

DENISE M. PALOMARI SPOLIDORIO

BIOTIPOS DE *Streptococcus* grupo mutans E
AVALIAÇÃO DE PARÂMETROS CLÍNICOS E
MICROBIOLÓGICOS ENTRE ESCOLARES DE DIFERENTES
CLASSES SÓCIO-ECONÔMICAS

*Este exemplar foi devolvido/
corrigido, conforme resolução
CCPE/036/83
28/04/97 Orientador*

Tese apresentada ao curso de Pós-Graduação em Odontologia - Área de Biologia e Patologia Buco - Dental, Faculdade de Odontologia de Piracicaba, Universidade Estadual de Campinas - UNICAMP, para obtenção do Título de Doutor em Ciências.

PIRACICABA
1997

Sp65b
30680/BC

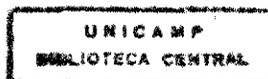
DENISE M. PALOMARI SPOLIDORIO

**BIOTIPOS DE *Streptococcus* grupo mutans E
AVALIAÇÃO DE PARÂMETROS CLÍNICOS E
MICROBIOLÓGICOS ENTRE ESCOLARES DE DIFERENTES
CLASSES SÓCIO-ECONÔMICAS**

Tese apresentada ao curso de Pós-Graduação em Odontologia - Área de Biologia e Patologia Buco - Dental, Faculdade de Odontologia de Piracicaba, Universidade Estadual de Campinas - UNICAMP, para obtenção do Título de Doutor em Ciências.

Orientador : PROF. DR. JOSÉ FRANCISCO HÖFLING

Piracicaba
1997



9706133

UNIDADE	BC
CHAMADA	T/UNICAMP
	Sp65
Ex.	
COMBO BC/	30620
PROC.	28/197
C	<input type="checkbox"/>
D	<input checked="" type="checkbox"/>
PREÇO	R\$ 11,00
DATA	28/10/97
N.º CPD	

CM-00 099244-3

Ficha Catalográfica Elaborada pela Biblioteca da FOP/UNICAMP

Sp65s

Spolidorio, Denise Madalena Palomari.

Biotipos de *Streptococcus* grupo mutans e avaliação de parâmetros clínicos e microbiológicos entre escolares de diferentes classes sócio-econômicas / Denise Madalena Palomari Spolidorio. - Piracicaba : [s.n.], 1997.

130f. : il.

Orientador : José Francisco Höfling.

Tese (doutoramento) - Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Odontologia de Piracicaba.

1. Classe social. 2. Cáries dentárias. 3. Bactéria. I. Höfling, José Francisco. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Odontologia de Piracicaba. III. Título.

19.CDD - 323.32
- 617.67

Índices para o Catálogo Sistemático

1. Classes sócio-econômicas	323.32
2. Cáries	617.67



A Comissão Julgadora dos trabalhos de Defesa de Tese de **Doutorado**, em sessão pública realizada em 25/04/96, considerou o candidato aprovado.

1. José Francisco Hofling

2. Odila Pereira da Silva Rosa

3. Antonio Olavo Cardoso Jorge

4. Regina M. Puppim Rontani

5. Carlos Benatti Neto

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. **JOSÉ RANALLI**, Diretor da Faculdade de Odontologia de Piracicaba-UNICAMP

Ao Prof. Dr. **MÁRIO FERNANDO DE GÓES** Coordenador Geral dos Cursos de Pós-Graduação da Faculdade de Odontologia de Piracicaba-UNICAMP.

Ao Prof. Dr. **CARLOS ROBERTO HOPE FORTINGUERRA**, e demais Coordenadores do Curso de Biologia e Patologia Buco-Dental da Faculdade de Odontologia de Piracicaba- UNICAMP.

À Profa. Dra. **REGINA M. PUPPIN RONTANI** do Departamento de Odontologia Infantil - Área de Odontopediatria da FOP - UNICAMP, pela amizade, apoio e incentivo no decorrer do trabalho.

À Profa. **MARIA IZALINA FERREIRA ALVES**, do Departamento de Matemática e Estatística da ESALQ - USP, pela programação e orientação estatística.

Às crianças que anonimamente contribuíram para este trabalho, nosso mais profundo respeito e agradecimento.

Aos Diretores das escolas públicas e particulares, sem o qual não seria possível a realização deste trabalho.

À todos os Professores do Curso de Pós-graduação em Biologia e Patologia Buco-Dental, pelos ensinamentos durante o decorrer do curso de Doutorado.

À amiga **DANIELLA MOREIRA** pelo incentivo, apoio e colaboração no decorrer do trabalho e pela valiosa ajuda profissional, sem o qual não seria possível a realização deste trabalho.

Aos funcionários da disciplina de Microbiologia e Imunologia **ANDERSON LAERTE TEIXEIRA, WILMA C. FERRAZ e ELZA M. TOMAZINI**, pela amizade e respeito que sempre me distinguiram.

Às Sras. **IVANI ODAS DEMETRIO, MARIA APARECIDA SANTIAGO VARELLA, ELIENE A. ORSINI** pelo exemplo de amizade e companheirismo nos árduos momentos no decorrer do curso.

Ao Sr. **EMÍLIO CARLOS SALLES** e à todos do CPD-FOP que pacientemente auxiliaram os trabalhos de confecção dos gráficos.

Aos Srs. **ALEXANDRE DE JORGE E ANTONIO MOURA** (motoristas) que sempre demonstraram amizade e cooperação durante o trabalho de coleta de material nas escolas.

Aos amigos **ROZÂNGELA VERLENGIA, EDVALDO A. RIBEIRO ROSA, ALESSANDRA S. CAMPOS e ANA MARIA SELL** solidários em todos os momentos deste trabalho e **CRISTINA CRESPO RODRIGUES, CASSIO VICENTE PEREIRA e JANAÍNA A. DE OLIVEIRA RODRIGUES** que iniciam os laços de amizade.

Aos amigos do Curso de Pós-Graduação, pela amizade e solidariedade sempre recebidos.

À **FAPESP, CNPq e FAEP - UNICAMP** importantes instituições de apoio e fomento à pesquisa no País, nossos agradecimentos.

Acreditar e crer na pessoa amada, é imaginar um amor infinito, obrigada, **LUÍS CARLOS**, pela força e carinho que me tens dedicado em todos os momentos...

Aos meus filhos **FERNANDO** e **EDUARDO**, que me ensinaram o sentido da vida.

Aos meus pais, **FRANCISCO** e **DALVICE**, pelo constante incentivo e apoio para que pudesse seguir o meu caminho nesta vida.

À minha irmã **EVANISI** e minha sobrinha **MAYTA**, sempre presentes em todas as fases importantes da minha vida

À **NAIR** e **LUCILENE**, por seus esforços sempre presentes nessa conquista.

Ao Prof. Dr. **JOSÉ FRANCISCO HÖFLING**,
meu fraterno amigo e orientador, a quem
devo os ensinamentos contidos neste
trabalho. Aqui fica a minha gratidão maior.

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela I - Características bioquímicas para a identificação das espécies de <i>Streptococcus</i> grupo mutans.	37
Tabela II : Distribuição do total das espécies de <i>Streptococcus</i> grupo mutans por classe sócio-econômica.	43
Tabela III - Distribuição e frequência de indivíduos portadores de diferentes espécies do grupo mutans por classe sócio-econômica.	46
Tabela IV - Distribuição (n=200) de crianças de diferentes classes sócio-econômicas com relação ao número de UFC/ml de <i>Lactobacillus</i> na saliva.	47
Tabela V - Distribuição (n=200) de crianças de diferentes classes sócio-econômicas com relação ao número de Unidades Formadoras de Colônias por ml (UFC/ml) de <i>Streptococcus</i> grupo mutans na saliva.	49
Tabela VI a - Média da contagem de <i>Streptococcus</i> grupo mutans e <i>Lactobacillus</i> dos escolares das diferentes classes sócio-econômicas.	51
Tabela VI b - Correlação entre a variável <i>Streptococcus</i> grupo mutans e <i>Lactobacillus</i> dentro de cada classe sócio-econômica.	52
Tabela VII - Distribuição (n=200) de crianças com relação à distribuição dos valores da variável índice de fluxo salivar (classes de frequência em ml/min), média (\bar{x}) e desvio padrão (s) segundo as classes sócio-econômicas.	53
Tabela VIII - Distribuição (n=200) de crianças com relação à distribuição dos valores da variável pH (classes de frequência), média (\bar{x}) e desvio padrão (s) segundo as classes sócio-econômicas.	55

Tabela IX - Distribuição (n=200) de crianças com relação à distribuição dos valores da variável indicador de capacidade tampão, média (\bar{x}) e desvio padrão (s) segundo as classes sócio-econômicas.....	56
Tabela X - Distribuição (n=200) de crianças com relação à distribuição dos valores da variável ceos, média (\bar{x}) e desvio padrão (s), nas diferentes classes sócio-econômicas.....	58
Tabela XI - Distribuição (n=200) de crianças com relação à distribuição dos valores da variável CPOS, média (\bar{x}) e desvio (s) nas diferentes classes sócio-econômicas.....	59
Tabela XII - Correlação entre a variável ceos com as variáveis índice de fluxo salivar, pH, indicador de capacidade tampão.....	61
Tabela XIII - Correlação entre a variável CPOS com as variáveis fluxo salivar, pH, capacidade tampão, ceos, <i>Streptococcus</i> grupo mutans e <i>Lactobacillus</i>	63

ÍNDICE DE FIGURAS

Gráfico 1 - Gráfico comparativo da frequência (n=200) de crianças de diferentes classes sócio-econômicas com relação ao número de UFC/ml de <i>Lactobacillus</i> na saliva.....	48
Gráfico 2 - Gráfico comparativo da frequência (n=200) de crianças de diferentes classes sócio-econômicas com relação ao número de UFC/ml de <i>Streptococcus</i> grupo mutans na saliva.....	50
Gráfico 3 - Gráfico comparativo da média (\bar{x}) da contagem em UFC/ml de <i>Streptococcus</i> grupo mutans e <i>Lactobacillus</i> de escolares das diferentes classes sócio-econômicas.....	51
Gráfico 4 - Média (\bar{x}) dos valores da variável índice de fluxo salivar segundo as classes sócio-econômicas.....	54
Gráfico 5 - Média (\bar{x}) dos valores da variável pH segundo as classes sócio-econômicas.....	55
Gráfico 6 - Média (\bar{x}) dos valores da variável indicador de capacidade tampão segundo as classes sócio-econômicas.....	57
Gráfico 7 - Média (\bar{x}) dos valores da variável ceos, nas diferentes classes sócio-econômicas.....	58
Gráfico 8 - Média (\bar{x}) dos valores de CPOS, nas diferentes classes sócio-econômicas.....	60
Gráfico 9 - Índice (%) de lesões de cárie nas superfícies de dentes decíduos (ceos) de crianças da classe sócio-econômica A.....	66
Gráfico 9 a - Frequência (%) de crianças com cárie e sem cárie nos dentes decíduos na classe sócio-econômica A.....	66
Gráfico 10 - Índice (%) de lesões de cárie nas superfícies de dentes decíduos (ceos) de crianças da classe sócio-econômica B.....	67

Gráfico 10 a - Frequência (%) de crianças com cárie e sem cárie nos dentes decíduos na classe sócio-econômica B.....	67
Gráfico 11 - Índice (%) de lesões de cárie nas superfícies de dentes decíduos (ceos) de crianças da classe sócio-econômica C.....	68
Gráfico 11 a - Frequência (%) de crianças com cárie e sem cárie nos dentes decíduos na classe sócio-econômica C.....	68
Gráfico 12 - Índice (%) de lesões de cárie nas superfícies de dentes decíduos (ceos) de crianças da classe sócio-econômica D.....	69
Gráfico 12 a - Frequência (%) de crianças com cárie e sem cárie nos dentes decíduos na classe sócio-econômica D.....	69
Gráfico 13 - Índice (%) de lesões de cárie nas superfícies de dentes decíduos (ceos) de crianças da classe sócio-econômica E.....	70
Gráfico 13 a - Frequência (%) de crianças com cárie e sem cárie nos dentes decíduos na classe sócio-econômica E.....	70
Gráfico 14 - Índice (%) de lesões de cárie nas superfícies de dentes permanentes. Dados comparativos da média (\bar{x}) da distribuição dos valores de CPOS nas diferentes classes sócio-econômicas.	72
Gráfico 14 a. Frequência (%) de crianças com cárie e sem cárie nos 1 ^{os} molares permanentes, das diferentes classes sócio-econômicas.	72

SUMÁRIO

RESUMO

INTRODUÇÃO	1
REVISÃO DA LITERATURA	6
MATERIAL E MÉTODOS	31
RESULTADOS.....	42
DISCUSSÃO.....	73
CONCLUSÕES	98
SUMMARY	101
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	103
APÊNDICE.....	126

RESUMO

RESUMO

Com o propósito de se analisar bioquimicamente e microbiologicamente a saliva de escolares de diferentes classes sócio-econômicas, com idades de 6 a 8 anos da região de Piracicaba, 200 escolares totalizados pela soma de 40 crianças de 5 classes sócio-econômicas (A à E), foram analisados procurando-se conhecer primeiramente a prevalência das espécies de *Streptococcus* grupo mutans e em segundo lugar, avaliar os parâmetros clínicos e microbiológicos, com ênfase em estudos sobre a atividade cariogênica dessas populações. Dados clínicos de cárie (ceos/CPOS) foram obtidos preliminarmente à coleta da saliva. As amostras de saliva obtidas foram diluídas em solução salina, e posteriormente semeadas em meio de cultura SB₂₀. Previamente à diluição, a saliva concentrada foi analisada, medindo-se o fluxo salivar, índice de capacidade tampão e pH. Após o crescimento das colônias características, procedeu-se à contagem de UFC/ml de *Streptococcus* grupo mutans e *Lactobacillus*, ao lado da identificação e caracterização das espécies do grupo mutans mais prevalentes, através das provas de fermentação de carboidratos. Os resultados obtidos mostraram que das 491 amostras isoladas com características do grupo *mutans*, 78% desses microrganismos pertencem à espécie *S. mutans*, 12% à espécie *S. sobrinus*, e o restante dividindo-se em *S. rattus*, *S. mutans* V, *S. cricetus* e *S. ferus* em menores porcentagens, com predominância de *S. mutans* em todas as classes sócio-

econômicas. Nos indivíduos multicolonizados, a associação mais frequente foi de *S. mutans* / *S. sobrinus* (17%). Entre todas as classes sócio-econômicas estudadas, uma parcela significativa da amostra foi considerada como pacientes de alto risco à cárie, visto que a contagem de *S. mutans*, *Lactobacillus* e o índice cariogênico foi considerado acima dos índices normais relatados na literatura, principalmente nas classes mais baixas (D/E). Dentre os diversos parâmetros analisados para se identificar esses grupos de alto risco, como fluxo salivar, indicador de capacidade tampão, contagem de *S. mutans* e *Lactobacillus*, índice ceos/CPOS, observa-se uma correlação estatisticamente significativa para todas as classes sócio-econômicas somente entre prevalência de cárie em dentes decíduos e dentes permanentes, sugestivo de que o índice ceos pode ser um indicativo de cáries futuras.

INTRODUÇÃO

1. INTRODUÇÃO

Atualmente é inquestionável a implicação de *Streptococcus* grupo mutans como o primordial agente da cárie em animais gnotobiotos e em humanos, embora se reconheça não serem estes os únicos microrganismos envolvidos no processo cariogênico. Esse evento, é modernamente reconhecido como uma doença infecciosa de caráter crônico, dependente da interação e associação de um hospedeiro susceptível (dente), microrganismos cariogênicos e uma dieta cariogênica rica em sacarose, por um determinado período de tempo. Nessas circunstâncias, infecções por *S.mutans* correlacionam-se positivamente com o início do desenvolvimento da cárie, enquanto os *Lactobacillus*, por não ter a capacidade de aderir à superfície dental, tem sido associado com o desenvolvimento subsequente da lesão.

A atividade de cárie pode ser interpretada, em termos gerais, como a velocidade com que a dentição é destruída pela cárie e tem sido descrita como um sério problema odonto-social nos países em desenvolvimento porque acomete grande parte da população principalmente jovem. Por outro lado, do mesmo modo que outras doenças humanas, o padrão de cárie tem-se alterado historicamente. Nos países desenvolvidos, a prevalência da cárie particularmente nas crianças e adolescentes tem declinado de maneira marcante, devido à um aumento com os cuidados dentários, dentre outros fatores sociais e políticos, os quais tem levado conseqüentemente à conservação de um número maior de dentes nos grupos mais idosos.

Em países como o Brasil, país considerado em desenvolvimento, o quadro da cárie dentária tem sido descrito pelos epidemiologistas da área Odontológica, como sendo o oposto, com um aumento dramático desse evento nas crianças e adolescentes em idade escolar, atribuídos principalmente a uma dieta do tipo ocidental, associados a outros fatores sociais, culturais e políticos, como diferenças marcantes entre classes sócio-econômicas distintas, graus de informação e educação diferenciados e falta de definição de uma política de saúde pública pelos governantes.

Os dados que resumem os níveis de cárie para diversas idades, diferem entre os países e também ocultam em si, grandes variações geográficas regionais e locais. Eles refletem características sociais, comportamentais, culturais e econômicas das populações envolvidas, embora a influência desses fatores sobre a cárie seja indireto e não bem definido. A condição sócio-econômica, por exemplo, que é definida, de modo geral, pelo índice educacional, tipo de profissão e renda familiar, determina o valor informativo colocado sobre a manutenção da dentição natural e influencia o grau de conhecimento, capacidade e esforço pessoal dos indivíduos para adotar estilos de vida que promovam a saúde e de se protegerem contra as doenças. Dessa forma, a importância de um levantamento epidemiológico e a obtenção de informação regional e local, constitui a principal razão de estabelecermos os propósitos desta investigação, apresentados a seguir.

Com base nos dados relatados e conhecimentos acumulados nessa área, nos propusemos à pesquisa em questão, cuja preocupação, por um lado, foi a de se fazer um levantamento epidemiológico e a

obtenção de informação regional e local, do ponto de vista microbiológico, e por outro, associado a esses objetivos específicos, contribuir para uma reflexão sobre o lugar do social no campo da saúde dental.

Proposição

Delineamos este trabalho, tendo como objetivos:

1. Isolar e identificar os principais biotipos de *Streptococcus* grupo mutans da saliva de escolares de diferentes classes sócio-econômicas.
2. Conhecer a distribuição e frequência desses microrganismos nas diferentes classes sócio-econômicas.
3. Avaliar e correlacionar os parâmetros clínicos, salivares e microbiológicos nas diferentes classes sócio-econômicas e o seu significado em relação à atividade cariogênica dessas populações.

