mutans*. Para isto, é importante entender como ocorre a transmissão e infecção bucal por *S. mutans*. A partir da identificação das vias de transmissão e dos mecanismos de estabelecimento destas bactérias na placa dental é que poderemos definir estratégias efetivas para o controle de cárie a médio e longo prazo. Sabe-se que o controle dos níveis de infecção por *S. mutans* é muito mais difícil se estes microrganismos estiverem estabelecidos na cavidade bucal. Atualmente, os programas de controle dos níveis de infecção por *S. mutans* estão restritos à orientação alimentar de restrição do consumo de sacarose e à remoção mecânica da placa dental bacteriana. Embora bons resultados podem, a princípio, ser obtidos com estas medidas, tanto o controle de dieta, como os hábitos de higiene bucal são intensamente afetados por condições comportamentais e sociais de difícil controle, especialmente em populações mais carentes. Busca-se portanto, encontrar novos meios de intervenção que sejam menos sujeitos à influência de fatores sócio-econômicos e comportamentais. Por exemplo, inúmeras pesquisas científicas são realizadas para identificar métodos que direcionem e/ou intensifiquem a resposta imunológica do hospedeiro, através do desenvolvimento de vacinas anti-cárie, ou para identificar agentes terapêuticos que inibam fatores de virulência específicos de *S. mutans*. (Figura 7) (23). A identificação das vias de transmissão de *S. mutans* para crianças é também muito importante, uma vez que o ideal seria evitar que os indivíduos fossem colonizados por *S. mutans*. Para isto, é importante identificar os grupos de indivíduos com maior risco de infecção e as principais fontes de transmissão.

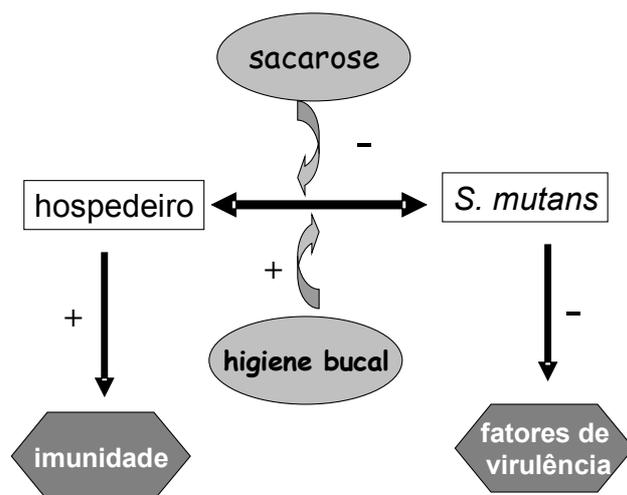


Figura 7. Diagrama das formas de controle de infecção bucal por *S. mutans*. Atualmente, as estratégias de controle dos níveis de *S. mutans* são limitadas por métodos de controle mecânico de placa (métodos de higiene bucal) e pela orientação para a restrição do consumo de sacarose. O controle dos hábitos de higiene bucal, como do consumo de sacarose são altamente influenciados por condições sócio-econômicas e culturais. Busca-se portanto, desenvolver novas estratégias de controle, nas quais a resistência imunológica do hospedeiro a estes microrganismos possa ser intensificada e/ou direcionada ao bloqueio de fatores de virulência específicos de *S. mutans*.

6. Vias de transmissão de *S. mutans*

Como discutido nas apostilas anteriores, *S. mutans* não são considerados colonizadores primários da cavidade bucal. Logo ao nascimento, as crianças adquirem uma série de microrganismos que vão compor a microbiota bucal indígena. Estes são transmitidos, através da saliva, por indivíduos com os quais as crianças mantêm contato. Diversas técnicas foram desenvolvidas para rastrear cepas de *S. mutans* adquiridas pelas crianças durante a fase de aquisição inicial destes microrganismos. Este rastreamento é feito a partir do princípio de que cepas da mesma espécie de *S. mutans* diferem entre si em diversas características genéticas e fenotípicas. Assim como nós humanos temos características únicas que nos permitem ser diferenciados dos outros, como por exemplo as impressões digitais, também as cepas de *S. mutans* têm características únicas, podendo ser rastreadas. Técnicas para se obter a “impressão digital” de cada cepa de *S. mutans* consistem da obtenção de padrões da seqüência do cromossomo. Cada padrão genético indica um genótipo (ou clone) distinto. É possível rastrear de onde foram transmitidos os clones adquiridos por uma criança, através da identificação do padrão genotípico das cepas de *S. mutans*. Diversos estudos indicam que as crianças são colonizadas por clones presentes na cavidade bucal das mães, sendo estas a principal fonte de infecção. Outros indivíduos da família, como pais, irmãos mais velhos e avós, são potenciais transmissores de *S. mutans* para crianças, embora na maioria dos casos, transmitam SM com menor freqüência do que as mães. Raramente, uma criança é colonizada por um clone de *S. mutans* presente em outro indivíduo que não seja da

mesma família (11,16-18). Entretanto, em algumas populações, como as de creches onde diversas crianças convivem durante grande parte do dia e onde o risco de infecções cruzadas é grande, pode haver transmissão cruzada de *S. mutans* de uma criança para a outra (22).