REVISÃO DA LITERATURA

2. REVISÃO DE LITERATURA

Os estreptococos formam um grupo heterogêneo de bactérias responsáveis por vários tipos diferentes de manifestações clínicas como faringite, endocardite, escarlatina, cárie dentária e doença periodontal, além de estarem presentes também em outros locais diferentes como no leite e seus derivados, em plantas, alimentos e águas contaminadas (MUNDT, 1982).

Intensos trabalhos de investigação nos últimos 15 anos, contribuíram para o atual e extenso conhecimento acerca das propriedades biológicas, bioquímicas, imunológicas e patológicas dos estreptococos, particularmente da microbiota oral, já que esta se apresenta como um complexo ecossistema, contendo uma grande variedade de espécies microbianas.

Do ponto de vista patogênico, tem havido constante acúmulo de informações de que o *Streptococcus mutans* é a bactéria mais intimamente associada com a fase inicial da lesão cariosa (HAMADA & SLADE, 1980), enquanto que os *Lactobacillus*, por não terem a capacidade de aderir à superfície do dente, associam-se então somente com o desenvolvimento subsequente da lesão (KRASSE, 1988). É possível também que a associação de diferentes bactérias varie de acordo com o local da doença. Outras bactérias da placa dental, como *S. sanguis* e *Actinomyces*, não parecem estar relacionadas com tais processos, mas é claro que uma certa

proporção das lesões cariosas pode ser devida a outras espécies que não *S. mutans* (RUSSEL & JOHNSON, 1987).

Os estreptococos da cavidade oral, particularmente *S. mutans* tem sido objeto de vários estudos morfológicos, bioquímicos, genéticos e sorológicos, originando inúmeros trabalhos que envolvem a identificação e caracterização desses microrganismos. O *S. mutans*, foi primeiramente isolado de lesões cariosas humanas por CLARKE (1924). Durante as décadas que se sucederam a este achado, nenhum novo relato foi acrescido à literatura. Todavia, a partir de 1956, através de várias comunicações, esses microrganismos foram "redescobertos". Essas bactérias demonstraram causar cárie dental em roedores (FITZGERALD et al., 1960; FITZGERALD & KEYES, 1960; GIBBONS et al., 1966; KRASSE, 1966). Posteriormente, alguns estudos demonstraram que os estreptococos cariogênicos condiziam com a descrição do *S. mutans* (CARLSSON, 1968; EDWARDSSON, 1968). Sendo assim, o *S. mutans* permaneceu relacionado à cárie dental como o principal agente etiológico (SHKLAIR et al., 1972), podendo ser isolado de placas dentais ou da saliva de indivíduos cárie-ativos (LOESCHE, 1982).

Estudos taxonômicos realizados com várias amostras dessas espécies, demonstraram variedades correspondentes a *S. mutans* (CARLSSON, 1968; DRUCKER & MELVILLE, 1971). Nesse sentido, a existência de diferenças sorológicas entre cepas de *S. mutans* foi primeiramente observada por ZINNER & JABLON (1968), que

demonstraram um certo grau de heterogeneidade entre as mesmas. Posteriormente, BRATTHAL (1970), estudando cepas de *S. mutans*, dividiu-as em 5 grupos baseado na presença de 5 diferentes antígenos específicos. Essa classificação foi fundamentada em reação de precipitação obtida pela difusão em gel. O autor estabeleceu os grupos sorológicos a, b, c, d e um quinto grupo, designado e. Os primeiros quatro tipos (a, b, c, d) possuíam antígenos específicos para *S. mutans*, enquanto que extratos do tipo e, reagem com antisoro do tipo E de LANCEFIELD (1933).

Os estudos de taxonomia numérica levados a efeito por CARLSSON (1968) e DRUCKER & MELVILLE (1971), demonstraram que cepas de *S. mutans* são fenotipicamente homogêneas. No entanto, COYKENDALL (1970) e DUNNY et al. (1973), obtiveram variações na constituição de bases do DNA entre cepas de *S. mutans* e, posteriormente em experimentos de reassociação de DNA, demonstraram a existência de 4 grupos genéticos distintos (I a IV), levando COYKENDALL (1974) a propor subespécies ou "genoespécies" de *S. mutans*. Concomitantemente, COYKENDALL et al. (1974), descreveram um novo genótipo V, isolado da boca de ratos selvagens. Posteriormente, correlacionou os genótipos com os sorotipos descritos por BRATTHALL (1970), afirmando que, dentre um genótipo, diferentes sorotipos e reações bioquímicas poderiam ocorrer (COYKENDALL, 1977). Subsequentemente, PERCH et al. (1974), com base em estudos sorológicos, propuseram dois sorotipos adicionais (f, g).

Durante esse período, um novo esquema bioquímico foi proposto por SHKLAIR & KEENE (1974), para separação de *S. mutans*. A identificação foi baseada em provas de fermentação de manitol, sorbitol, rafinose, melibiose e na habilidade de produzir amônia de arginina. Assim, através de características bioquímicas, a existência de 5 grupos distintos (I - V) foi descrita, relacionados aos sorotipos a - e de BRATTHALL (1970). COYKENDALL (1977), propôs elevar as diversas subespécies de *S. mutans*, à categoria de espécie, tendo como base as suas composições moleculares. As 5 espécies descritas foram: *S. cricetus*, *S. rattus*, *S. mutans*, *S. sobrinus* e *S. ferus*. KRAL & DANEO-MOORE (1981), propuseram mais um esquema bioquímico de diferenciação, constituindo a modificação do sistema API 50 L*, destinado à caracterização bioquímica de lactobacilos que, associado ao esquema de SHKLAIR & KEENE (1974), permite a diferenciação de espécies do grupo mutans. Com base em estudos de taxonomia, BEIGHTON et al. (1981), isolaram da placa dental de macacos (*Macaca fascicularis*) o sorotipo h - o qual estaria implicado no processo de cárie em macacos - foi intimamente relacionado ao grupo

*API - System - appareils et Procédés d'Identification, Montalieu Vercien, França.

genético III (sorotipo d, g). Posteriormente, BEIGHTON et al. (1984), propuseram mais uma espécie, *Streptococcus macacae*, pertencente ao grupo mutans apresentando o sorotipo c, assim como *S. mutans* e *S. ferus*; contudo, sua diferente composição genética (G+C= 35 a 36 moles %), a distingue das outras espécies que possuem o antígeno c e dos outros estreptococos do grupo mutans. BEIGHTON et al. (1991), propuseram um novo esquema bioquímico mais simplificado, baseado em testes enzimáticos e de fermentação de carboidratos para diferenciar cepas de *S. mutans* e *S. sobrinus*.

A comprovação de que variações em características bioquímicas, sorológicas e genéticas entre estreptococos do grupo relacionam-se à espécie animal da qual foram isolados (BRATTHALL, 1970; COYKENDALL, 1974; PERCH et al., 1974), foi reconhecida pela última edição do Manual BERGEY'S (HARDIE, 1986), que descreve o grupo mutans de *Streptococcus*, composto pelas espécies *S. cricetus*, *S. mutans*, *S. rattus*, *S. sobrinus*, *S. ferus* e *S. macacae*. Recentemente, WHILEY et al. (1988), propuseram mais uma espécie, *S. downei*, sorotipo h, representando uma espécie distinta, pertencente ao grupo mutans.

Espécies de *Streptococcus* grupo mutans

Streptococcus mutans

Proposto por CLARKE (1924), este microrganismo forma colônias branco-acinzentadas, circulares e frequentemente irregulares. Fermentam glicose por fermentação homolática, sem formação de gás. Esse estreptococo hidrolisa arginina e esculina e é resistente à bacitracina (2 unidades/ml). Fermenta manitol, sorbitol, rafinose e melibiose e não produz peróxido de hidrogênio. Sorologicamente, foram descritos como sorotipos c, e, f (BRATTHALL, 1970). O habitat de *S. mutans* é a superfície dos dentes, sendo sua colonização favorecida por altos níveis de sacarose na dieta.

Streptococcus sobrinus

Proposto por COYKENDALL (1983), este microrganismo foi originalmente isolado de cavidade oral humana e, primeiramente mencionado por FITZGERALD & JORDAN (1968), porém, não descrito anteriormente. Algumas cepas de *S. sobrinus* são alfa-hemolíticas, outras não hemolíticas. Não sintetizam quantidades significantes de polissacarídeos intracelulares. Sorologicamente, reagem usualmente com antisoro para *S. mutans* sorotipo d ou g (BRATTHALL, 1970). O habitat de *S. sobrinus* é a superfície dos dentes, sendo cariogênico para animais

experimentais e podendo estar associado à cárie dental humana (COYKENDALL, 1983, AHMADY et al., 1993).

Streptococcus rattus

nome desta espécie foi dado por COYKENDALL (1977), à estreptococos que produzem glucano extracelular adesivo. Em agar sacarosado, algumas cepas de *S. rattus* produzem colônias firmes, frequentemente rugosas. Foram descritos originalmente como sorotipo b de *S. mutans* (BRATTHALL, 1970), tendo sido primeiramente obtido em ratos de laboratório, embora tenham sido também isolados da cavidade oral humana.

Streptococcus cricetus

Originalmente isolados da cavidade oral de hamster (COYKENDALL, 1977), algumas cepas de *S. cricetus* produzem uma zona de alfa-hemólise, mas a maior parte é não hemolítica em agar sangue. As colônias em agar sacarosado aparecem frequentemente brilhantes e circundadas por líquido contendo glucano extracelular solúvel. As cepas desse microrganismo reagem com antissoro para *S. mutans* sorotipo a (BRATTHALL, 1970), embora algumas cepas tenham perdido esse antígeno.

Streptococcus ferus

Descrito por COYKENDALL (1983), *S. ferus* foram originalmente isolados da cavidade oral de ratos que consumiam cana-de-açúcar como

dieta alimentícia (COYKENDALL et al., 1974). Estas cepas reagem com antisoro c de BRATTHAL (1970) e produzem polissacarídeos extra e intracelulares. Fermentam manitol e sorbitol, mas não fermentam rafinose e são inibidos por bacitracina (2 unidades/ml).

Streptococcus macacae

O termo *S. macacae* foi proposto por BEIGHTON et al., (1984), por ter sido isolado de placa dental de macacos (*Macaca fascicularis*). Esse estreptococo produz manitol e rafinose, mas não inulina e é sensível à bacitracina. Sorologicamente, reage com antisoro para *S. mutans* sorotipo c (BRATTHALL, 1970), como *S. mutans* e *S. ferus*. Não produz peróxido de hidrogênio, porém hidroliza esculina. O habitat de *S. macacae* é a cavidade oral, predominantemente a superfície dos dentes.

Streptococcus downei

Descrito por WHILEY et al. (1988), *S. downei* foi originalmente isolado de placa dental de macacos (*Macaca fascicularis*) e designado como sorotipo h. Essa espécie forma colônias firmes, pequenas e rugosas. Fermenta manitol, glicose, sacarose, frutose, galactose, inulina, mas não fermenta melibiose, sorbitol, rafinose, arabinose, sorbose e xilitol. Não produz amônia de arginina, nem peróxido de hidrogênio. Não cresce a 45°C, e é inibido por bacitracina (2 unidades/ml).

Isolamento

Os estreptococos orais podem ser isolados de vários sítios da cavidade oral, através de um meio de cultura normalmente usado em pesquisa com estreptococos orais, o mitis salivarius (MS), desenvolvido por CHAPMAN (1944). O método de isolamento desses microrganismos, foi amplamente facilitado pelo desenvolvimento de um outro meio seletivo, o MSB - mitis salivarius bacitracina (GOLD et al., 1973), tendo como base o MS e a combinação de bacitracina, telurito de potássio e uma maior concentração de sacarose. Posteriormente, VAN PALENSTEIN HELDERMAN et al. (1983), desenvolveram mais um meio para estreptococos, o TYCSB (Trypticase Yeast-Extract Cystine agar medium), o qual apresentou uma maior recuperação de cepas do grupo *mutans* quando comparado ao MSB. TANZER & CLIVE (1986), consideram o MSB não satisfatório para isolamento por ser parcialmente seletivo e sub-estimar a presença de mutans. Segundo KIMMEL & TINANOFF (1991), o MSB leva a uma contagem maior do que o real, pois o meio não suprime os estreptococos não mutans para facilitar a identificação dos mesmos, podendo levar a resultados falsos positivos. Assim, vários meios seletivos têm sido desenvolvidos para o isolamento de estreptococos da cavidade oral, e já que alguns estreptococos produzem polissacarídeos extracelulares a partir de sacarose, esses meios em geral, incluem concentrações adequadas de sacarose, como por exemplo, o meio seletivo SB 20, descrito por DAVEY & ROGERS (1984), o qual através da

combinação de sacarose e bacitracina, forma colônias firmes brancas, opacas, duras, sendo assim, altamente seletivo para cepas do grupo *mutans*. Posteriormente, AZEVEDO (1988), modificou o meio SB 20 substituindo a sacarose P.A. por açúcar refinado ou cristal comercial, tornando assim, o meio mais econômico e sem diminuir sua eficiência. Dessa forma, TORRES et al. (1993), propõem o uso do agar SB 20, concluindo que este é igualmente adequado para o isolamento de estreptococos do grupo *mutans*, quando comparado ao MSB.

Lactobacilos

Os lactobacilos orais são bastonetes Gram-positivos, não esporulados, cujo isolamento foi facilitado pelo uso de meio seletivo de ágar Rogosa (ROGOSA et al., 1951), que evita o crescimento de muitos outros microrganismos orais pelo seu baixo pH, e é usado até hoje, graças à adição de um agente tensioativo (tween 80) e uma mistura de sais especiais. Muitas espécies estão presentes na boca: *L. acidophilus*, *L. salivarius*, *L. casei*, *L. buchneri*, *L. fermenti* e *L. plantarum*. Esses microrganismos são encontrados como transitórios na boca dos recém-nascidos e representam cerca de 1% da microbiota oral; *L. casei* e *L. fermenti* são as espécies orais mais comuns, sendo o *L. casei* o mais numeroso, e capaz de fermentar o manitol e o sorbitol (como o *S. mutans*). Apresentam-se regularmente em crianças com mais de dois anos de idade,

sendo que a presença de *Lactobacillus casei* é associada com a ocorrência de cárie em crianças de 2 a 5 anos (CARLSON et al., 1987).

Os lactobacilos foram os primeiros microrganismos a serem considerados cariogênicos (VAN HOUTE, 1994) porém, atualmente considera-se que não são iniciadores, mas sim relacionados à progressão do processo carioso (ANDERSON et al., 1993). Os lactobacilos são usualmente encontrados nas lesões de cáries que já apresentam cavitação e o seu número na saliva geralmente mantém uma correlação positiva com a experiência de cárie. Por outro lado, sabe-se que a população de lactobacilos orais é influenciada pelos hábitos dietéticos e que a restrição rigorosa do consumo de carboidratos, em geral, faz decrescer significativamente a atividade de cárie e o número de lactobacilos na saliva (JAY, 1947; VAN HOUTE, 1981; KRASSE, 1986; ALALUUSUA, 1993). No entanto, esses microrganismos têm sido mais frequentemente associados com a progressão das lesões cariosas do que com a sua iniciação, que dependeria da ação anterior de estreptococos do grupo *mutans*. Nessas circunstâncias, a detecção de uma alta concentração de lactobacilos na saliva ($>10^4$ UFC/ml) funcionaria como um excelente indicador de risco de progressão das cáries iniciais pré-existentes. O reconhecimento de que os lactobacilos são muito mais resistentes ao flúor em pH ácido, levou MALTZ & EMILSON (1982), a sugerirem que a presença de flúor no ambiente teria um menor efeito sobre os lactobacilos do que sobre os *S. mutans*, resultando que os primeiros estariam mais aptos a metabolizar

carboidratos em níveis de fluoreto que inibiriam os estreptococos. Portanto, a presença de suficiente fluoreto no ambiente, seria uma vantagem ecológica seletiva não desprezível para os lactobacilos em relação aos estreptococos, na superfície dos dentes.

Os *S. mutans* e *Lactobacillus* podem ser facilmente cultivados e identificados. Portanto, é possível aplicar os conhecimentos atualmente disponíveis sobre estes microrganismos no diagnóstico, tratamento e prevenção da cárie dentária. A alta prevalência de *S. mutans* e *Lactobacillus* na placa geralmente resulta em número alto destes microrganismos na saliva. Por esta razão, as amostras de saliva (estimulada por parafina), podem ser rotineiramente usadas nos exames microbiológicos para avaliar o risco de cárie (EMILSON, 1983; KRASSE, 1988; MUNDORFF et al., 1990).

Segundo HÖFLING et al. (1992), apenas 10 a 15% das crianças (que vivem em países desenvolvidos) dentro do serviço dentário escolar, apresentam alta atividade de cárie, considerando-se que recebem grande proporção de recursos disponíveis para os cuidados dentários. No Brasil, os recursos disponíveis na área da Saúde, particularmente Odontológica, têm sido bastante limitados e logicamente, os conhecimentos científicos com relação ao seu diagnóstico, tratamento e prevenção são muitos restritos e escassos. Portanto, faz-se necessário identificar estas crianças antes que desenvolvam grande número de lesões cariosas e, através de medidas adequadas, cessar a destruição dos seus dentes por cárie

dentária, a exemplo daqueles países desenvolvidos. Assim, maior quantidade de informações nessa área terá que ser adquiridas no nosso País, num pequeno espaço de tempo, para que esses dados acumulados possam servir de base científica, no auxílio aos grupos de profissionais envolvidos nas atividades de prevenção no âmbito da Saúde Bucal.

Saliva

Há muito se observa que a perda acentuada da função salivar leva a um maior risco de cárie (FOX et al., 1985). Na verdade, é por meio do exame de indivíduos que não tem função salivar adequada que fica-se sabendo os muitos papéis que a saliva desempenha na proteção contra agressões em potencial para o meio bucal. Além da função antiácida, na digestão com a formação de bolo alimentar e deglutição, a saliva é importante tanto pela sua ação físico-mecânica de lavagem das superfícies orais, carregando microrganismos e restos alimentares que vão ser deglutidos, quanto pelos seus componentes. Se por um lado ela fornece substrato para o metabolismo microbiano, por outro contém substâncias com ação antimicrobiana, como anticorpos, lisozima e lactoferrina. Testes de capacidade tampão da saliva e mensuração do fluxo salivar também são utilizados para avaliar a atividade de cárie (TENOVUO et al., 1992), sendo que o indicador de Capacidade Tampão mede o número de mililitros de ácido para baixar o pH da saliva através de um intervalo arbitrário do pH.