7. Conceito da janela de infectividade

As chances de colonização bucal por *S. mutans* aumenta com a erupção dos dentes, uma vez que esta espécie depende de superfícies não descamativas para se acumular na cavidade bucal. Os primeiros dentes decíduos, iniciam sua erupção por volta dos 6 meses de idade. Portanto, a partir desta fase, existem superfícies rígidas para a formação da placa dental. Estudos epidemiológicos indicam que crianças colonizadas antes dos 2 anos de idade apresentam maior incidência de cárie durante a infância, quando comparadas a crianças infectadas mais tardiamente (2,15).

Ao analisar a frequência de detecção de *S. mutans* em crianças desde o nascimento até os 5 anos de idade, um grupo de pesquisadores americanos, liderado pelo Dr. Page W. Caufield, observou a ocorrência de uma “janela de infectividade”. Esta janela corresponde ao período em que as crianças apresentam maior risco de aquisição de *S. mutans*, o qual corresponde à idade entre 1,5 e 2,5 anos de idade. Após os 2,5 anos de idade, as chances de aquisição destas bactérias são drasticamente reduzidas, sendo que crianças não infectadas durante a janela de infectividade mantêm-se livres de *S. mutans* até, pelo menos, os cinco anos de idade (6). A Figura 8A ilustra o período entre 19 e 31 meses de idade, correspondente à janela de infectividade. Após esta janela, espera-se baixo risco de infecção por *S. mutans*, a não ser que drásticas modificações ambientais ocorram. Não se sabe ao certo, o que determina a ocorrência desta janela de infectividade na primeira infância. Sabe-se que entre 19 a 31 meses ocorre a erupção dos molares decíduos, os quais apresentam superfícies oclusais retentivas. Como é sabido que *S. mutans* apresenta adesinas de menor afinidade à PA do que as de outros *Streptococcus* comensais, sugere-se que a erupção dos molares com superfícies retentivas virgens, possa favorecer a colonização por *S. mutans* (6,7). O fechamento da janela de infectividade ocorreria porque, uma vez completada a erupção dentária e estabelecida uma microbiota indígena comensal nas superfícies recém-irrompidas, esta microbiota indígena atuaria como uma barreira competitiva para o estabelecimento de *S. mutans* nas placas dentárias. Um outro fator que parece determinar o fechamento da janela de infectividade é a maturação do sistema imunológico de mucosas (27). Em estudo prospectivo de 42 crianças com idade inicial entre 5 e 13 meses, verificamos que a resposta específica a antígenos de *S. mutans* têm grande influência na infecção (27). Assim, a produção de maiores quantidades de anticorpos IgA salivares contra GbpB de *S. mutans* entre a idade de 6 a 19 meses parece reduzir a susceptibilidade à infecção por estes microrganismos, mesmo sob condições de alta exposição a indivíduos infectados e alto consumo de sacarose. Como descrito nos tópicos de virulência, a GbpB é uma proteína produzida por *S. mutans* que influencia no crescimento e acúmulo de *S. mutans* em biofilmes.

É importante lembrar que o início da abertura da janela de infectividade (aproximadamente 19 meses de idade) ocorre cerca de um ano após a erupção dos primeiros dentes (entre 6 e 8 meses de idade). Entretanto, crianças que ingerem alimentos ricos em sacarose com alta frequência podem ser infectadas muito mais

precocemente, logo que ocorre a erupção dos primeiros dentes decíduos (Figura 8B) (24,37). Isto é comumente observado em crianças que dormem com mamadeiras contendo bebidas açucaradas e desenvolvem quadros severos de cárie denominados de “cárie de mamadeira”. Durante o sono, há uma redução do fluxo salivar e esta condição associada à estagnação de líquido com sacarose, favorece a rápida proliferação e acúmulo de *S. mutans* na placa dental. A produção acentuada de glucanos insolúveis em água, permite o acúmulo de *S. mutans* em superfícies lisas como as vestibulares dos incisivos, o que dificilmente ocorreria na ausência deste substrato. A placa dental de crianças que utilizam mamadeira como chupeta, com conteúdo rico em sacarose, apresenta uma altíssima proporção de *S. mutans*. Esta espécie pode atingir cerca de 60% de todos os microrganismos cultiváveis da placa dental bacteriana. Estes altos níveis de *S. mutans* na placa, associados à redução dos componentes de defesa da saliva promovem a destruição rápida dos dentes, os quais podem ter as coroas destruídas em poucos dias, logo após a erupção dentária.

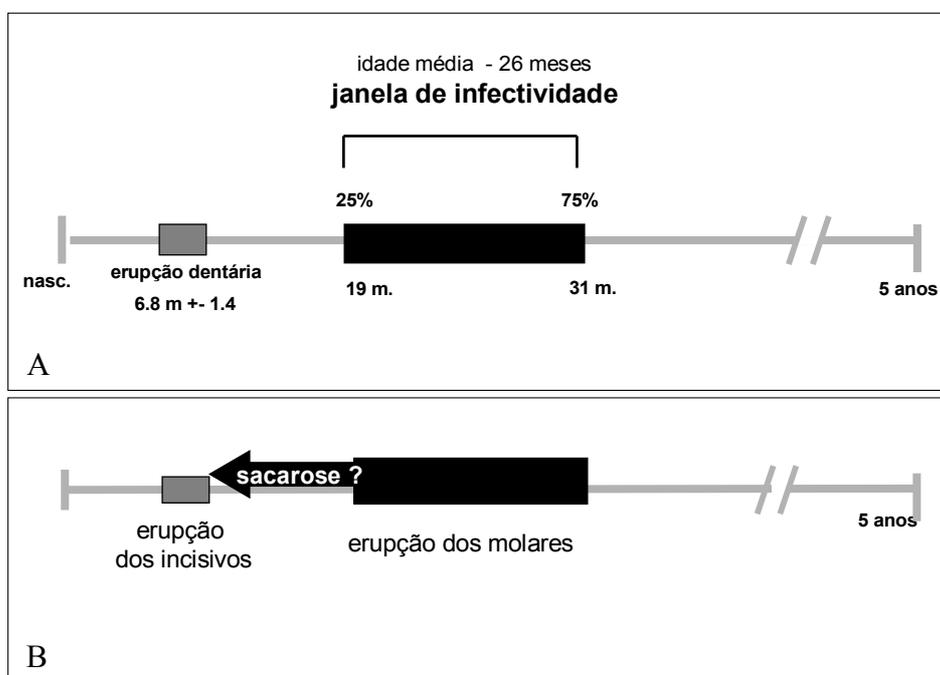


Figura 8: Diagrama da janela de infectividade de *S. mutans* proposta por Caufield et al. (1993), a partir de estudo longitudinal de 38 crianças desde o nascimento até os 5 anos de idade. Observaram-se que todas as crianças infectadas durante o estudo, adquiriram *S. mutans* entre os 19 a 31 meses de idade. Crianças não infectadas neste período mantiveram-se livres de *S. mutans* até os 5 anos de idade. B) A abertura da janela de infectividade ocorre em idade precoce, por volta dos 6 meses de idade (logo com a erupção dos primeiros dentes), quando o consumo de sacarose é freqüente, logo nos primeiros meses de vida.

O conceito da janela de infectividade é muito importante para o planejamento de programas de controle de cárie. Assim, medidas preventivas introduzidas logo antes da erupção dos dentes e mantidas até a fase de fechamento da janela de infectividade, podem prevenir a colonização por *S. mutans* durante toda a primeira infância, ou até que novos dentes irrompam na cavidade bucal, o que ocorre por volta dos 5 a 6 anos de idade. Discutiremos a seguir, alguns estudos que demonstram evidências de que o

controle de infecção do nascimento até os 31 meses de idade é capaz de prevenir o estabelecimento de uma microbiota cariogênica durante toda a infância.

8. Estratégias para controle de infecção por estreptococos do grupo mutans.

8.1 Bloqueio das vias de transmissão.

As evidências de que as mães são as principais fontes de transmissão de *S. mutans*, incentivou diversos estudos sobre o efeito de programas de redução dos níveis de *S. mutans* de mães, no controle de infecção e risco de cárie de crianças durante a fase de colonização inicial por SM. Assim, pesquisadores da Suécia realizaram um estudo no qual instituíram um programa preventivo em 58 mães divididas em um grupo teste (n=25) com seus respectivos filhos (n=26) e grupo de mães controle (n=33) também com seus filhos (n=33). As mães de ambos os grupos apresentavam altos níveis de *S. mutans*, e os filhos eram recém-nascidos.