Segundo MANDEL (1987), o papel protetor da saliva na prevenção das cáries deve-se principalmente à dissolução e ao tamponamento dos ácidos produzidos pelas bactérias da placa, e pela sua ação remineralizante. Na deficiência salivar esta função protetora da saliva é prejudicada. Além disso, a menor velocidade de fluxo salivar e capacidade tampão levam à seleção na placa de espécies favorecidas em pH ácido (acidúricas), *S. mutans* e lactobacilos, que são os principais microrganismos cariogênicos. A redução do fluxo salivar (xerostomia) também provoca um desconforto ao indivíduo pela sensação de boca seca, levando-o a consumir alimentos, principalmente doces, com maior frequência, favorecendo ainda mais o desequilíbrio entre desmineralização/remineralização em direção à cárie. A capacidade tampão da saliva está diretamente relacionada com a velocidade de secreção, pois maior quantidade de tampão por unidade de tempo está presente nos pacientes considerados secretores rápidos do que nos chamados secretores lentos (BURNETT et al., 1978). Por outro lado, em crianças e adolescentes, geralmente o maior risco à cárie não está associado à deficiência da saliva. KLOCK & KRASSE (1979), observaram que os valores médios de velocidade de fluxo salivar, pH da saliva e capacidade tampão foram idênticos entre crianças que desenvolveram 6 novas cavidades em um período de dois anos, e crianças sem novas cáries. De acordo com WINTER (1990), o início e a progressão da cárie dental estão sujeitos a um grande número de mecanismos de controle

presentes da boca, que poderiam ser os fatores salivares, ou seja, pH salivar, capacidade tampão, concentração de uréia, níveis de cálcio e enzimas tais como amilase e lisozima.

Vários estudos foram abordados em pacientes com xerostomia e que apresentaram altos índices de cáries. HOLBROOK (1993), realizando um estudo longitudinal com pré-escolares, observou uma associação significativa entre pH e fluxo salivar baixos, associados com altos índices de cárie. Associações significantes entre não secretores e alta prevalência de cárie, foram demonstradas em populações com alto índice de cárie (HOLBROOK & BLACKWELL, 1989). Segundo NEWBRUN (1989), pode haver relação inversa entre fluxo salivar e cárie, mas a literatura é conflitante neste ponto. O fluxo, por ele mesmo, influencia a relação $\text{NH}^+/\text{HCO}_3^-$ salivar; em um fluxo elevado, existe aumento na Capacidade Tampão. Pacientes cuja saliva apresenta alta capacidade tampão tendem a ter menos cárie, ou seja, existe uma tendência de relação inversa entre Capacidade Tampão da saliva e atividade de cárie. A saliva de indivíduos com considerável número de lesões cariosas tem frequentemente um indicador de capacidade tampão ácido mais baixo do que a daqueles que são relativamente livres de cárie (NEWBRUN, 1989).

Posteriormente, DAVENPORT (1990), analisando a etiologia da cárie dental concluiu que o fluido oral que banha os tecidos orais desempenharia um importante papel na manutenção da ecologia microbiana oral, influenciando no crescimento e aderência da bactéria nos tecidos orais e

pela fermentação do açúcar pelos microrganismos. A taxa de fluxo salivar, capacidade tampão e pH salivar poderiam ser dependentes da saúde geral do indivíduo. Dessa forma, testes de capacidade tampão e mensuração do fluxo salivar também são utilizados para avaliar a atividade de cárie (TUKIA - KULMALA & TENOVUO, 1993).

A cárie

A cárie dental é caracterizada pela destruição dos tecidos dentais calcificados, ou seja, as lesões cariosas são, portanto, sintomas da doença, que podem ser distribuídos numa escala que comporta desde as perdas minerais incipientes, em níveis ultra estruturais, até a destruição total dos dentes (WEYNE, 1986).

A cárie dental tende a alcançar sua atividade mais alta durante a infância e a adolescência. Esta atividade de cárie pode ser alta mesmo que nenhuma lesão cariiosa seja registrada no exame clínico, fato este atribuído ao período de tempo determinado para lesões cariosas desenvolverem-se e atingirem um estágio no qual elas possam ser clinicamente registradas. Assim, alguns fatores que promovem cárie podem estar presentes, muito embora nenhuma lesão seja observada. Por esta razão, o termo "Risco Real de Cárie" (KRASSE, 1988) deve ser usado e refere-se sempre ao futuro. O risco real de cárie descreve até que ponto uma pessoa, em determinada época, corre o risco de desenvolver lesões cariosas. BRATTHALL (1980), define um paciente de risco à cárie como sendo um

indivíduo exposto a uma oportunidade (de risco) aumentada ou a uma possibilidade de injúrias. Assim, indivíduos que tenham alta frequência de ingestão de sacarose são definidos como de alto risco. Da mesma forma o são aqueles indivíduos que apresentam um reduzido fluxo salivar e baixa capacidade tampão da saliva ou, ainda, aqueles indivíduos com altas contagens de *Lactobacillus* e *S. mutans*. Portanto, faz-se necessário analisar os conhecimentos relacionados com a microbiota cariogênica e os fatores salivares e tentar estabelecer uma nova visão da doença cárie dental, de maneira que sejam analisados, de forma global, esses fatores que estão modulando a atividade cariogênica.

THYLSTRUP & FEJERSKOV (1995), definem risco de cárie como a probabilidade de um indivíduo desenvolver pelo menos um certo número de lesões cariosas atingindo um determinado estágio de progressão durante um período específico, desde que o número de exposições aos fatores de risco permaneçam estáveis durante o período em questão. Afirmar, por exemplo, que o "risco de cárie do paciente é de 30%", é pouco afirmativo. Esclareceria melhor dizer algo como: "Visto que nenhuma mudança notável ocorreu na saúde bucal deste paciente, existe uma probabilidade de 30% de que ele desenvolva pelo menos 3 novas lesões de cárie atingindo a dentina durante o próximo período de 1 ano".

Estudos Epidemiológicos

Estudos epidemiológicos da distribuição de estreptococos do grupo *mutans* e sua relação com a saúde dentária, envolvendo populações humanas de várias faixas etárias, diferentes modos de vida, diversas localizações e distintas classes sócio-econômicas têm sido feitos, empregando-se amostras de língua (BEIGHTON et al., 1987), de placa dentária (MUNDORFF et al., 1990) e saliva (BRETZ et al., 1992).

SHKLAIR & KEENE (1976), estudando a frequência de biotipos de *S. mutans* em 3 populações diferentes (recrutas navais americanos, crianças no Havaí e pessoal naval da Arábia Saudita), encontraram predominância do biotipo I (*S. mutans* - sorotipo **c**), vindo a seguir os biotipos IV (*S. sobrinus* - sorotipo **dlg**) e biotipo V (*S. mutans* - sorotipo **e**). Posteriormente, QURESHI et al. (1977), investigando em escolares canadenses a frequência dos sorotipos de *S. mutans* com relação à superfície dental, constatou significativa relação entre a ocorrência do sorotipo **c** e cáries oclusais, isolado também das outras 4 superfícies; o sorotipo **c** foi isolado de superfícies cariadas e não cariadas. Houve pequeno isolamento do sorotipo **c** de superfícies restauradas e os tipos **d** e **e** foram isolados de superfícies saudáveis. Contudo NUT & VAN WYK (1978), investigando a ocorrência dos sorotipos de *S. mutans* em diferentes comunidades sul africanas, detectaram a bactéria em 92% da população, com predomínio do sorotipo **c** (84%), seguido pelos sorotipos **e** (12,5%), **d**

(11,4), **a** e **b** (cada 3,4%). A prevalência da ocorrência do sorotipo **c** sobre os demais e a raridade dos tipos **a** e **b** foi compartilhada por HAMADA et al. (1976), QURESHI (1977), KÖHLER et al. (1981), ALVES et al. (1986). Posteriormente KILIAN et al. (1979), estudando a composição da microbiota da placa dental de crianças tanzanianas, verificaram um maior isolamento do sorotipo **c** do grupo mutans.

MASUDA et al. (1985), examinando amostras de placa dental e saliva dos pares mãe e filho, entre 15 famílias, verificaram que o sorotipo **c** de *S. mutans* foi o predominantemente isolado, seguido dos sorotipos **d** e **g** (*S. sobrinus*) e sorotipos **e**, **f** (*S. mutans*). Posteriormente, BEIGHTON et al. (1987), verificaram a distribuição dos sorotipos de *Streptococcus* grupo mutans em escolares residentes em Hampshire - USA, na faixa etária de 5 a 8 anos de idade. Das crianças portadoras do grupo mutans, o sorotipo **c** foi predominante entre os escolares, seguido pelos sorotipos **e**, **d** e **g**. Nenhuma criança albergava os sorotipos **a** e **b**. Entretanto, 23% abrigavam as respectivas associações: **c/e**; **c/d/g**; **e/d/g** e **c/e/d/g**. AZEVEDO (1988), em seus estudos para detectar *S. mutans*, constatou que a espécie predominante foi *S. mutans* (biotipo I - sorotipo **c**), seguido por *S. rattus* (biotipo II - sorotipo **b**), *S. cricetus* (biotipo III - sorotipo **a**), *S. mutans* (biotipo IV - sorotipo **e**). A espécie *S. sobrinus* (biotipo IV - sorotipo **d**) não foi isolada de nenhum indivíduo como cultura pura. Posteriormente, LINDQUIST & EMILSON (1991), verificaram a distribuição e prevalência do

grupo mutans em amostras de placa dental, obtidas de várias superfícies dentais. *S. mutans* (sorotipo c) foi detectado mais frequentemente e em maior número que *S. sobrinus* (sorotipo d) em todas as superfícies dentais estudadas. Achados semelhantes foram relatados por AHMADY et al. (1993), que isolaram predominantemente *S. mutans* de placa dental, seguido por *S. sobrinus*.

No homem, estudos epidemiológicos indicam que o grau de infecção por *S. mutans* correlaciona-se positivamente com a cárie dental, tanto em populações com alta, como baixa prevalência da doença. Outras variáveis podem influenciar a infecção por *S. mutans*. BOWEN (1986), sugeriu que o número crítico de *S. mutans* na cavidade oral seria mais alto em áreas com água fluoretada do que em áreas não fluoretadas. SANTOS & CURY (1988), através de estudos de concentração de fluor em placa dentária em região com fluoretação descontínua, observaram que a concentração de fluor na placa, após 2 meses de interrupção de água fluoretada, foi menor do que a concentração durante a fluoretação. Além disso, o número de *S. mutans* é significativamente menor em crianças de uma área com alto conteúdo de flúor na água de abastecimento (1,2 ppm) do que naquelas que vivem em locais com baixos níveis, possivelmente devido ao efeito bacteriostático do flúor, provocando a redução da aderência bacteriana ao esmalte e inibição do desenvolvimento e metabolismo microbiano (TWETMAN et al., 1990).

A fluoretação da água de abastecimento em uma comunidade está amplamente baseada em pesquisas epidemiológicas que demonstram que cerca de 60% menos de cárie dentária ocorre quando se consome a água fluoretada desde o nascimento. Segundo TREASURE & DEVER (1994), há um decréscimo significativo na incidência de cárie em crianças que vivem em comunidades com água fluoretada, quando comparadas com aquelas de regiões não fluoretadas ou com fluoretação descontínua. Além disso, diferenças sócio-econômicas e água fluoretada estão associadas com o baixo ou alto índice de cárie numa população. BRETZ et al. (1992), em estudos com escolares da favela do Vidigal -RJ- Brasil, comunidade com água não fluoretada e baixo nível sócio-econômico, verificaram alta prevalência de cárie na dentição decídua e de microrganismos cariogênicos (*S. mutans* e *Lactobacillus*).

Nos últimos anos, países do primeiro mundo experimentam uma redução na incidência de cáries acompanhada de uma redução nos níveis salivares de *S. mutans* (KLOCK & KRASSE, 1987). Acredita-se que esta redução de cáries seja devida principalmente ao uso do flúor (água e dentifrícios fluoretados), porém, outros fatores, como o uso de antibióticos, alteração de hábito alimentar, melhoramento da higiene bucal, podem estar envolvidos (LOESCHE, 1989).

Identificação

Os estreptococos presentes na cavidade oral, geralmente podem ser identificados a nível de espécies através de testes bioquímicos convencionais (SHKLAIR & KEENE, 1974; MARFORT et al., 1985), como fermentação de carboidratos, hidrólise de arginina, crescimento em anaerobiose. Outras técnicas foram também desenvolvidas para auxiliar o reconhecimento de grupos variados e complexos de microrganismos. Assim, por exemplo, a sorologia é uma técnica que foi introduzida nos laboratórios de pesquisa para auxiliar no trabalho de identificação e caracterização de microrganismos (BRATTHALL, 1970; PERCH et al., 1974)

A identificação de diversos microrganismos já foi historicamente baseada na morfologia, porém, métodos bioquímicos, sorológicos e genéticos têm sido desenvolvidos e empregados nessa linha de pesquisa, objetivando um maior conhecimento desses microrganismos e de suas diversidades taxonômicas, não detectáveis pelos métodos tradicionais. Dentro dessa linha de investigação, a técnica de separação de proteínas por eletroforese em gel de poliacrilamida, particularmente SDS-PAGE, tem demonstrado ser um recurso importante na identificação e caracterização no estudos de microrganismos, sendo vários os trabalhos relatados na literatura (SEITER & JAY, 1980; CALHOON et al., 1981). Da mesma forma, OLSSON et al. (1976); RUSSEL (1976) e SPOLIDÓRIO et al. (1995), através dos resultados da análise do perfil eletroforético,

demonstraram possibilidades de estudos de relações de afinidade filogenética inter e intra-específicas, com ênfase taxonômica e sistemática.

A subdivisão das cepas de estreptococos através do estudo de bacteriocinas para aplicação em estudos epidemiológicos, foi proposto por vários pesquisadores (ROGERS, 1975; KOLSTAD, 1976; AZEVEDO, 1988). As bacteriocinas são substâncias inibidoras de crescimento de uma variedade de bactérias Gram-positivas e podem ser chamadas também de mutacinas.

Todas essas substâncias denominadas bacteriocinas ou mutacinas, possuem atividade para inúmeros estreptococos de placa dentária, e algumas possuem ampla atividade contra outras bactérias da cavidade oral, como por exemplo, bacteriocina de cepas de *S. mitis* se mostraram ativas contra cepas de *S. mutans*, *S. sanguis* e estafilococos da cavidade oral (VERNAZZA & MELVILLE, 1977). Relatos de estudos com microrganismos de placa, demonstraram que algumas cepas de *S. mutans* são capazes de aumentar em número durante um período de 13 semanas (HARDIE et al., 1977). A habilidade dessa espécie de dominar dessa forma o crescimento quando em competição com um grande número de diferentes bactérias, parece sugerir uma íntima relação com a produção dessas substâncias, já que a produção de mutacinas foi demonstrada *in vivo* por VAN DER HOEVEN et al. (1977).

Utilizando tal sistema, ou seja, através de estudos com bacteriocinas, AZEVEDO (1988), observou a frequência de padrões bacteriocinogênicos

similares num grupo familiar comprovando assim, a transmissão intrafamiliar dos estreptococos orais. Além disso, concluiu-se que a mãe não se caracteriza como a mais provável fonte de infecção dos filhos, já que foram detectados padrões bacteriocinogênicos similares na cavidade bucal dos demais membros do grupo familiar.

Métodos recentes de microbiologia molecular, como a ribotipagem, foram desenvolvidos para relacionar isolados bacterianos, determinar sua diversidade genética e o modo de transmissão de *Streptococcus* grupo *mutans* (KOZAI et al., 1991; SAARELA et al., 1993). Segundo SAARELA et al. (1993), através da técnica de ribotipagem é possível demonstrar que a cavidade oral de crianças pode ser colonizada por mais de um tipo genético de *S. mutans*. Relatos semelhantes foram descritos por ALALUUSUA et al. (1996), os quais demonstraram por ribotipagem a diversidade genética em crianças com cárie de mamadeira.

Assim, a atenção de alguns pesquisadores envolvidos na área de Biologia Oral, tem sido voltada ao desenvolvimento e aplicação de técnicas específicas, com o objetivo de contribuir na identificação e caracterização desses microrganismos orais.

MATERIAL E MÉTODOS

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Grupo Experimental

A realização deste trabalho de pesquisa teve o apoio da Delegacia Regional de Ensino (DRE) e dos respectivos Diretores de Ensino de escolas estaduais e particulares.

Para o presente estudo, foram utilizadas crianças de ambos os sexos com idade variando de 06 a 08 anos, sem distinção de raça ou cor, com diferentes índices de cárie dental e que não estavam fazendo uso de antibióticos. A amostragem constou de 200 crianças totalizadas pela soma de 40 crianças de cinco classes sociais distintas (A - E), de diferentes escolas do perímetro urbano da cidade de Piracicaba - SP (ver escolas no Apêndice). A classificação dessas crianças foi realizada segundo o critério de qualificação da Associação Brasileira de Anunciantes e o Instituto de Pesquisa de Mercado (ABA/ABIPEME), onde cada criança a partir de sua devida resposta ao questionário, era classificada e definida a respectiva classe social A, B, C, D, E. (Apêndice).

3.2. Avaliação

Exame Clínico - os exames clínicos foram realizados sob luz artificial, com o auxílio de espelho plano, sonda exploradora, sugador com ponta suctora (SUG-PLAST-DFL), e secagem local com gaze. Todas as crianças foram examinadas por um único examinador durante a pesquisa.

As condições dos dentes foram avaliadas por meio de índice de cárie (CPOD, CPOS, ceo e ceos), segundo PINTO (1989) e anotadas em fichas individuais.

Nenhuma recomendação quanto à dieta ou higienização bucal foi feita aos indivíduos, antecedendo a coleta do material.

3.3. Coleta e Transporte do Material

A coleta da saliva total estimulada foi efetuada no período da manhã, entre 8:00 e 9:00 horas e eventualmente entre 13:30 e 14:30 horas, dependendo do período escolar.