As mães do grupo teste foram envolvidas em um programa básico, para redução dos níveis bucais de *S. mutans* o qual incluiu:

- (1) informação a respeito do objetivo do estudo,
- (2) orientação dietética para a redução da frequência e quantidade de consumo de sacarose,
- (3) remoção de placa dental profissional e orientação sobre os métodos de remoção de placa domiciliar,
- (4) fluoroterapia,
- (5) tratamento restaurador das lesões de cárie existentes.

O efeito deste programa nos níveis de *S. mutans* foram monitorados através de testes microbiológicos, e as mães que não apresentassem redução dos níveis bucais de *S. mutans* para menos de 3×10^5 ufc/ml de saliva foram submetidas a:

- (6) terapia com gel de digluconato de clorexidina a 1%: aplicações diárias de 5 min., durante 2 semanas. O efeito deste tratamento na redução dos níveis de *S. mutans* foi confirmado por teste microbiológico.

O tratamento foi mantido até que os filhos destas mães atingissem três anos de idade. Durante este período, as mães eram atendidas em retornos a cada 4 meses, sendo as mães submetidas ao tratamento com clorexidina, atendidas em intervalos de 2 a 3 meses para checagem dos níveis de *S. mutans*.

Um total de 27 pares de mãe-filho(a) mantiveram-se no estudo, dos 58 iniciais. Durante o estudo, as crianças foram examinadas periodicamente, para detecção de lesões de cárie e monitoramento da presença de infecção por *S. mutans* desde um ano, até atingirem os 7 anos de idade (notar que o tratamento preventivo das mães foi realizado apenas até o período em que seus filhos apresentavam 3 anos de idade).

O efeito dos programas preventivos das mães na colonização dos filhos por *S. mutans* pode ser verificado na Figura 9, publicada no periódico científico *Archives of Oral Biology*, em 1983 (16). No gráfico desta figura, observa-se que uma porcentagem significativamente menor de crianças cujas mães eram do grupo teste foram colonizadas por *S. mutans*, quando comparadas aos filhos das mães do grupo controle (não tratadas). Isto ocorreu mesmo após os 3 anos de idade, quando as mães não eram mais submetidas ao programa preventivo. Este estudo ilustra bem que o controle da transmissão de *S. mutans* das mães para as crianças, durante a fase da janela de infectividade, tem efeitos que duram por toda a infância, uma vez que as crianças foram menos susceptíveis à aquisição de *S. mutans* até os 7 anos de idade.

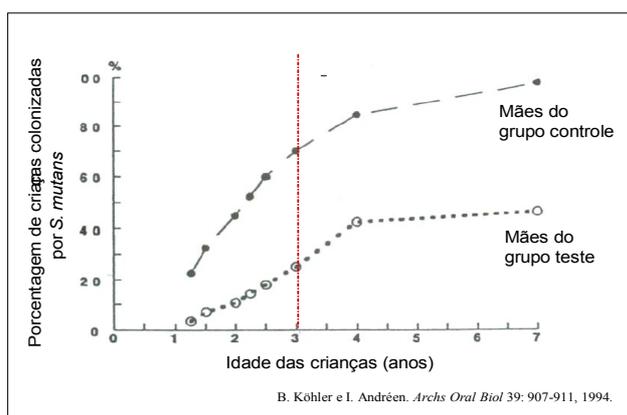


Figura 9: Efeito de programa de supressão dos níveis de *S. mutans* em mães (grupo teste) na transmissão de *S. mutans* para seus filhos. A frequência de transmissão de *S. mutans* das mães para crianças foi significativamente menor no grupo teste, quando comparado com o grupo controle (mães não submetidas ao tratamento de supressão dos níveis de *S. mutans*). Observar que a supressão dos níveis de *S. mutans* das mães do grupo teste foi realizado somente até os três anos de idade dos filhos, mas o efeito na colonização das crianças perdurou até os 7 anos de idade.

8.2 Supressão da microbiota cariogênica em indivíduos adultos.

8.2.1 Consumo de sacarose

Sabe-se que, uma vez estabelecida uma microbiota altamente cariogênica (rica em *S. mutans*), as chances de supressão desta microbiota é mais difícil. As dificuldades para o controle da infecção é ainda maior quanto maiores os níveis iniciais de infecção. Sabe-se que a redução da frequência e quantidade de sacarose na dieta é capaz de reduzir a proporção de *S. mutans* em relação a outros microrganismos comensais. Estudos em adultos submetidos a um programa intensivo de controle do consumo de sacarose foi capaz de reduzir os níveis de *S. mutans* dentro de um período de 1,5 mês em um estudo com indivíduos adultos na Suécia (38). Este controle foi alcançado não somente através da informação dos pacientes sobre os efeitos prejudiciais do consumo de sacarose, mas através de um trabalho detalhado para análise e controle da dieta, a qual incluiu:

- (1) Instrução para não ingerir alimentos com sacarose entre as refeições, e redução das concentrações de sacarose ingerida durante as refeições principais (café da manhã, almoço e jantar).
- (2) Entrega de planilha detalhada sobre as concentrações de sacarose em diversos produtos alimentícios.
- (3) Solicitação do registro de todos os alimentos ingeridos durante o dia (diário alimentar) no dia seguinte à primeira consulta e após 3 e 6 semanas decorrentes da primeira consulta. Este registro foi utilizado para identificação dos produtos a serem eliminados, ou restritos às refeições principais.
- (4) Análise do consumo de sacarose através do preenchimento de questionário sob supervisão. O questionário consistia de uma lista de 32 produtos com sacarose mais frequentemente consumidos, aos quais a frequência de consumo era anotada. Os questionários respondidos eram então utilizados para orientação do paciente.

A duração do programa intensivo de controle de sacarose, promoveu uma redução significativa dos níveis de *S. mutans* e *S. sobrinus* da placa dental bacteria (ufc), enquanto que os níveis de espécies de *Streptococcus* comensais se mantiveram estáveis. Após o período de 1,5 meses de controle rigoroso do consumo de sacarose, os indivíduos do estudo retomaram seus hábitos anteriores, o que promoveu um aumento gradativo dos níveis de *S. mutans* e *S. sobrinus* na placa, sendo que estes atingiram os altos níveis iniciais dentro de 6 semanas. Estes dados indicam que o controle rigoroso do consumo de sacarose pode influenciar significativamente nos níveis de infecção por estreptococos do grupo mutans, mas que o controle deve ser contínuo, sendo que períodos de maior consumo de sacarose favorecem o aumento na proporção de estreptococos do grupo mutans.

8.2.2 Tratamento com antimicrobianos

Como discutido no tópico 3, os experimentos em animais demonstraram que o tratamento com antibióticos pode controlar a infecção por SM e a transmissão destes microrganismos para indivíduos não infectados. Não se pode, entretanto, aplicar antibióticos para o controle de infecção por *S. mutans* uma vez que estes promoveriam o desequilíbrio da microbiota comensal, necessária para a manutenção da saúde bucal. Por outro lado, existem situações em que é necessário suprimir mais rapidamente os níveis bucais de SM, até que outras estratégias de controle possam ser instituídas. Um exemplo disto é a situação descrita no tópico anterior, em que o controle dos níveis de infecção de mães durante o período em que os filhos são mais susceptíveis à infecção é muito vantajoso para a prevenção de cárie nas crianças. Outra situação é aquela em que pacientes apresentam quadros agudos de desenvolvimento de cárie, com lesões de cárie rampante, cuja atividade precisa ser imediatamente controlada. Nestes casos, se faz a restauração provisória de cavidades de cárie e se estabelece um “tratamento de choque” para controle dos níveis de infecção, enquanto outros fatores (por exemplo hábitos dietéticos) são gradativamente controlados. Este tratamento de choque inclui a terapia com antimicrobianos. Esta deve ser aplicada por períodos limitados, em condições específicas, onde torna-se necessário o rápido controle da microbiota cariogênica. O antimicrobiano mais utilizado para controle da microbiota cariogênica é a clorexidina. Isto porque a clorexidina tem as seguintes propriedades:

a) Substantividade:

A clorexidina se adsorve às superfícies das mucosas e dentes sendo retida a níveis inibitórios por períodos longos de tempo. Esta é a principal vantagem deste antimicrobiano, uma vez que o controle da placa dental requer a exposição constante ao agente antimicrobiano.

b) Efeito predominante sobre estreptococos do grupo mutans.

Estudos *in vitro* indicam que o efeito antimicrobiano da clorexidina é variável dependendo do tipo de microrganismo. A clorexidina é mais potente contra microrganismos Gram-positivos, quando comparados aos Gram-negativos. Entre os Gram-positivos, os estreptococos do grupo mutans parecem mais sensíveis, quando comparados com *Lactobacillus spp.* Além disto, a espécie *S. sanguinis* (competidora de *S. mutans*), parece ser menos sensível a este antimicrobiano do que as espécies de estreptococos do grupo mutans e lactobacilos (9). Isto permite a supressão relativamente seletiva de microrganismos patogênicos e favorece o aumento da proporção de microrganismos comensais.