3.3.1. Determinação da Velocidade de Fluxo Salivar (KLOCK & KRASSE, 1977)

A cada criança foi fornecido um pedaço de goma-base de aproximadamente 1,5 gramas. As crianças mastigavam a goma-base pelo tempo de 30 segundos. A saliva estimulada inicial foi desprezada (deglutida) e a partir deste momento foi marcado o tempo de 3 a 5 minutos e então coletada a saliva em tubos de vidro estéril com rosca, até se obter uma quantidade suficiente, aproximadamente de 3,0 ml, que permitisse as análises. As amostras coletadas foram conservadas em gelo durante toda a coleta até a manipulação. O ar expelido foi introduzido nos tubos, sendo os mesmos fechados e posteriormente levados para o Laboratório da Disciplina de Microbiologia e Imunologia do Departamento de Diagnóstico

Oral da Faculdade de Odontologia de Piracicaba - FOP - UNICAMP. O tempo decorrido desde a coleta das amostras até o processamento não excedeu 4 horas (BENTLEY et al., 1988).

Para se obter o fluxo salivar, foi dividido o volume obtido pelo tempo de mastigação do início da contagem, para se expressar o fluxo em mililitros por minuto (ml/min.).

3.3.2. Determinação da Capacidade Tampão da Saliva (ERICSSON, 1959)

Inicialmente foi determinado o pH salivar utilizando-se 1,0 ml da saliva estimulada através do eletrodo de pH Ingold e potenciômetro Orion 701 A, previamente calibrados com padrões de pH 7,00 e 4,00. Posteriormente, para se determinar a capacidade tampão da saliva, coletou-se 0,5 ml de saliva estimulada que foi colocada em um tubo contendo 1,5 ml de HCl 5 mM. Agitou-se o tubo por um minuto, abriu-se e após 5 minutos, determinou-se o pH.

3.4. Processamento do Material

3.4.1. Homogeneização e Diluição

Os frascos contendo a saliva foram submetidos a 30 segundos de vibração em um agitador de tubos (Phoenix - AT 56), visando a obtenção de uma suspensão uniforme. A seguir, a saliva foi diluída em

série decimal de 10^{-1} a 10^{-4} em Tampão Fosfato 0,05 M pH 7,3 (SORENSEN, 1912).

3.4.2. Semeadura do Material

Para o cultivo de *S. mutans*, alíquotas de 25 μ l de cada diluição foram inoculadas em duplicatas em placas de Petri, contendo agar Sacarose Bacitracina - SB 20 (DAVEY & ROGERS, 1984). (composição ver Apêndice). As placas foram incubadas por 48 horas a 37° C em anaerobiose, utilizando-se o sistema GasPak (BBL).

As colônias de *Lactobacillus* e estreptococos mutans foram contadas usando-se um contador de colônias eletrônico digital (Phoenix).

3.5. Identificação das Espécies de *Streptococcus* grupo mutans

3.5.1. Morfologia Colonial

A observação e contagem das colônias com características pertencentes aos estreptococos do grupo mutans, foram realizadas sob luz refletida com o auxílio de um microscópio estereoscópico (Zeiss), seguindo os padrões descritos para o meio SB 20 segundo VAN PALENSTEIN HELDERMAN et al. (1983), DAVEY & ROGERS (1984), AZEVEDO (1988) e TORRES (1993), como a seguir:

- colônias cor branco-acinzentada ou creme-amarelada, superfície granular semelhante a vidro moído, podendo apresentar ou não uma

gotícula cintilante de polissacáride extracelular no topo. Tais colônias, algumas vezes mucóides, eram, geralmente duras, esmigalhando-se quando tocadas por agulha de platina. Pareciam fragmentadas a partir do centro, como se estivessem duas ou três juntas. Algumas vezes, eram circundadas por um halo incolor, visível a olho nu.

- colônias firmes, opacas, não desintegrando-se quando tocadas com a agulha de platina, deslocando-se facilmente, circundadas com um halo branco leitoso e apresentando, com frequência, uma gotícula cintilante de polissacáride no topo.

Pelo menos três colônias com tipos morfológicos característicos, foram transferidas para tubos contendo 4,0 ml de meio BHI (Brain Heart Infusion) esterilizados a 120^o C por 20 minutos. A incubação foi feita a 37^o C por 24 horas e, a seguir, os tubos foram conservados em geladeira (0 - 4^o C), por um período máximo de 12 horas, para posterior identificação bioquímica.

3.6. Identificação Bioquímica

A identificação das cepas de estreptococos do grupo mutans foi realizada através de provas bioquímicas (Tabela I), seguindo-se os critérios adotados no Manual de BERGEY (HARDIE, 1986), utilizando-se as provas de fermentação de manitol, sorbitol, melibiose e rafinose, hidrólise de arginina, produção de peróxido de hidrogênio e sensibilidade à bacitracina. Os inóculos foram realizados sempre a partir de culturas

recentes (24 horas) em BHI, sendo a pureza da cultura confirmada previamente.

Tabela I - Características bioquímicas para a identificação das espécies de *Streptococcus* grupo *mutans*.

Provas	<i>S. mutans</i>		<i>S. rattus</i>	<i>S. cricetus</i>	<i>S. sobrinus</i>	<i>S. ferus</i>	<i>S. macacae</i>	<i>S. downei</i>
	(I)	(V)	(II)	(III)	(IV)			
	c-e-f	e	b	a	d-g	c	c	h
Fermentação de:								
Manitol	+	+	+	+	+	+	+	+
Sorbitol	+	+	+	+	+	+	+	-
Melibiose	+	-	+	+	-**	-	-	-
Rafinose	+	+	+	+	-**	-	+	-
Produção de:								
H ₂ O ₂	-	-	-	-	+	-	-	-
Hidrólise da:								
Arginina	-	-	+	-	-	-	-	-
Resistência à								
Bacitracina	+	+	+	-	+	-	-	-

Legenda: (*) Algumas cepas podem dar resultado negativo; (**) Algumas cepas podem dar resultado positivo.

3.6.1. Fermentação de Carboidratos

O meio base utilizado, conforme recomendado por FACKLAM (1972), foi o caldo de Infusão de Coração (HIB - Difco), acrescido de 0,0016% de púrpura de bromocresol (Sigma). Após dissolução dos componentes em água destilada e o pH acertado para 7,0, os substratos manitol, sorbitol e melibiose foram adicionados na proporção de 1,0%, respectivamente. As soluções dos respectivos carboidratos foram distribuídas em tubos, em porções de aproximadamente 2,0 ml e autoclavados a 120° C por 20 minutos. Para a rafinose, o meio base foi previamente esterilizado, e a solução de rafinose, esterilizada por filtração, utilizando-se membranas filtrantes com poros de 0,22 µm (Millipore), foi adicionada com os cuidados de assepsia na proporção de 1,0%. Logo em seguida, o meio foi distribuído assepticamente, em tubos pré-esterilizados.

A semeadura, para as provas de fermentação, foi realizada com pipetador automático com ponteiros estéreis. O inóculo consistiu de 0,1 ml da cultura de 24 horas em BHI, para todos os tubos contendo os diferentes carboidratos. A incubação foi realizada a 37° C por até 72 horas, sendo a primeira leitura realizada após 24 horas. A prova foi considerada positiva quando houve viragem do indicador de pH, da cor púrpura para a amarela.

3.6.2. Hidrólise da arginina

A capacidade das cepas hidrolisarem arginina produzindo amônia foi testada, como preconizado por NIVEN et al. (1942) e preparado segundo AZEVEDO (1988). Ver composição no Apêndice.

Os componentes foram dissolvidos em água destilada, e o meio, com pH aferido, foi distribuído em tubos em quantidade de aproximadamente de 2,0 ml e autoclavado a 120^o por 20 minutos. As cepas foram semeadas, transferindo-se 0,1 ml do inóculo para os tubos com o meio de cultura contendo o substrato, que foram incubados a 37^o C durante 48 horas.

Esta prova se baseia na produção ou não da enzima arginina-desaminase, a qual libera amônia ao agir sobre o substrato arginina. Após o período de incubação, foram adicionadas a cada tubo duas gotas do reativo de Nessler (ver composição Apêndice). A presença de amônia na cultura, de cor alaranjada, indica reação positiva, devido à hidrólise da arginina, enquanto que a coloração amarela indica a prova negativa.

3.6.3. Produção de Peróxido de Hidrogênio

A prova foi realizada segundo WITTENBURY (1964). O meio base apresentou a composição descrita no Apêndice. Os componentes foram dissolvidos na água, e o pH ajustado a 7,2. O meio base foi esterilizado em autoclave a 120^o por 20 minutos. A seguir, ao meio ainda fundido e resfriado (45°C) foram adicionados 5,0 ml de uma mistura de sangue desfibrinado de carneiro e água destilada estéril, em partes iguais,

sendo o meio total aquecido a 100° C durante 15 minutos, em banho-maria. Uma solução de 0,1g de orto-dianisidina (Merck) em 5,0 ml de água destilada estéril, também aquecida a 100° C durante 15 minutos, foi adicionada ainda quente ao meio total, que em seguida foi distribuído em placas de Petri. A semeadura a partir de uma cultura de 24 horas das cepas em BHI, consistiu de 3 picadas próximas feitas com agulha de platina. As placas foram incubadas por um período de até 7 dias a 37° C, em sistema Gas-Pak (BBL). A produção de peróxido de hidrogênio foi detectada pelo aparecimento de um halo marrom escuro ou preto em torno do crescimento.

3.6.4. Resistência à Bacitracina

A prova consiste na fermentação do manitol em meio acrescido de (duas) 2 Unidades Internacionais de Bacitracina por mililitro. Empregou-se o mesmo meio base utilizado no teste de fermentação, segundo SHKLAIR & KEENE (1974). Após o preparo do meio base, foi adicionado 1,0g de manitol para cada 100 ml do meio, que foi acondicionado em recipiente adequado e autoclavado a 120° C, durante 20 minutos. Após resfriamento a cerca de 48° C, adicionou-se bacitracina, esterilizada por filtração na quantidade suficiente e distribuiu-se, assepticamente em tubos esterilizados em quantidade aproximada de 2,0 ml. Após a semeadura dos mesmos, seguiu-se a incubação a 37° C por até 72 horas.

Para verificar a resistência do microrganismo ao antibiótico presente ao meio, foi observada a mudança da cor púrpura para amarela,

indicando a fermentação do manitol, quando havia crescimento do microrganismo.

3.6.5. Conservação das cepas

As cepas identificadas bioquimicamente como sendo de *Streptococcus* grupo mutans foram repicadas em meio BHI, incubadas a 37° C por 24 horas. Em seguida, após o crescimento bacteriano, as células foram centrifugadas e então, ressuspendidas em 10% de glicerol em BHI. Os tubos foram estocados em alíquotas de 5,0 ml de BHI e glicerol e congelados em freezer -20° C (TENOVUO et al., 1992).

3.7. Análise Estatística

Para o estudo da correlação entre as variáveis, foi utilizado o coeficiente de correlação de Pearson e para testar a significância, o teste "t" de Student. Para as variáveis classes de frequência, foi utilizado o teste de X^2 (qui-quadrado) (VIEIRA, 1983).

RESULTADOS

4. RESULTADOS

Os resultados obtidos nos testes de identificação de *Streptococcus* grupo mutans, a partir de amostras salivares coletadas de escolares selecionados, de diferentes classes sócio-econômicas, permitiram a classificação em espécies diversas, conforme pode ser observada na Tabela II, que mostra os dados relativos à frequência desses microrganismos.

Tabela II: Distribuição do total das espécies de *Streptococcus* grupo mutans por classe sócio-econômica.

Espécies isoladas	Classe sócio-econômica					Total	%
	A	B	C	D	E		
<i>Streptococcus mutans</i>	60	67	81	93	82	383	78,00
<i>Streptococcus sobrinus</i>	11	5	8	14	19	57	11,61
<i>Streptococcus rattus</i>	5	5	5	4	4	23	4,69
<i>Streptococcus mutans V</i>	1	1	3	5	3	13	2,65
<i>Streptococcus cricetus</i>	2	1	1	1	4	9	1,83
<i>Streptococcus ferus</i>	2	1	1	0	2	6	1,22
Total	81	80	99	117	114	491	100,00

Dentre as 491 amostras de *Streptococcus* do grupo mutans isoladas, (Tabela II) a maioria dos microrganismos encontrados foi identificada como sendo da espécie *S. mutans* (78%). De acordo com a Tabela II, a classe sócio-econômica D apresentou o maior número de *S. mutans* (93), sendo que as classes sócio-econômicas E e C apresentaram respectivamente 82 e 81 espécies de *S. mutans* isoladas, e um decréscimo desses microrganismos isolados nas classes sócio-econômicas A e B (60 e 67 respectivamente). As espécies que vieram a seguir em frequência foram *S. sobrinus* e *S. rattus*, 11,61% e 4,69% respectivamente, para todas as classes sócio-econômicas como mostra a Tabela II. Entretanto não houve diferenças estatisticamente significantes entre as classes sócio-econômicas e as espécies, considerando-se como nível mínimo de significância (n.m.s.) 5%.

Com relação ao número de indivíduos portadores de diferentes espécies do grupo mutans, e a respectiva porcentagem desses microrganismos por classe sócio-econômica, a Tabela III apresenta os resultados dos 200 escolares amostrados, divididos em suas respectivas classes sócio-econômicas (A -E). Pode-se constatar que 27,5%; 20,0%; 32,5%; 42,5% e 57,5% respectivamente das classes sócio-econômicas A, B, C, D e E apresentaram mais do que uma espécie do grupo mutans de *Streptococcus*. A maioria dos indivíduos (59%) foi portadora de *S. mutans* seguido pela associação de *S. mutans* + *S. sobrinus* (17%) e *S. mutans* + *S. rattus* (7,5%). Entretanto, não houve diferenças estatisticamente

significantes entre as espécies e as classes sócio-econômicas, considerando-se como n.m.s. 5%.

Tabela III - Distribuição e frequência de indivíduos portadores de diferentes

especies do grupo mutans por classe socio-economica.

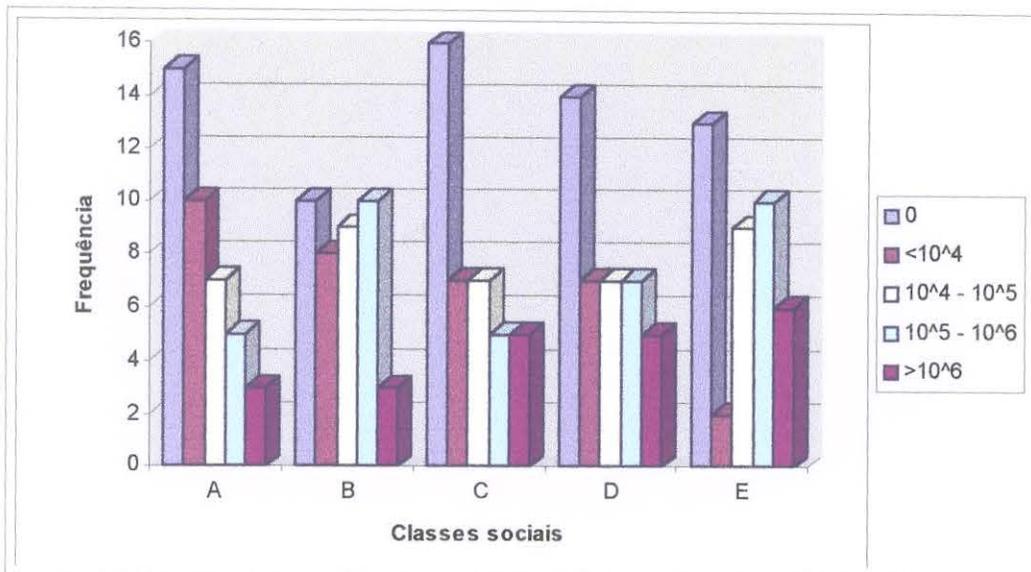
Espécie(s) Isolada(s)	CLASSE SÓCIO-ECONÔMICA					Total
	A	B	C	D	E	
<i>S. mutans</i>	25-62,5%	30-75,0%	24-60,0%	22-55,0%	17-42,4%	118-59,0%
<i>S. rattus</i>	0	1 - 2,5%	2 - 5,0%	0	0	3 - 1,5%
<i>S. sobrinus</i>	2- 5,0%	0	1 - 2,5%	0	0	3 - 1,5%
<i>S. cricetus</i>	1 - 2,5%	1 - 2,5%	0	0	0	2 - 1,0%
<i>S. mutans V</i>	1 - 2,5%	0	0	1 - 2,5%	0	2 - 1,0%
<i>S. mutans + S. sobrinus</i>	5 - 12,5%	3 - 7,5%	5-12,5%	9-22,5%	12-30,0%	34 - 17,0%
<i>S. mutans + S. rattus</i>	3 - 7,5%	4-10,0%	1 - 2,5%	4-10,0%	3 - 7,5%	15 - 7,5%
<i>S. mutans + S. mutans V</i>	0	0	3 - 7,5%	2 - 5,0%	2 - 5,0%	7 - 3,5%
<i>S. mutans + S. cricetus</i>	0	0	1 - 2,5%	1 - 2,5%	3 - 7,5%	5 - 2,5%
<i>S. mutans + S. ferus</i>	0	0	1 - 2,5%	0	2 - 5,0%	3 - 1,5%
<i>S. sobrinus + S. ferus</i>	0	0	1 - 2,5%	0	0	1 - 0,5%
<i>S. sobrinus + S. mutans V</i>	0	0	0	0	1 - 2,5%	1 - 0,5%
<i>S. mutans + S. mutans V + S. sobrinus</i>	0	1 - 2,5%	0	1 - 2,5%	0	2 - 1,0%
<i>S. mutans + S. sobrinus + S. rattus</i>	1 - 2,5%	0	1 - 2,5%	0	0	2 - 1,0%
<i>S. mutans + S. sobrinus + S. cricetus</i>	1 - 2,5%	0	0	0	0	1 - 0,5%
<i>S. mutans + S. sobrinus + S. ferus</i>	1 - 2,5%	0	0	0	0	1 - 0,5%
Total de indivíduos	40	40	40	40	40	200

Os resultados obtidos nas contagens (UFC/ml) de *Lactobacillus* da saliva de escolares das várias classes sócio-econômicas podem ser observados na Tabela IV e Gráfico 1. Esses resultados revelam valores $<10^4$ (maior frequência de escolares com esse valor), seguidos -em ordem decrescente- dos valores entre $10^4 - 10^5$; $10^5 - 10^6$ e $> 10^6$ respectivamente para as classes A, C e D. Entretanto, não houve diferenças estatisticamente significantes entre as classes sócio-econômicas para os valores de *Lactobacillus*, considerando-se como n.m.s. 5%.

Tabela IV - Distribuição (n=200) de crianças de diferentes classes sócio-econômicas com relação ao número de UFC/ml de *Lactobacillus* na saliva.

UFC/ml	Classe sócio-econômica					Total
	A	B	C	D	E	
0	15	10	16	14	13	68
$<10^4$	10	8	7	7	2	34
$10^4 - 10^5$	7	9	7	7	9	39
$10^5 - 10^6$	5	10	5	7	10	37
$>10^6$	3	3	5	5	6	22
Total /Classes	40	40	40	40	40	200

Gráfico 1 - Gráfico comparativo da frequência (n=200) de crianças de diferentes classes sócio-econômicas com relação ao número de UFC/ml de *Lactobacillus* na saliva.



A Tabela V e Gráfico 2 mostram os resultados obtidos da distribuição das crianças por classe sócio-econômica, avaliando-se o número de *Streptococcus* grupo mutans na saliva (UFC/ml). O grupo mutans foi detectado em 100% das crianças, independente da classe sócio-econômica estudada. A classe sócio-econômica A apresentou um maior número de indivíduos no intervalo de $10^5 - 10^6$ (16) e $<10^5$ (13), com uma redução no intervalo de $10^6 - 10^7$ (7) e $>10^7$ (4).

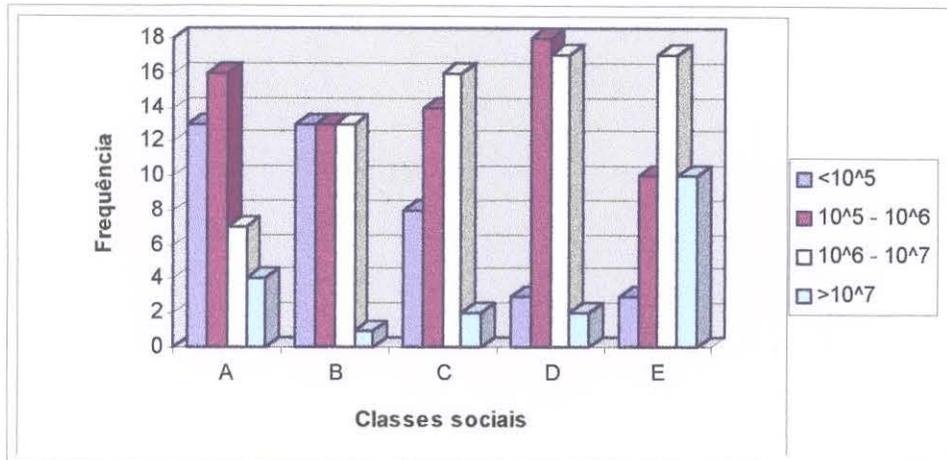
Para a classe sócio-econômica B, houve uma distribuição igual de 13 indivíduos em cada intervalo, ou seja, nos intervalos $<10^5$; $10^5 - 10^6$ e $10^6 - 10^7$ e apenas um indivíduo demonstrou valores superiores à $>10^7$. Pode-se observar, no entanto, que as classes sócio-econômicas C e D apresentaram

uma incidência maior de indivíduos nos intervalos de $10^5 - 10^6$ e $10^6 - 10^7$. Por último, para a classe sócio-econômica E, esta também foi a que apresentou grandes frequências de indivíduos portadores do grupo mutans, respectivamente nos intervalos de $10^6 - 10^7$; $10^5 - 10^6$ e $>10^7$. Entretanto, os resultados foram estatisticamente significante, entre as classes sócio-econômicas para os valores de *Streptococcus* grupo mutans, considerando-se como n.m.s. 5%, existindo portanto, associação entre número de *Streptococcus* grupo mutans e classe sócio-econômica.

Tabela V - Distribuição (n=200) de crianças de diferentes classes sócio-econômicas com relação ao número de Unidades Formadoras de Colônias por ml (UFC/ml) de *Streptococcus* grupo mutans na saliva.

UFC/ml	Classe sócio-econômica					Total
	A	B	C	D	E	
$<10^5$	13	13	8	3	3	40
$10^5 - 10^6$	16	13	14	18	10	71
$10^6 - 10^7$	7	13	16	17	17	70
$>10^7$	4	1	2	2	10	19
Total /Classes	40	40	40	40	40	200

Gráfico 2 - Gráfico comparativo da frequência (n=200) de crianças de diferentes classes sócio-econômicas com relação ao do número de UFC/ml de *Streptococcus* grupo mutans na saliva.



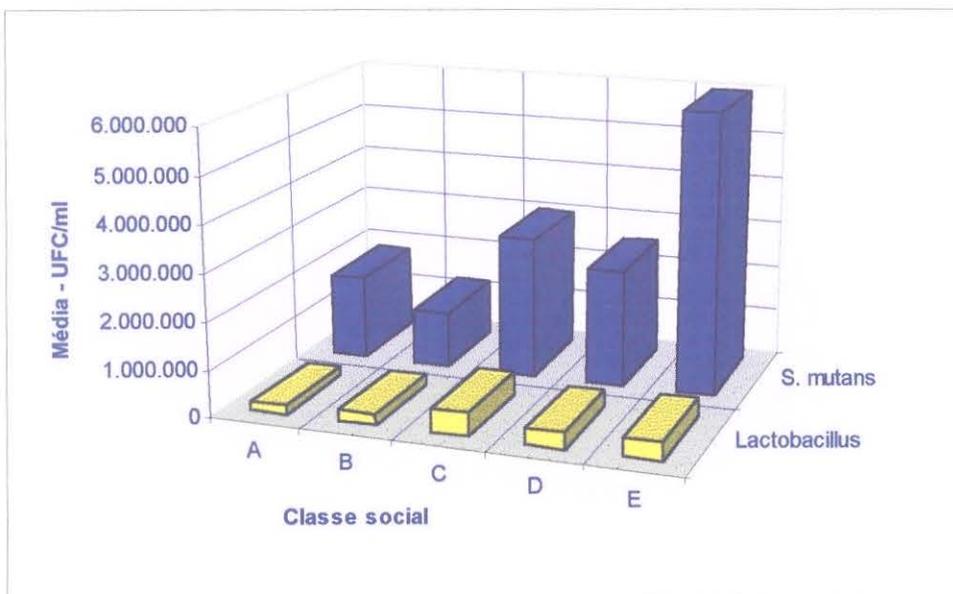
Os resultados da Tabela VI a e Gráfico 3, indicam o valor médio das contagens de *Streptococcus* grupo mutans e *Lactobacillus* encontrado em nossas investigações, cujos valores variaram em média, respectivamente para *Streptococcus* grupo mutans e *Lactobacillus* de $1,8 \times 10^6$ e $1,8 \times 10^5$ para a classe sócio-econômica A à $6,0 \times 10^6$ e $4,0 \times 10^5$ para a classe sócio-econômica E. Como pode-se observar através da Tabela VI a, os valores para *Streptococcus* grupo mutans entre as classes sócio-econômicas A e B, diferiram significativamente entre os valores de *Streptococcus* grupo mutans para as classes sócio-econômicas C, D e E. Para a variável *Lactobacillus*, não foi detectada nenhuma diferença significativa.

Tabela VI a - Média da contagem de *Streptococcus* grupo mutans e *Lactobacillus* dos escolares das diferentes classes sócio-econômicas.

CLASSE SÓCIO-ECONÔMICA	<i>Streptococcus</i> grupo mutans	<i>Lactobacillus</i>
	Média (\bar{x})	Média (\bar{x})
A	$1,8 \times 10^6$ a	$1,8 \times 10^5$ a
B	$1,2 \times 10^6$ a	$2,4 \times 10^5$ a
C	$3,0 \times 10^6$ b	$5,0 \times 10^5$ a
D	$2,5 \times 10^6$ b	$3,4 \times 10^5$ a
E	$6,0 \times 10^6$ b	$4,0 \times 10^5$ a

Médias seguidas de letras iguais, nas colunas, não diferem entre si pelo teste t, considerando-se um n.m.s. de 5%.

Gráfico 3 - Gráfico comparativo da média (\bar{x}) da contagem em UFC/ml de *Streptococcus* grupo mutans e *Lactobacillus* de escolares das diferentes classes sócio-econômicas.



Os resultados da Tabela VI b, indicam que em apenas 3 classes sócio-econômicas (C, D e E), ocorreram correlações estatisticamente significativas entre estreptococos mutans e lactobacilos. Na classe sócio-econômica C, ocorreu uma correlação forte e nas classes sócio-econômicas D e E, uma correlação relativamente fraca, ambas positivas.

Tabela VI b - Correlação entre a variável *Streptococcus grupo mutans* e *Lactobacillus* dentro de cada classe sócio-econômica.

Classe sócio-econômica	n	r	t
A	40	0,31	0,81 ^{NS}
B	40	0,06	0,34 ^{NS}
C	40	0,67	5,54 ^{**}
D	40	0,35	2,32 [*]
E	40	0,25	1,59 [*]

ns= não significativo pelo teste t, considerando-se um nível mínimo de significância (n.m.s.) de 5%.

* = significativo pelo teste t ao nível de 5%.

** = significativo pelo teste t ao nível de 1%.

A Tabela VII e Gráfico 4 mostram os resultados obtidos para a variável fluxo salivar, onde não foram encontradas diferenças significativas, pelo teste t, ao nível de 5%, para nenhum contraste de médias das classes sócio-econômicas. Observou-se porém, que a maior média ocorreu na classe D (0,97 ml). Para as classes sócio-econômicas A, B e C a maior

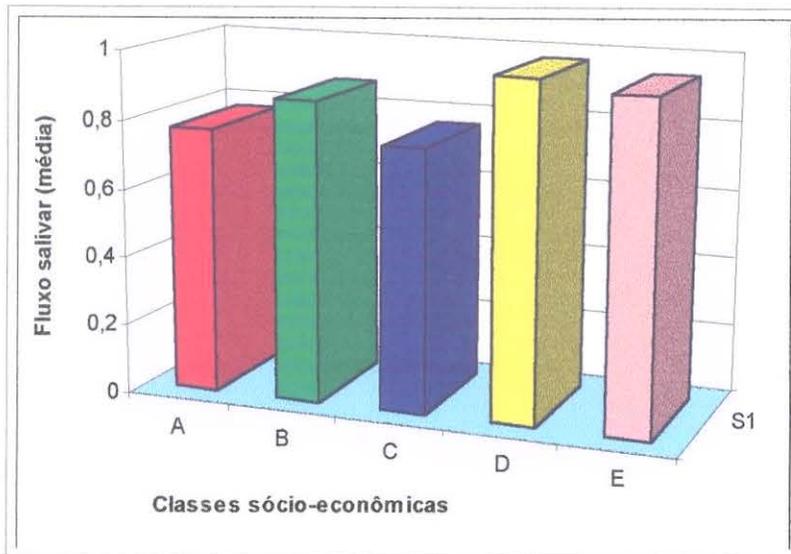
incidência reside nos valores de 0,1 | 0,7. Para a classe econômica D, os valores apresentaram-se iguais nos intervalos entre 0,1 | 0,7 e 1,0 | 2,0. Para a classe econômica E, os maiores valores estiveram entre 1,0 | 2,0.

Tabela VII - Distribuição (n=200) de crianças com relação à distribuição dos valores da variável índice de fluxo salivar (classes de frequência em ml/min), média (\bar{x}) e desvio padrão (s) segundo as classes sócio-econômicas.

Classes de frequência - ml/min.	Classe sócio-econômica					Total
	A	B	C	D	E	
< 0,1	0	0	0	0	0	0
0,1 0,7	24	22	20	15	13	94
0,7 1,0	7	6	9	7	9	38
1,0 2,0	7	8	11	15	17	58
2	2	4	0	3	1	10
$\bar{x} \pm s(\bar{x})$	0,77 \pm 0,09 a	0,87 \pm 0,13 a	0,76 \pm 0,06 a	0,97 \pm 0,09 a	0,94 \pm 0,08 a	

Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste t, a um nível mínimo de significância de 5%.

Gráfico 4 - Média (\bar{x}) dos valores da variável índice de fluxo salivar segundo as classes sócio-econômicas.



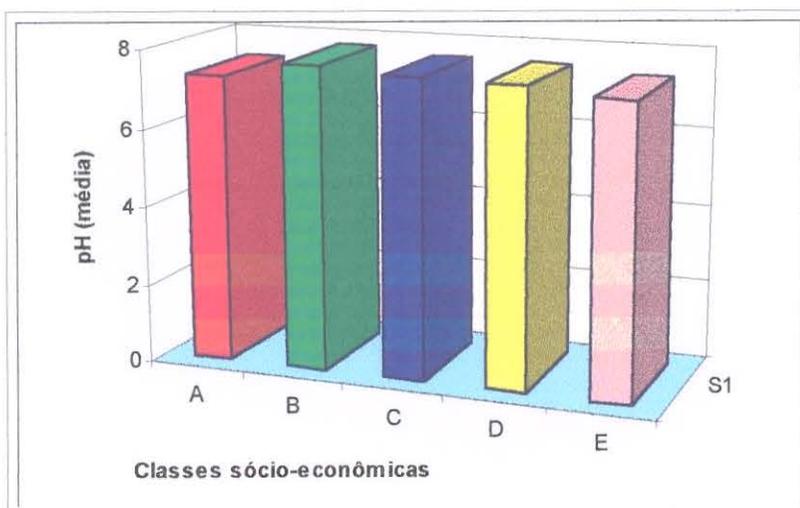
Os resultados obtidos para a variável pH (Tabela VIII e Gráfico 5) demonstram que também não foram encontradas diferenças significativas - pelo teste t - ao nível de 5%, para nenhum contraste entre médias das classes sócio-econômicas. O valor médio de pH encontrado foi de 7,50. A maior incidência para todas as classes sócio-econômicas foi para pH maior que 7. Pode-se observar, no entanto, que a classe E apresentou uma frequência maior que as demais classes para pH entre 5 e 7. Valores de pH 7,0 foram pouco frequentes, ocorrendo 1 na classe A e 1 na classe E, o mesmo acontecendo para valores abaixo de 5.

Tabela VIII - Distribuição (n=200) de crianças com relação à distribuição dos valores da variável pH (classes de frequência), média (\bar{x}) e desvio padrão (s) segundo as classes sócio-econômicas.

Classes de frequência	Classe sócio-econômica					Total
	A	B	C	D	E	
< 4	1	0	0	0	0	1
4 5	0	0	0	0	1	1
5 7	2	1	1	2	6	12
7	1	0	1	0	0	2
> 7	36	39	38	38	33	184
$\bar{x} \pm s(\bar{x})$	$7,32 \pm 0,13$ a	$7,73 \pm 0,06$ a	$7,56 \pm 0,05$ a	$7,53 \pm 0,05$ a	$7,34 \pm 0,11$ a	

Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste t, a um nível mínimo de significância de 5%.

Gráfico 5 - Média (\bar{x}) dos valores da variável pH segundo as classes sócio-econômicas.



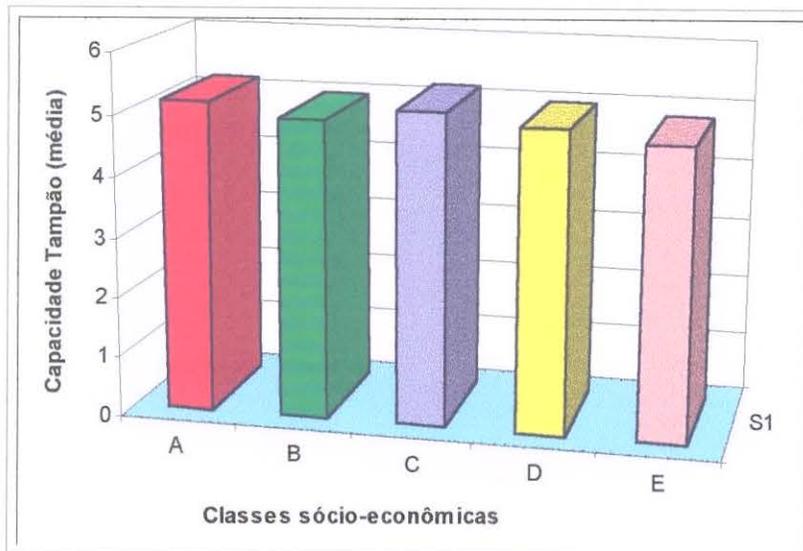
Os dados obtidos para a variável indicador de Capacidade Tampão - CT (Tabela IX e Gráfico 6), mostram que as maiores médias foram das classes econômicas C e A respectivamente, e que não diferiram significativamente entre si (a 5% pelo teste t), mas diferiram significativamente das demais. A seguir encontram-se as médias das classes sócio-econômicas B e D, também iguais entre si e diferentes das demais. Por último, aparece a média da classe sócio-econômica E que diferiu significativamente das outras. Os valores da Capacidade Tampão (CT), para todas as classes sócio-econômicas, com exceção da classe D, aparecem com maior frequência no intervalo de 5 | 7. Para a classe D, os maiores valores estiveram entre 4 | 5 (20).

Tabela IX - Distribuição (n=200) de crianças com relação à distribuição dos valores da variável indicador de capacidade tampão, média (\bar{x}) e desvio padrão (s) segundo as classes sócio-econômicas.

Classes de frequência	Classe sócio-econômica					Total
	A	B	C	D	E	
< 4	4	9	4	4	10	31
4 5	16	12	11	20	11	70
5 7	20	19	25	16	19	99
$\bar{x} \pm s(\bar{x})$	5,02 ± 0,14 a	4,95 ± 0,18 b	5,15 ± 0,13 a	4,96 ± 0,13 b	4,80 ± 0,17 c	

Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste t, a um nível mínimo de significância de 5%.

Gráfico 6 - Média (\bar{x}) dos valores da variável indicador de capacidade tampão segundo as classes sócio-econômicas.