O sucesso da terapia com clorexidina na redução da microbiota cariogênica é, no entanto, dependente da forma de aplicação deste composto. A durabilidade do efeito desta terapia também é dependente dos níveis de infecção inicial e do controle de fatores que favorecem a colonização por microrganismos cariogênicos. A clorexidina é utilizada em diversas formas como soluções para bochecho em concentrações de 0,12 a 0,2% (exemplo de produto comercial: solução de digluconato de clorexidina a 0,12% - Periogard®), em géis (concentração de 1%), e sob a forma de verniz, em concentração de 10% (produto comercial: Chlorzoin®). As soluções ou géis de clorexidina podem ser adquiridos também em farmácias de manipulação. A utilização de clorexidina em soluções de bochecho ou associada a cremes dentais tem demonstrado efeito moderado no controle de microbiota cariogênica. A aplicação de vernizes contendo clorexidina sobre os dentes também não demonstrou efeitos significativos na colonização dos dentes (9). Os melhores resultados de aplicação de clorexidina são obtidos com a aplicação de géis na concentração de 1%. Aplicações de clorexidina em gel 4 vezes ao ano, após profilaxia profissional, pode promover uma redução significativa na incidência de cárie em adultos (8,9). A clorexidina também pode ser usada em “terapias de choque”, quando se procura reduzir rapidamente os níveis de infecção nos indivíduos com alta atividade de cárie. Nestes casos, utiliza-se a aplicação diária de gel de clorexidina (a 1%), no consultório, por 5 minutos, durante 2 semanas (9). Em crianças jovens já infectadas, é possível aplicar o gel de clorexidina através de escovação com gel por duas vezes ao dia durante 14 dias (36). Esta é realizada pelos pais, após instrução profissional.

8.2.3 Vacinas

Nos últimos anos, inúmeros estudos têm sido realizados para desenvolver estratégias capazes de controlar a infecção por SM, as quais não sejam afetadas por problemas socio-econômicos e culturais. Além da cárie, outras doenças infecciosas ainda não apresentam vacinas; estas incluem, por exemplo, a malária (patógeno: *Plasmodium spp.*) e a dengue (patógeno: vírus da dengue). Os estudos de vacinação contra cárie foram iniciados em modelos experimentais de animais, mas nos últimos 5

anos iniciaram-se estudos em humanos. Os primeiros estudos demonstrando que a imunização com células vivas de *S. mutans* promoviam uma resposta imunológica protetora contra a cárie dental foram realizados na década de 70 (25,29,33). A imunização com células vivas gerava, no entanto, a produção de anticorpos que reagem com o tecido cardíaco. Desde então, diversos avanços foram obtidos no desenvolvimento de vacinas a partir de proteínas específicas de *S. mutans*, as quais não promoviam reações cruzadas. Atualmente, os antígenos mais amplamente estudados são as glucosiltransferases (Gtfs) e a proteína ligante de glucano B (Gbps) (23). Recentemente, verificamos que a resposta imune adaptativa natural de crianças ao antígeno GbpB é significativamente mais intensa e frequente entre crianças não infectadas precocemente por *S. mutans* e/ou infectadas apenas transitoriamente durante os primeiro ano de vida (27), o que é compatível com estratégias que visam a imunização de humanos, para o controle de infecção por *S. mutans*.

Como descrito na Apostila 1, a cavidade bucal é protegida por diversos componentes do sistema imune inato e adaptativo, os quais atingem a cavidade bucal através da saliva e fluido crevicular. O principal componente do sistema imune inato para as defesas bucais são os anticorpos IgAS da saliva. IgAS é o principal isotipo dos anticorpos que compõem o sistema imune de mucosas. Assim, as principais vias de imunização com antígenos de *S. mutans* são as mucosas, e estratégias de imunização intra-nasal têm se mostrado efetivas na indução da produção de anticorpos IgA específicos a Ags de virulência de *S. mutans* (21). Estratégias de imunização passiva também têm sido avaliadas. Estas envolvem a produção em larga escala de anticorpos purificados de ovos de galinhas imunizadas com Gtf ou GbpB (31), os quais poderiam ser incorporados na dieta. Outra estratégia envolve a imunização bovina, para a produção de leite rico em anticorpos anti-*S. mutans*.

As estratégias de vacinação parecem promissoras para o controle de infecção por *S. mutans*, podendo integrar programas de saúde pública. As fases de imunização ideais seriam aquelas imediatamente anteriores às fases iniciais de estabelecimento de *S. mutans* na cavidade bucal. Estudos clínicos em humanos são necessários para comprovar a segurança e manutenção de efeitos protetores a longo prazo (23,28).