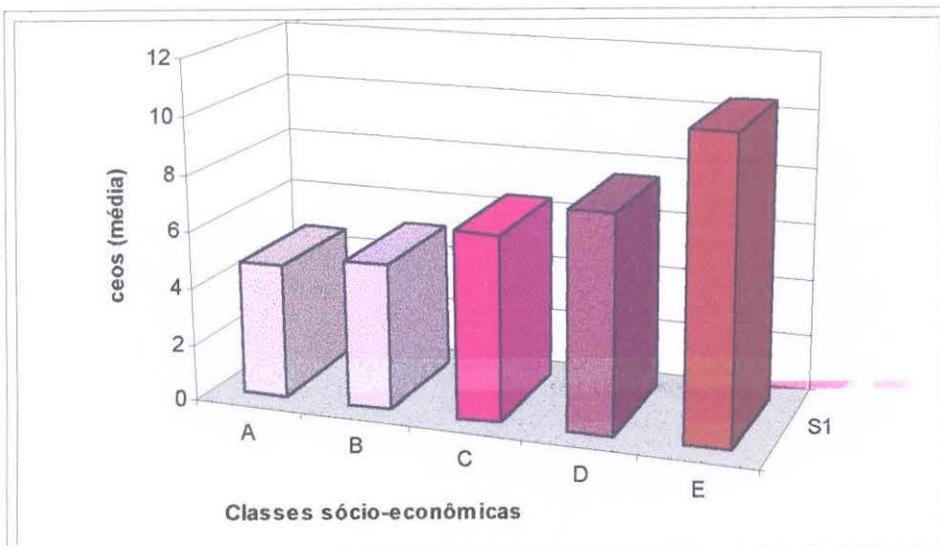
A Tabela X e Gráfico 7 mostram os resultados obtidos para a variável ceos, nos quais se observa a maior média para a classe sócio-econômica E (10,10), seguida da classe D (7,58), as quais não diferiram significativamente, pelo teste t, ao nível de 5%. A classe sócio-econômica E revela valores diferentes das classes A, B e C quando comparadas. Já a classe D, embora não tenha diferido significativamente da classe E, também não diferiu, a mesmo nível de significância, das demais classes sócio-econômicas. Para as classes sócio-econômicas A e C a incidência maior reside nos valores $< 0,1$ respectivamente, 16 e 13. Já para as classes B, D e E a frequência reside nos valores $\geq 6,6$ respectivamente 13, 19 e 18.

Tabela X - Distribuição (n=200) de crianças com relação à distribuição dos valores da variável ceos, média (\bar{x}) e desvio padrão (s), nas diferentes classes sócio-econômicas.

Classes sócio-econômicas	Classes de Frequência - ceos						$\bar{x} \pm s(\bar{x})$	Prevalência
	< 0,1	0,1 1,2	1,2 2,7	2,7 4,5	4,5 6,6	≥ 6,6		
A	16	3	3	4	5	9	4,38 ± 1,01 b	moderada
B	11	5	3	4	4	13	5,10 ± 0,98 b	alta
C	13	3	5	6	4	9	6,05 ± 1,61 b	alta
D	8	2	5	4	2	19	7,58 ± 1,26 ab	muito alta
E	8	4	4	2	4	18	10,10 ± 1,89 a	muito alta
Geral	56	17	20	20	19	68	6,64 ± 0,63	alta

Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste t, a um nível mínimo de significância de 5%.

Gráfico 7 - Média (\bar{x}) dos valores da variável ceos, nas diferentes classes sócio-econômicas.



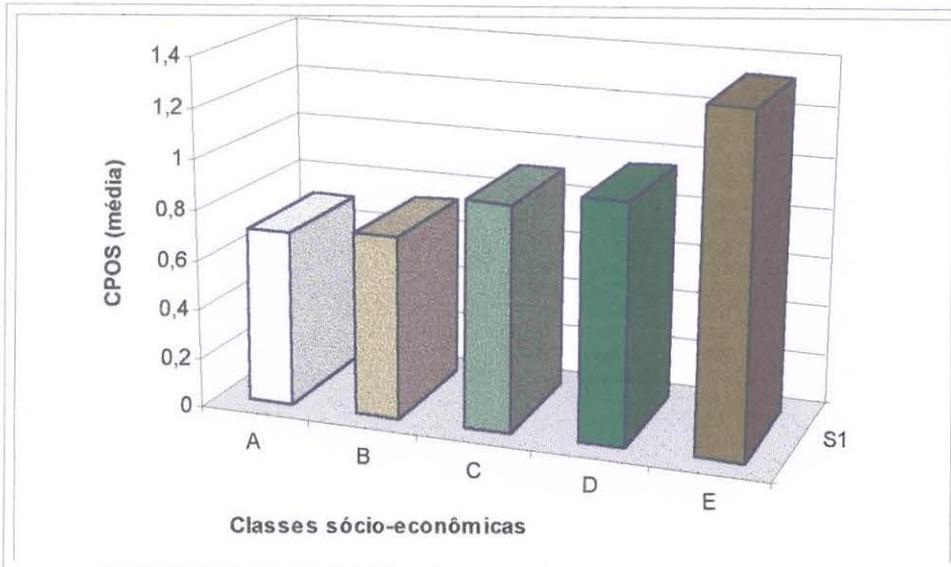
A Tabela XI e Gráfico 8 mostram os resultados obtidos para a variável CPOS, nos quais se observa uma maior média (1,33) para a classe sócio-econômica E, seguindo-se respectivamente pelas classes D, C, B e A, as quais não diferiram significativamente - pelo teste t - ao nível de 5%. Para todas as classes sócio-econômicas a frequência maior reside nos valores <0,1 num total de 132 indivíduos.

Tabela XI - Distribuição (n=200) de crianças com relação à distribuição dos valores da variável CPOS, média (\bar{x}) e desvio (s) nas diferentes classes sócio-econômicas.

Classes sócio-econômicas	Classes de Frequência - CPOS						$\bar{x} \pm s(\bar{x})$	Prevalência
	< 0,1	0,1 1,2	1,2 2,7	2,7 4,5	4,5 6,6	≥ 6,6		
A	30	5	1	2	1	1	0,70 ± 0,27 a	muito baixa
B	28	5	3	2	2	0	0,73 ± 0,23 a	muito baixa
C	26	7	3	2	1	1	0,90 ± 0,31 a	muito baixa
D	25	6	5	0	4	0	0,95 ± 0,27 a	muito baixa
E	23	2	6	6	2	1	1,33 ± 0,30 a	baixa
Geral	132	25	18	12	10	3	0,92 ± 0,12	muito baixa

Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste t, a um nível mínimo de significância de 5%.

Gráfico 8 - Média (\bar{x}) dos valores de CPOS, nas diferentes classes sócio-econômicas.



Na Tabela XII, estão expressos os valores da correlação entre a variável ceos com as variáveis índice de fluxo salivar (FS), pH, indicador de capacidade tampão (CT), *Streptococcus* grupo mutans e *Lactobacillus*. Os resultados obtidos demonstram que não houve correlação significativa entre ceos e fluxo salivar e entre ceos e pH a um nível de 5% através do teste t para todas as classes sócio-econômicas. Entretanto, observou-se correlação positiva entre ceos e capacidade tampão respectivamente 2,13 e 3,43 e entre ceos e *Streptococcus* grupo mutans 2,98 e 2,24 respectivamente apenas nas classes sócio-econômicas C e E. Para as demais classes sócio-econômicas, ou seja, A, B e D, os resultados não foram significativos, pelo teste t, a nível de 5%.

Tabela XII - Correlação entre a variável ceos com as variáveis índice de fluxo salivar, pH, indicador de capacidade tampão, *Streptococcus* grupo mutans e *Lactobacillus*.

Classe Sócio-econômica	Estatísticas	Fluxo Salivar	pH	Capacidade Tampão	<i>Streptococcus</i> grupo mutans	<i>Lactobacillus</i>
A	r	-0,21	-0,07	-0,29	0,19	0,02
	t	1,36 ^{ns}	0,45 ^{ns}	1,85 ^{ns}	1,20 ^{ns}	0,15 ^{ns}
B	r	0,07	-0,21	0,07	0,07	0,09
	t	0,43 ^{ns}	1,31 ^{ns}	0,45 ^{ns}	0,44 ^{ns}	0,58 ^{ns}
C	r	0,08	-0,15	-0,33	0,44	0,20
	t	0,47 ^{ns}	0,96 ^{ns}	2,13*	2,98**	1,26 ^{ns}
D	r	-0,11	-0,16	-0,23	0,04	0,38
	t	0,66 ^{ns}	0,99 ^{ns}	1,49 ^{ns}	0,27 ^{ns}	2,54 ^{ns}
E	r	-0,03	-0,27	-0,49	0,34	0,11
	t	0,21 ^{ns}	1,76 ^{ns}	3,43**	2,24*	0,68 ^{ns}

Valores do coeficiente de correlação (r) e do teste t, com a respectiva significância estatística, por classe econômica e tamanho (n) de cada amostra.

ns= não significativo pelo teste t, considerando-se um nível mínimo de significância (n.m.s.) de 5%.

* = significativo pelo teste t ao nível de 5%.

** = significativo pelo teste t ao nível de 1%.

A Tabela XIII mostra os resultados obtidos para os valores da correlação entre a variável CPOS com as variáveis índice de fluxo salivar (FS), pH, indicador de capacidade tampão (CT), *Streptococcus* grupo mutans, *Lactobacillus* e ceos. Os dados obtidos demonstram que a variável CPOS possui correlação significativa com a variável ceos para todas as classes sócio-econômicas, com valores de t variando respectivamente de 5,70 para a classe sócio-econômica A, 2,51 (classe B), 1,64 (classe C), 2,69 (classe D) e 2,04 (classe E).

Os dados obtidos na Tabela XIII, também demonstram que entre a variável CPOS e pH, CPOS e fluxo salivar, CPOS e *Lactobacillus*, os valores destas correlações não foram significativas a nível de 5% através do teste t, para nenhuma classe sócio-econômica, porém a correlação encontrada para CPOS e capacidade tampão, CPOS e *Streptococcus* grupo mutans, somente ocorreu entre as classes sócio-econômicas C e E, com valores 2,77 - 3,01 e 5,24 - 0,10 respectivamente, pelo teste t. Para as demais classes sócio-econômicas, ou seja, A, B e D, não houve correlação significativa para CPOS e capacidade tampão, CPOS e *Streptococcus* grupo mutans, CPOS e *Lactobacillus*, a um nível de 5%, através do teste t.

Tabela XIII - Correlação entre a variável CPOS com as variáveis fluxo salivar, pH, capacidade tampão, ceos, *Streptococcus* grupo mutans e *Lactobacillus*

Classes sócio-econômicas	Estatísticas	Fluxo Salivar	pH	Capacidade Tampão	ceos	<i>Streptococcus</i> grupo mutans	<i>Lactobacillus</i>
A	r	-0,21	0,03	-0,16	0,68	0,07	-0,06
(40)	t	1,34 ^{ns}	0,17 ^{ns}	0,98 ^{ns}	5,70 ^{**}	0,42 ^{ns}	0,39 ^{ns}
B	r	0,04	0,11	0,18	0,38	0,14	-0,20
(40)	t	0,26 ^{ns}	0,70 ^{ns}	1,10 ^{ns}	2,51 [*]	0,85 ^{ns}	1,25 ^{ns}
C	r	0,08	-0,32	-0,41	0,26	0,65	0,33
(40)	t	0,51 ^{ns}	2,11 ^{ns}	2,77 ^{**}	1,64 ^{**}	5,24 ^{**}	2,13 ^{ns}
D	r	-0,11	-0,27	-0,25	0,40	0,17	0,36
(40)	t	0,69 ^{ns}	1,74 ^{ns}	1,58 ^{ns}	2,69 [*]	1,09 ^{ns}	2,38 ^{ns}
E	r	-0,24	-0,33	-0,44	0,31	0,02	-0,008
(40)	t	1,50 ^{ns}	2,14 ^{ns}	3,01 ^{**}	2,04 [*]	0,10 [*]	0,05 ^{ns}

Valores do coeficiente de correlação (r) e do teste t, com a respectiva significância estatística, por classe econômica e tamanho (n) de cada amostra.

ns= não significativo pelo teste t, considerando-se um nível mínimo de significância (n.m.s.) de 5%.

* = significativo pelo teste t ao nível de 5%.

** = significativo pelo teste t ao nível de 1%.

Nos gráficos de 9 a 13 estão expressos os valores obtidos em relação ao índice (%) de lesões por cárie nas superfícies de dentes decíduos (ceos) mais acometidos por cárie em crianças de diferentes classes sócio-econômicas. Os dados obtidos revelam que os dentes 54 e 55, ou seja, 1º e 2º molares superior esquerdo, apresentam valores maiores que 10 % e 25% respectivamente para a superfície oclusal. Para os dentes 64 e 65 (molares superiores direito), esses valores foram superiores a 15% para ambos os dentes, sendo a superfície oclusal mais acometida por cárie. Na sequência, as superfícies cariadas (para o dente 55) foram respectivamente, as superfícies lingual, mesial, distal e vestibular para todas as classes sócio-econômicas estudadas. Para o dente 54, as superfícies alteraram-se para distal, mesial, vestibular e lingual, respectivamente. Observou-se ainda, que a superfície oclusal é a mais acometida por cárie para os dentes 74 - 75 (molares inferior direito) e 84 - 85 (molares inferior esquerdo), respectivamente com valores superiores a 20% - 35% e 25% - 35% para todas as classes sócio-econômicas. As superfícies distal, mesial, lingual e vestibular são respectivamente - em ordem decrescente - as superfícies mais acometidas por cárie (para esses molares) em todas as classes sócio-econômicas estudadas.

Com relação à frequência (em %) de indivíduos com cárie e sem cárie nos dentes decíduos, os Gráficos 9a à 13a mostram os resultados dos 200 escolares amostrados, divididos em suas respectivas classes sócio-econômicas (A-E). Pode-se constatar que, 40% - 33% - 28%- 20% e 15%

respectivamente das classes sócio-econômicas A, C, B, D e E apresentaram-se livres de cáries na dentição decídua. Entretanto, as classes E e D respectivamente, foram as que apresentaram uma maior porcentagem de lesões cariosas (85% e 80%), sendo que as demais classes sócio-econômicas A, B e C apresentaram valores de 60% - 72% e 67% respectivamente.

Gráfico 9 - Índice (%) de lesões de cárie nas superfícies de dentes decíduos (ceos) de crianças da classe sócio-econômica A.

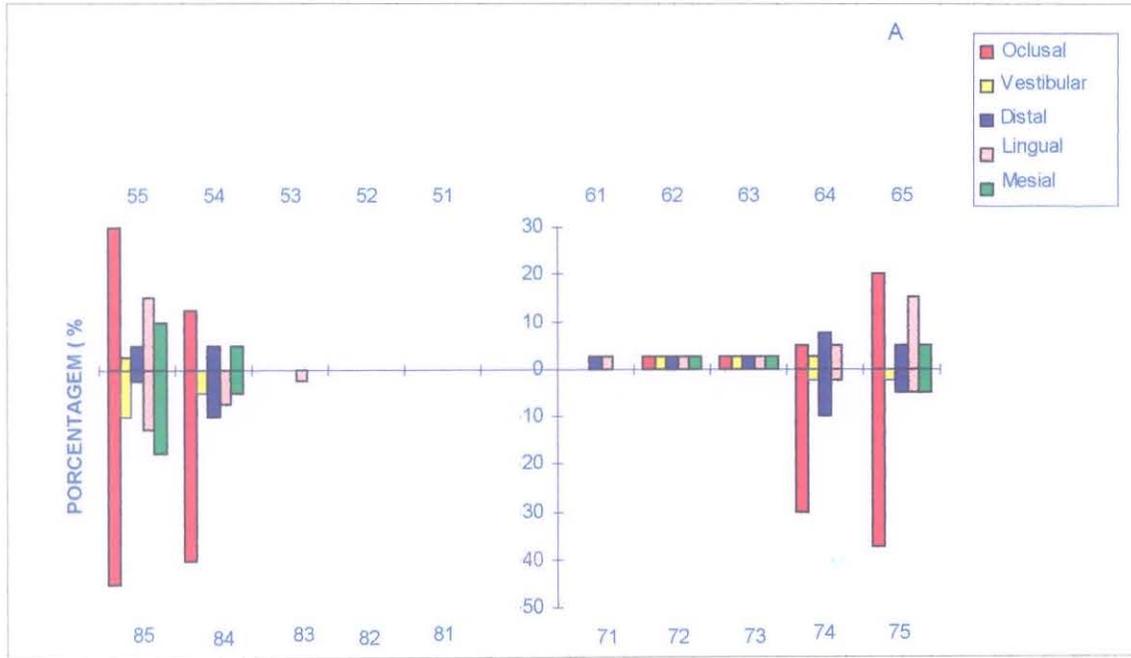


Gráfico 9 a - Frequência (%) de crianças com cárie e sem cárie nos dentes decíduos na classe sócio-econômica A.

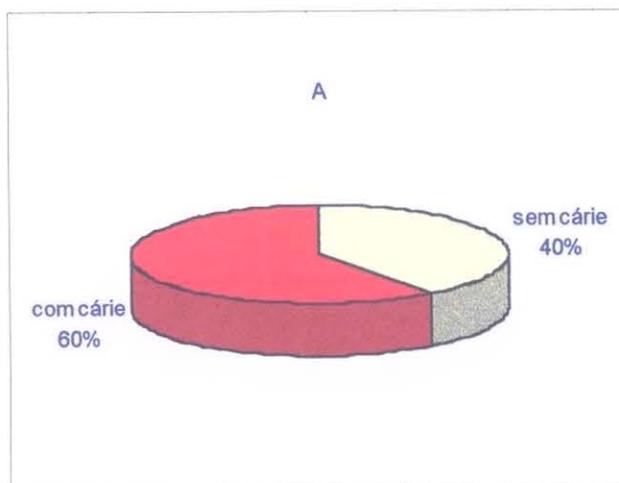


Gráfico 10 - Índice (%) de lesões de cárie nas superfícies de dentes decíduos (ceos) de crianças da classe sócio-econômica B.