Agradecimentos

A elaboração desta apostila contou com a colaboração do aluno do Curso de Graduação em Odontologia da FOP-UNICAMP, **Leandro Moraes Furlan** (RA 24277).

Referências Bibliográficas

1. **Ajdic, D., W. M. McShan, R. E. McLaughlin, G. Savic, J. Chang, M. B. Carson, C. Primeaux, R. Tian, S. Kenton, H. Jia, S. Lin, Y. Qian, S. Li, H. Zhu, F. Najar, H. Lai, J. White, B. A. Roe, and J. J. Ferretti.** 2002. Genome sequence of *Streptococcus mutans* UA159, a cariogenic dental pathogen. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A* **99**:14434-14439.
2. **Alaluusua, S. and O. V. Renkonen.** 1983. *Streptococcus mutans* establishment and dental caries experience in children from 2 to 4 years old. *Scand.J Dent.Res.* **91**:453-457.
3. **Banas, J. A. and M. M. Vickerman.** 2003. Glucan-binding proteins of the oral streptococci. *Crit Rev.Oral Biol.Med.* **14**:89-99.
4. **Becker, M. R., B. J. Paster, E. J. Leys, M. L. Moeschberger, S. G. Kenyon, J. L. Galvin, S. K. Boches, F. E. Dewhirst, and A. L. Griffen.** 2002. Molecular analysis of bacterial species associated with childhood caries. *J.Clin.Microbiol.* **40**:1001-1009.
5. **Burne, R. A.** 1998. Oral streptococci... products of their environment. *J.Dent.Res.* **77**:445-452.
6. **Caufield, P. W., G. R. Cutter, and A. P. Dasanayake.** 1993. Initial acquisition of mutans streptococci by infants: evidence for a discrete window of infectivity. *J Dent.Res.* **72**:37-45.
7. **Caufield, P. W., A. P. Dasanayake, Y. Li, Y. Pan, J. Hsu, and J. M. Hardin.** 2000. Natural history of *Streptococcus sanguinis* in the oral cavity of infants: evidence for a discrete window of infectivity. *Infect.Immun.* **68**:4018-4023.
8. **Emilson, C. G.** 1981. Effect of chlorhexidine gel treatment on *Streptococcus mutans* population in human saliva and dental plaque. *Scand.J Dent.Res.* **89**:239-246.
9. **Emilson, C. G.** 1994. Potential efficacy of chlorhexidine against mutans streptococci and human dental caries. *J Dent.Res.* **73**:682-691.
10. **Fitzgerald, R. J. and P. H. Keyes.** 1960. Demonstration of the etiologic role of streptococci in experimental caries in the hamster. *J.Am.Dent.Assoc.* **61**:9-19.
11. **Gronroos, L., M. Saarela, J. Matto, U. Tanner-Salo, A. Vuorela, and S. Alaluusua.** 1998. Mutacin production by *Streptococcus mutans* may promote transmission of bacteria from mother to child. *Infect.Immun.* **66**:2595-2600.
12. **Hanada, N., T. Katayama, A. Kunimori, Y. Yamashita, and T. Takehara.** 1993. Four different types of glucans synthesised by glucosyltransferases from *Streptococcus sobrinus*. *Microbios* **73**:23-35.
13. **Harris, G. S., S. M. Michalek, and R. Curtiss, III.** 1992. Cloning of a locus involved in *Streptococcus mutans* intracellular polysaccharide accumulation and virulence testing of an intracellular polysaccharide-deficient mutant. *Infect.Immun.* **60**:3175-3185.