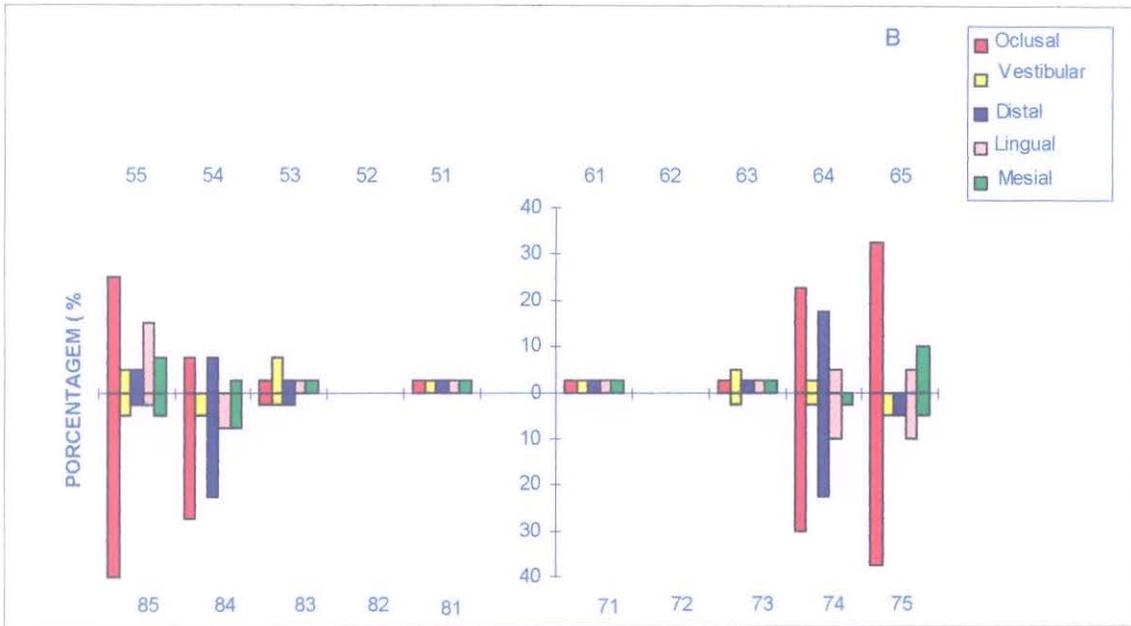


Gráfico 10 a - Frequência (%) de crianças com cárie e sem cárie nos dentes decíduos na classe sócio-econômica B.

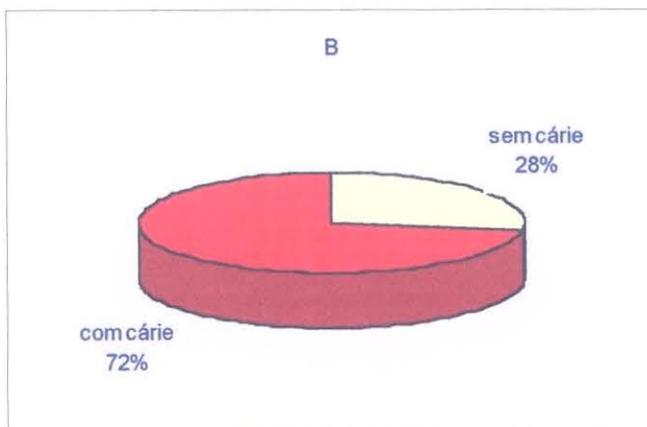


Gráfico 11 - Índice (%) de lesões por cárie nas superfícies de dentes decíduos (ceos) de crianças da classe sócio-econômica C.

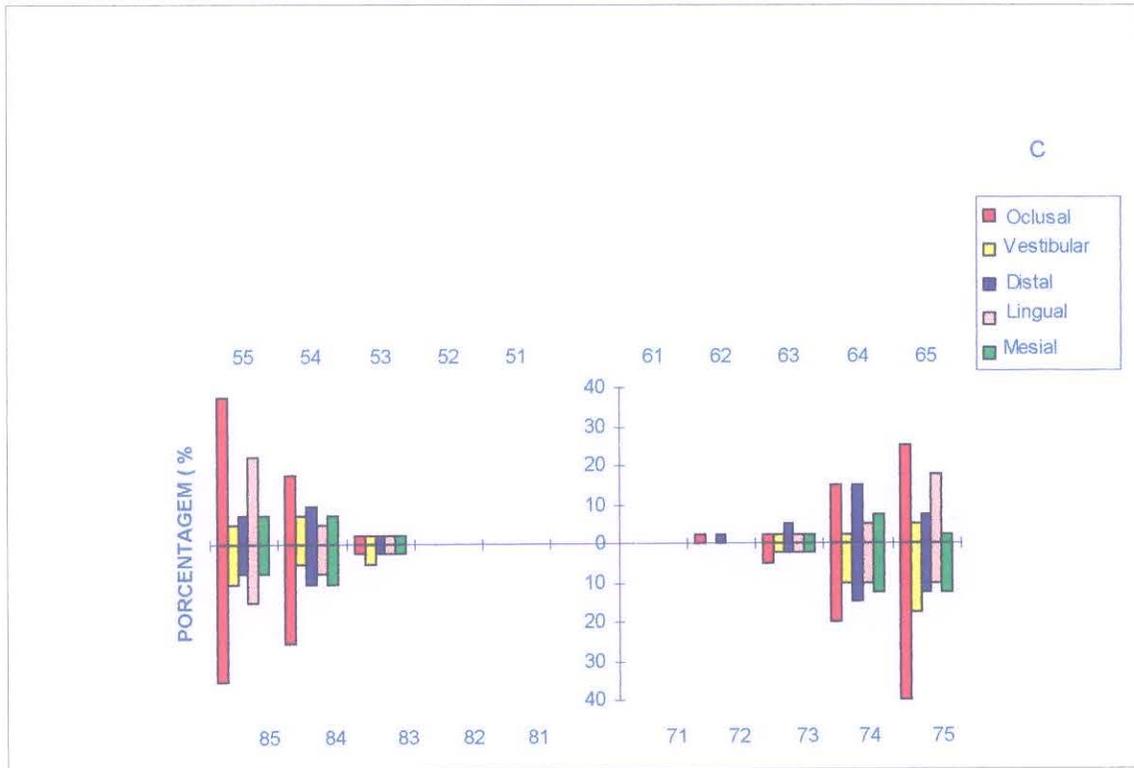


Gráfico 11 a - Frequência (%) de crianças com cárie e sem cárie nos dentes decíduos na classe sócio-econômica C.

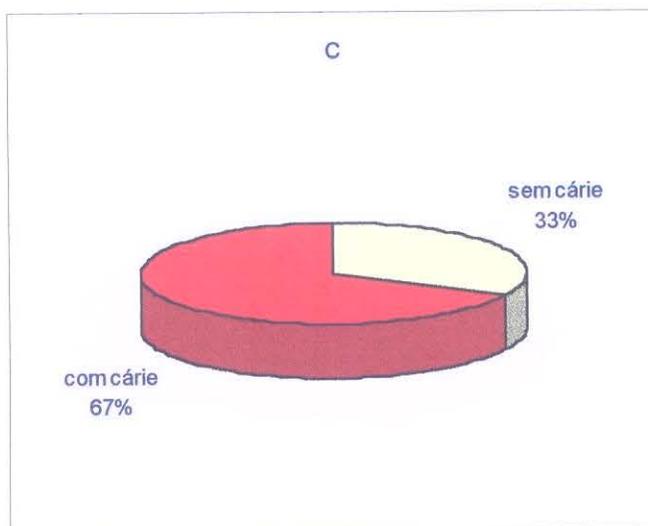


Gráfico 12 - Índice (%) de lesões de cárie nas superfícies de dentes decíduos (ceos) de crianças da classe sócio-econômica D.

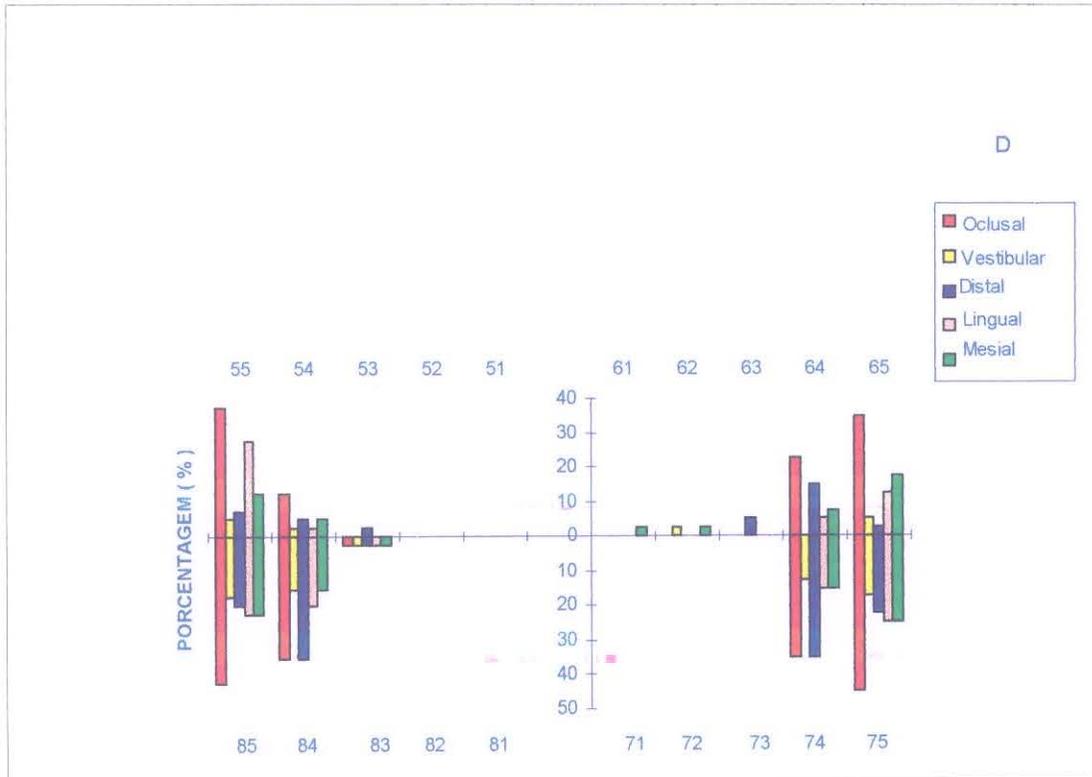


Gráfico 12 a - Frequência (%) de crianças com cárie e sem cárie nos dentes decíduos na classe sócio-econômica D.

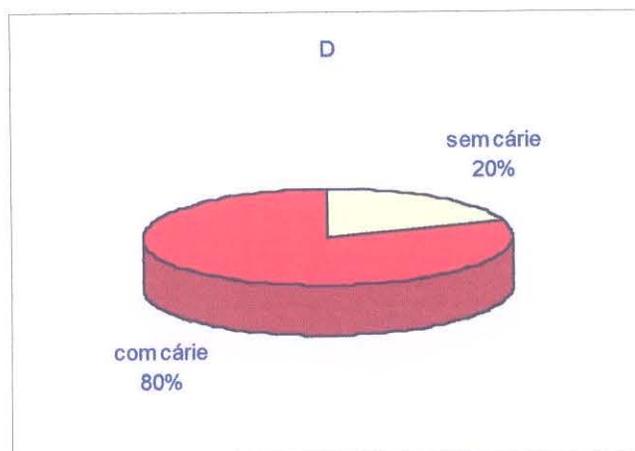


Gráfico 13 - Índice (%) de lesões de cárie nas superfícies de dentes decíduos (ceos) de crianças da classe sócio-econômica E.

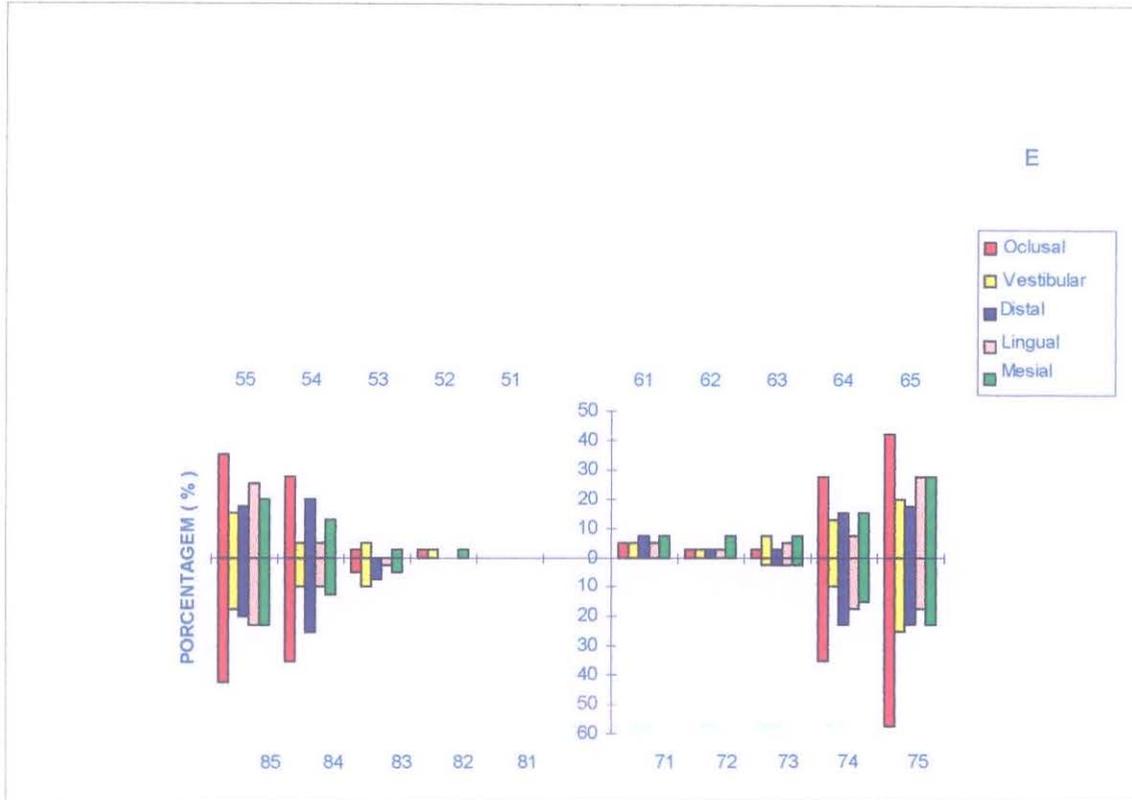
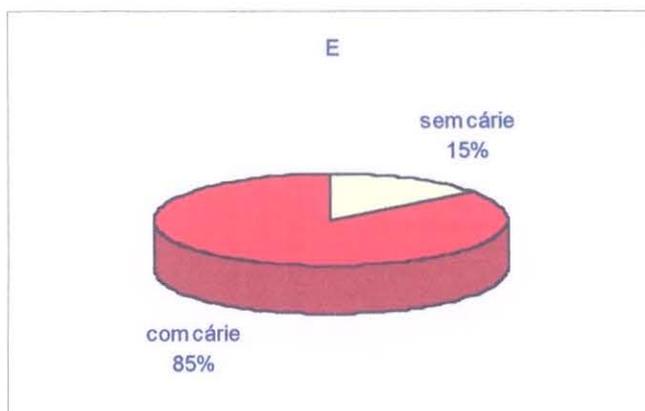


Gráfico 13 a - Frequência (%) de crianças com cárie e sem cárie nos dentes decíduos na classe sócio-econômica E.



No gráfico 14 estão expressos os valores obtidos nas superfícies mais acometidas por cárie nos primeiros molares permanentes. Esses dados revelam que as classes sócio-econômicas E e D apresentam respectivamente valores superiores à 20% e 15% para os 1º molares superiores (16 e 26) e valores superiores à 30% e 15% para os 1º molares inferiores (36 e 46), sendo a superfície oclusal a mais comprometida por cárie. Para as demais classes sócio-econômicas, A, B e C, os resultados obtidos revelam valores superiores à 10% para os 1º molares superiores e valores maiores que 5% para os 1º molares inferiores, sendo também as superfícies oclusal e lingual as mais cariadas nos molares superiores e, nos molares inferiores, as superfícies oclusal e vestibular.

Com relação à frequência de indivíduos (em porcentagem), com cárie e sem cárie nos dentes permanentes, o Gráfico 14 a apresenta os resultados obtidos dos escolares amostrados, divididos em suas respectivas classes sócio-econômicas (A - E). Pode-se constatar que a porcentagem de crianças sem cárie na dentição permanente (somente os primeiros molares) diminuiu com a classe sócio-econômica de A à E, ou seja, 75% - 70% - 65% - 62,5% e 57,5% respectivamente. Entretanto, a porcentagem de lesões por cárie nos primeiros molares permanentes aumentou inversamente à classe sócio-econômica, ou seja, 25% - 30% - 35% - 37,5% e 42,5%, respectivamente para as classes sócio-econômicas A, B, C, D e E.

Gráfico 14 - Índice (%) de lesões de cárie nas superfícies de dentes permanentes. Dados comparativos da média (\bar{x}) da distribuição dos valores de CPOS nas diferentes classes sócio-econômicas.