14. **Keyes, P. H.** 1960. The infectious and transmissible nature of experimental dental caries. Findings and implications. *Arch.Oral Biol.* **1**:304-320.
15. **Kohler, B., I. Andreen, and B. Jonsson.** 1988. The earlier the colonization by mutans streptococci, the higher the caries prevalence at 4 years of age. *Oral Microbiol.Immunol.* **3**:14-17.
16. **Kohler, B., D. Bratthall, and B. Krasse.** 1983. Preventive measures in mothers influence the establishment of the bacterium *Streptococcus mutans* in their infants. *Arch.Oral Biol.* **28**:225-231.
17. **Li, Y. and P. W. Caufield.** 1995. The fidelity of initial acquisition of mutans streptococci by infants from their mothers. *J Dent.Res.* **74**:681-685.
18. **Li, Y., W. Wang, and P. W. Caufield.** 2000. The fidelity of mutans streptococci transmission and caries status correlate with breast-feeding experience among Chinese families. *Caries Res.* **34**:123-132.
19. **Loesche, W. J.** 1986. Role of *Streptococcus mutans* in human dental decay. *Microbiol.Rev.* **50**:353-380.
20. **Marsh, P. and M. V. Martin.** 2005. *Microbiologia Oral.* Livraria Santos Editora, São Paulo.
21. **Matee, M. I., F. H. Mikx, J. S. de Soet, S. Y. Maselle, J. de Graaff, and W. H. Palenstein Helderma.** 1993. Mutans streptococci in caries-active and caries-free infants in Tanzania. *Oral Microbiol.Immunol.* **8**:322-324.
22. **Mattos-Graner, R. O., Y. Li, P. W. Caufield, M. Duncan, and D. J. Smith.** 2001. Genotypic diversity of mutans streptococci in Brazilian nursery children suggests horizontal transmission. *J Clin.Microbiol.* **39**:2313-2316.
23. **Mattos-Graner, R. O. and D. J. Smith.** 2004. The vaccination approach to control infections leading to dental caries. *Braz J Oral Sci* **3**:595-608.
24. **Mattos-Graner, R. O., F. Zelante, R. C. Line, and M. P. Mayer.** 1998. Association between caries prevalence and clinical, microbiological and dietary variables in 1.0 to 2.5-year-old Brazilian children. *Caries Res.* **32**:319-323.
25. **Michalek, S. M., J. R. McGhee, J. Mestecky, R. R. Arnold, and L. Bozzo.** 1976. Caries immunization through ingestion of *Streptococcus mutans*. *Dent.Abstr.* **21**:522-523.
26. **Nascimento, M. M., J. A. Lemos, J. Abranches, R. B. Goncalves, and R. A. Burne.** 2004. Adaptive acid tolerance response of *Streptococcus sobrinus*. *J.Bacteriol.* **186**:6383-6390.
27. **Nogueira, R. D., A. C. Alves, M. H. Napimoga, D. J. Smith, and R. O. Mattos-Graner.** 2005. Characterization of salivary immunoglobulin a responses in children heavily exposed to the oral bacterium *Streptococcus mutans*: influence of specific antigen recognition in infection. *Infect.Immun.* **73**:5675-5684.

28. **Smith, D. J.** 2002. Dental caries vaccines: prospects and concerns. *Crit Rev.Oral Biol.Med.* **13**:335-349.
29. **Smith, D. J., J. M. Anderson, W. F. King, J. van Houte, and M. A. Taubman.** 1993. Oral streptococcal colonization of infants. *Oral Microbiol.Immunol.* **8**:1-4.
30. **Smith, D. J., W. F. King, L. A. Barnes, Z. Peacock, and M. A. Taubman.** 2003. Immunogenicity and protective immunity induced by synthetic peptides associated with putative immunodominant regions of *Streptococcus mutans* glucan-binding protein B. *Infect.Immun.* **71**:1179-1184.
31. **Smith, D. J., W. F. King, and R. Godiska.** 2001. Passive transfer of immunoglobulin Y antibody to *Streptococcus mutans* glucan binding protein B can confer protection against experimental dental caries. *Infect.Immun.* **69**:3135-3142.
32. **Tanzer, J. M.** 1995. Dental caries is a transmissible infectious disease: the Keyes and Fitzgerald revolution. *J.Dent.Res.* **74**:1536-1542.
33. **Taubman, M. A. and D. J. Smith.** 1977. Effects of local immunization with glucosyltransferase fractions from *Streptococcus mutans* on dental caries in rats and hamsters. *J Immunol.* **118**:710-720.
34. **Taubman, M. A. and D. J. Smith.** 2005. Microbiology of dental caries, p. 408-421. *In* J. Slots and M. A. Taubman (eds.), *Contemporary Oral Microbiology and Immunology*. St. Louis : Mosby-Year Book.
35. **Thylstrup, A. and O. Fejerskov.** 1995. *Cariologia clínica*. Editora Santos, São Paulo.
36. **Twetman, S. and M. Grindeffjord.** 1999. *Mutans streptococci* suppression by chlorhexidine gel in toddlers. *Am.J Dent.* **12**:89-91.
37. **van Houte, J., G. Gibbs, and C. Butera.** 1982. Oral flora of children with "nursing bottle caries". *J Dent.Res.* **61**:382-385.
38. **Wennerholm, K., D. Birkhed, and C. G. Emilson.** 1995. Effects of sugar restriction on *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sobrinus* in saliva and dental plaque. *Caries Res.* **29**:54-61.
39. **Yamashita, Y., N. Hanada, and T. Takehara.** 1989. Purification of a fourth glucosyltransferase from *Streptococcus sobrinus*. *J.Bacteriol.* **171**:6265-6270.