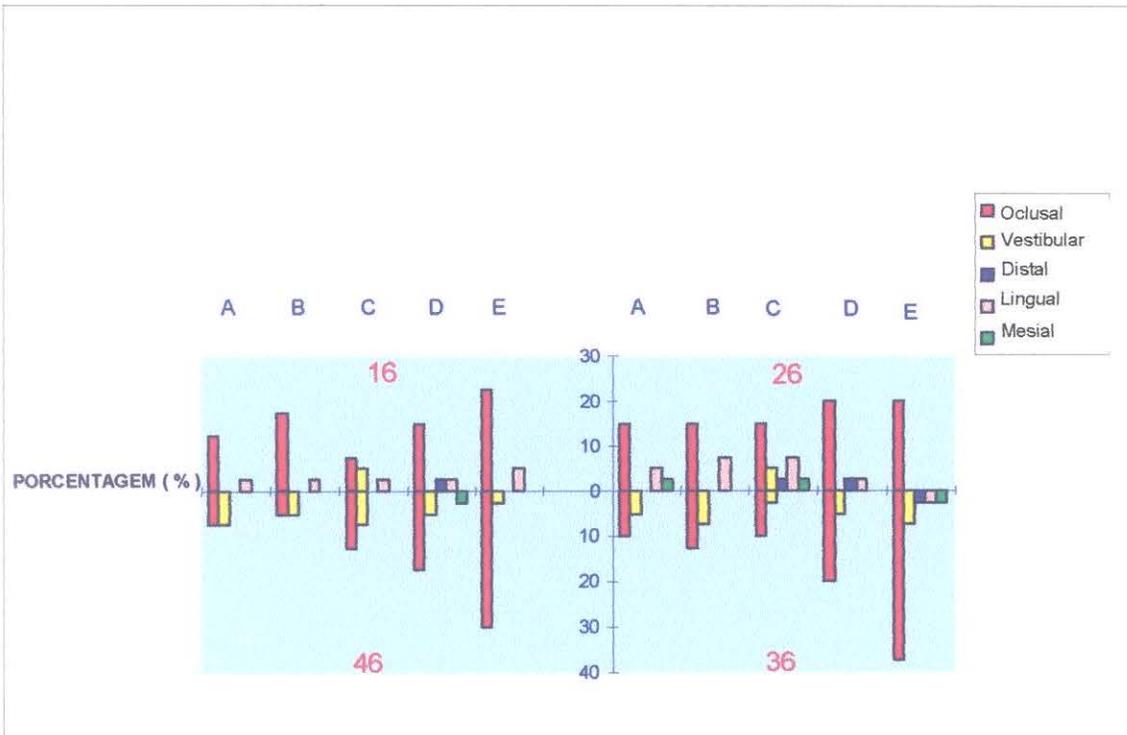
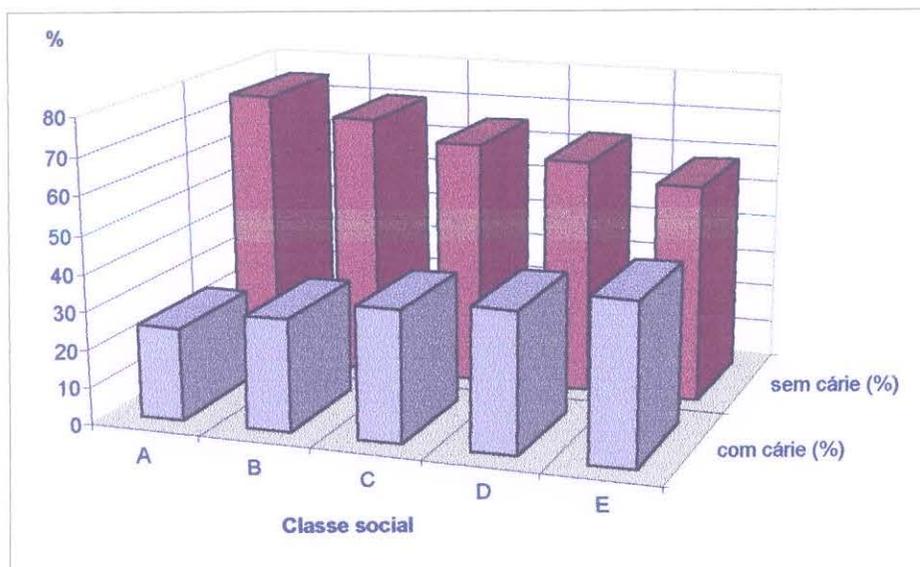


Gráfico 14 a. Frequência (%) de crianças com cárie e sem cárie nos 1^{os} molares permanentes, das diferentes classes sócio-econômicas.



DISCUSSÃO

5. Discussão

Inúmeras pesquisas com ênfase em estudos epidemiológicos sobre prevalência, incidência, idade e distribuição geográfica das diferentes espécies de *Streptococcus* grupo mutans tem sido relatadas na literatura. Estudos epidemiológicos em vários grupos de populações demonstraram variações na distribuição desses microrganismos. BRATTHALL (1972 b) e DUANY et al. (1973) verificaram serem os sorotipos **a** (*S. cricetus*) e **b** (*S. rattus*), os mais comuns em várias áreas do mundo. Entretanto, os tipos **c** (*S. mutans*) e **d** (*S. sobrinus*), parecem ter uma prevalência maior em várias comunidades examinadas (BRATTHALL, 1972 a; HAMADA et al., 1976; QURESCHI et al., 1977).

A identificação das amostras do grupo mutans, realizada através das características morfológicas e bioquímicas, segundo o esquema de SHKLAIR & KEENE (1976) e AZEVEDO (1988), permitiu identificar 491 amostras distribuídas em 5 espécies distintas de estreptococos grupo mutans nas diferentes classes sócio-econômicas (A à E). As Tabelas II e III apresentam a distribuição das espécies de *Streptococcus* grupo mutans isoladas de diferentes classes sócio-econômicas não havendo entretanto, diferenças estatisticamente significantes entre as espécies e as classes sócio-econômicas. Como pode-se observar, os dados obtidos demonstram que a maioria das amostras isoladas foi identificada como sendo *S. mutans* (78%) e *S. sobrinus* (11,6%). Esses resultados estão de acordo com os

dados de BRATTHALL (1972a), BRATTHALL & KÖHLER (1976), THOMSON et al. (1980), FARGHALY et al. (1984), MARFORT et al. (1985), os quais encontraram o sorotipo **c** (biotipo I) como o que mais prevaleceu nas populações estudadas. Em nosso estudo, houve predominância de *S. mutans* (sorotipo **c/elf** - biotipo I) espécie prevalente entre todas as classes sócio-econômicas estudadas de nossa população, seguida por *S. sobrinus* (sorotipo **d/g** - biotipo IV), *S. rattus* (sorotipo **b** - biotipo II), *S. mutans V* (sorotipo **e** - biotipo V), *S. cricetus* (sorotipo **a** - biotipo III) e *S. ferus* (sorotipo **c**). Esses resultados, corroboram também com observações levadas a efeito por outros pesquisadores na área como OLIVEIRA (1974), MIRANDA (1977), FRACALANZZA (1979), MARTINS & BERTOLINI (1980), CANTISANO (1981), MIRANDA et al. (1982), AZEVEDO (1988), TORRES (1991), em outras regiões. Esses dados, somados aos nossos, sugerem uma maior predominância do sorotipo **c/elf** - biotipo I em nossa amostra. Sabedores, no entanto, que nosso país apresenta amplas extensões territoriais geográfica e culturalmente diversificadas, um conhecimento mais amplo desses ecossistemas, se faz necessário.

A frequência de *S. sobrinus* (sorotipo **d/g** - biotipo IV) foi a mais prevalente após o sorotipo **c/elf**, estando de acordo com os achados de CAZABAT et al. (1980), WALTER & SHKLAIR (1982), EMILSON (1983), DAVEY & ROGERS (1984), NISHINO et al. (1986), CARLSSON et al. (1987), EMILSON & THORSELIUS (1988), NYVAD & KILIAN (1990),

TORRES (1991). Os nossos resultados demonstraram que a espécie *S. sobrinus*, sorotipo **d/g** - biotipo IV, esteve presente, na maior parte, em associação com o sorotipo **c/ef** (biotipos I e V) - Tabela III - sendo também encontrado em associação com outros biotipos. Apenas dois (2) indivíduos da classe sócio-econômica A e um (1) na classe sócio-econômica C, apresentaram somente *S. sobrinus*. Esses dados confirmam, de certa forma, os dados de EMILSON (1983), DAVEY & ROGERS (1984), KÖHLER & BJARNASON (1987), AZEVEDO (1988) e TORRES (1991), os quais demonstraram dados semelhantes aos nossos em crianças que apresentavam o sorotipo **d/g** em associação com o sorotipo **c/ef**. Esses autores, afirmam ainda, que o índice de cárie foi maior nas crianças que possuíam a combinação *S. mutans* e *S. sobrinus*, quando comparadas com crianças que possuíam somente *S. mutans*.

A espécie *S. rattus* (sorotipo **b** - biotipo II), foi detectada e isolada em baixa proporção (1 indivíduo na classe sócio-econômica B e 2 na classe sócio-econômica C) ou em associação com outros biotipos (Tabela III). Segundo CAZABAT et al. (1980), THOMSON et al. (1980), FARGHALY et al. (1984), NISHINO et al. (1986), BEIGHTON (1987), NYVAD & KILIAN (1990), TORRES et al. (1991), esta espécie não foi detectado isoladamente, nem em associação com outros biotipos. Achados semelhantes aos nossos, no entanto, foram evidenciados por métodos de imunofluorescência, em amostras de placas de indivíduos residentes no Rio de Janeiro por BRATTHAL (1972a), e por OLIVEIRA (1974), MARTINS

& BERTOLINI (1980), MARFORT et al. (1985), AZEVEDO (1988). Segundo TORRES (1991), a detecção do sorotipo b - biotipo II pode estar associada às condições sócio-econômicas da população estudada, ao estilo de vida (residentes na periferia) dos indivíduos e/ou à ausência de fluoretação da água de abastecimento. Essas observações, quando confrontadas com os dados que obtivemos, onde o biotipo II foi encontrado isoladamente nas classes sócio-econômicas B e C e em associação com outros sorotipos (c e d) em todas as classes sócio-econômicas, inclusive nas classes sócio-econômicas de alta renda (A e B), residentes na região central da cidade, abastecida por água fluoretada, demonstram contradição, sugerindo que necessariamente as condições sócio-econômicas da população estudada podem não ser um fator determinante na detecção desse biotipo. Esse tipo de associação é ainda muito pouco relatado na literatura, e levando-se em conta que o isolamento desse biotipo tem sido detectado em baixa frequência na população amostrada, afirmações dessa natureza, necessitam maiores investigações.

A detecção do *S. mutans* V (sorotipo e - biotipo V), que se diferencia do biotipo I, pela não utilização de melibiose, em nossa amostra, esteve presente na maior parte, em associação com outras espécies, sendo que apenas 2 indivíduos (classes sócio-econômicas A e D) apresentaram essa espécie única. Esses resultados estão em concordância com os dados obtidos por FRACALANZZA (1979), MARTINS & BERTOLINI (1980), CANTISANO (1981), MIRANDA et al. (1982),

AZEVEDO (1988), TORRES (1991), os quais também relatam essa espécie em associação com outros biotipos. Esses autores mostram também que este biotipo não está relacionado a altos índices de cárie dental, mesmo quando associado com outros biotipos. Não foi objeto de nossa preocupação principal tais relações, o que nos impossibilita de comparar esses dados, com os relatados pelos autores acima descritos.

Com relação à frequência de isolamento de espécies múltiplas, a associação mais frequente, de acordo com os resultados que obtivemos, foi de *S. mutans* / *S. sobrinus* (17%), que se aproximam dos resultados obtidos por SHKLAIR & KEENE (1976) e FRACALANZZA (1979), os quais obtiveram respectivamente 27,6% e 21,4%, dessa combinação. Posteriormente, as associações mais frequentes foram *S. mutans* / *S. rattus*, *S. mutans* / *S. mutans* V, respectivamente 7,5% e 3,5% (Tabela III). Em seu trabalho, AZEVEDO (1988), demonstrou a combinação *S. mutans* / *S. sobrinus* em menor porcentagem (2,78%), seguido por *S. mutans* / *S. mutans* V (1,85%), sendo que a combinação mais frequente foi de *S. mutans* / *S. rattus* com 19,44%. SHKLAIR & KEENE (1976) e FRACALANZZA (1979), obtiveram para a combinação *S. mutans* / *S. mutans* V respectivamente 28,6% e 1,85% e *S. mutans* / *S. sobrinus* / *S. mutans* V (71,0% e 1,0%), obtidos respectivamente por FRACALANZZA (1979), e por nós. Esta discordância na taxa de colonização por espécies múltiplas, pode ser aparente, visto que a coleta realizada em nossa pesquisa, foi de saliva e não de "pool" de placa, como descrito e

preconizado por MASUDA et al. (1985), os quais detectaram que 68% dos indivíduos analisados apresentaram dois ou mais sorotipos desses microrganismos. No que diz respeito à estas diversidades na frequência de isolamento de espécies múltiplas de *Streptococcus* grupo mutans, é possível que variações geográficas sejam um fator limitante na prevalência de determinadas espécies. A constatação da variabilidade desses dados, quando analisados conjuntamente, parece indicar que a associação dos biotipos mencionadas não é determinada por mecanismos ou processos conhecidos, ocorrendo, portanto, ao acaso. Entretanto, não houve diferenças estatisticamente significantes entre as espécies e as classes sócio-econômicas. No entanto, concordamos com BEIGHTON et al. (1987), quanto à necessidade de mais pesquisas para elucidar os mecanismos pelos quais determinadas espécies de *Streptococcus* grupo mutans tendem a se estabelecer, predominar e colonizar a cavidade bucal, isoladamente ou em associação com outras espécies. Assim, novas pesquisas, visando elucidar essa variabilidade, deverão ser levadas a efeito por pesquisadores nessa área procurando o seu significado em relação à cárie.

Inúmeras pesquisas têm sido realizadas com *S. mutans* e *Lactobacillus*, com ênfase no seu significado em relação à cárie dental em populações. Na última década, numerosos artigos a respeito desses microrganismos foram publicados, demonstrando a relação entre os mesmos e a cárie (BRETZ et al. 1992; HÖFLING, 1992; HOLBROOK,

1993; GAVAZZI et al., 1995). Os dados obtidos em nossas investigações demonstraram que nas contagens de *Lactobacillus*, 51% (102 crianças) do total da amostra apresentaram índices nulos, baixos ou discretos desses microrganismos (0 e $<10^4$) - Tabela IV, observando-se que o percentual restante 49%, esteve na faixa considerada de alto número de UFC/ml de saliva ($>10^5$). O valor médio de *Lactobacillus* obtido nas análises por nós efetuadas (Tabela VI a) variou de $1,8 \times 10^5$ UFC/ml para a classe sócio-econômica A e $2,4 \times 10^5$ UFC/ml para a classe sócio-econômica B, o que está próximo do valor relatado por KLOCK & KRASSE (1977), que foi de $2,0 \times 10^5$ UFC/ml e GAVAZZI et al. (1995), que foi de $2,24 \times 10^5$ UFC/ml. Outros autores como CROSSNER (1981), ZICKERT et al. (1982) também relataram em suas pesquisas, um total de UFC/ml de *Lactobacillus* próximos de nossos resultados. Valores superiores aos das classes A e B, ou seja $5,0 \times 10^5$; $3,4 \times 10^5$ e $4,0 \times 10^5$ UFC/ml foram encontrados nas classes C, D e E respectivamente, valores estes próximos aos encontrados por HÖFLING (1992). Entretanto, não houve diferenças estatisticamente significantes entre as classes sócio-econômicas para os valores de *Lactobacillus* (Tabela VI a). KLOCK & KRASSE (1987), constataram em 2 pesquisas correlatas, realizadas em 1973 e em 1984, que o número máximo de *Lactobacillus* havia caído de $10,3 \times 10^6$ para $2,4 \times 10^6$ UFC/ml de saliva. Os autores atribuem esta queda à uma melhora geral da saúde bucal dos indivíduos pesquisados, já que por sua vez, WILSON & ASHLEY (1989), demonstraram que a contagem de *Lactobacillus* pode ser

considerada uma indicação de risco à cárie se estiver por volta de 10^5 UFC/ml de saliva ou acima. Segundo HÖFLING (1992), os lactobacilos podem estar intimamente associados com a cárie, pelo menos em circunstâncias específicas. A condição que favorece estes microrganismos é a alta e frequente ingestão de carboidratos entre as refeições. Na verdade, o número de *Lactobacillus* na cavidade bucal, relaciona-se até certo ponto, com a ingestão de carboidratos. Assim, a contagem desse microrganismo pode ser usada tanto para a avaliação do risco à cárie, quanto para o efeito das alterações dietéticas. Como pode ser observado nas Tabelas IV, V e VIa e Gráficos 1, 2 e 3, tais resultados são indicativos, a princípio, que os escolares selecionados podem ser considerados como grupos de alto risco à cárie, independente da classe sócio-econômica estudada. Estatisticamente, há evidências de que o número de UFC/ml de *Lactobacillus* nas crianças estudadas não depende das classes sócio-econômicas.

Analisando os resultados obtidos em nossas investigações e os relatados na literatura em relação à esses microrganismos e o seu significado em relação à cárie, pode-se verificar, primeiramente que uma parcela significativa da população amostrada se apresenta como um grupo de alto risco à cárie, o que parece ser indicativo de que a saúde bucal, de modo geral, na nossa população, necessita de atenção significativa. As evidências de que o número de *Lactobacillus* nas crianças estudadas não depende das classes sócio-econômicas analisadas, associadas à

afirmação de que a condição que favorece a colonização desses microrganismos é a ingestão alta e frequente de carboidratos entre as refeições, permitem-nos considerar que esses fatores cariogênicos, extrapolam as condições sócio-econômicas dos escolares das diferentes classes sócio-econômicas analisadas. Pode-se dizer que fatores como a massificação dos meios de comunicação, induzindo a determinados padrões de consumo, por exemplo, a propaganda veiculada pela televisão nos programas infantis assistidos por crianças de todas as classes sócio-econômicas, é sugestivo de que vão além das fronteiras econômicas colocadas pela origem de classe das crianças pesquisadas. A má orientação em relação aos hábitos alimentares parece não ser específica das camadas desfavorecidas socialmente. Certamente existem diferenças quanto à qualidade, preço, marcas, etc., dos produtos consumidos, mas essas diferenças parecem não alterar o comportamento básico da inclusão e ingestão inadequada de carboidratos, etc., na dieta alimentar.

Os dados analisados referentes aos índices de *Streptococcus* grupo mutans do total de crianças analisadas, demonstraram primeiramente que esse microrganismo esteve presente em 100% da população amostrada, independente da classe sócio-econômica estudada. Do total da amostra, 160 crianças (80%) - Tabela V - apresentaram valores superiores à 10^5 UFC/ml desses microrganismos na dentição mista, índices considerados altos, sendo que apenas 40 crianças (20%) apresentaram valores menores que 10^5 de *Streptococcus* grupo mutans na saliva e as classes mais altas,

A e B, mostraram uma frequência maior de indivíduos nesse intervalo, com contagem menor que 10^5 UFC/ml de *Streptococcus* grupo mutans, como pode ser observado pela Tabela V e Gráfico 2. O valor médio para *Streptococcus* grupo mutans para os 200 escolares divididos em classes sócio-econômicas distintas, foi de $1,8 \times 10^6$ UFC/ml para a classe sócio-econômica A à $6,0 \times 10^6$ UFC/ml para a classe sócio-econômica E e estão expressos na Tabela VIa e Gráfico 3. Como pode ser observado na Tabela VIa, as médias desses microrganismos para as classes sócio-econômicas A e B -que não diferem estatisticamente- estão abaixo do valor relatado por KLOCK & KRASSE (1977), que foi de $2,8 \times 10^6$ UFC/ml sendo que as classes C e D estão próximas aos valores relatados por esse mesmo autor, porém não diferem estatisticamente dos valores da média da classe sócio-econômica E (Tabela VI a). Por outro lado, a classe sócio-econômica E, apresentou valores muito acima dos relatados na literatura (BRETZ et al., 1992). ZICKERT et al. (1982), relataram que 21% das crianças estudadas tinham contagens de *Streptococcus* grupo mutans na saliva acima de 10^6 UFC/ml, resultado semelhante ao obtido por TOGELIUS & BRATTHAL (1982), KLOCK & KRASSE (1987), CHOSACK et al. (1988), HOLBROOK & BLACKWELL (1989), THIBODEAU et al. (1993), discordante porém, de GAVAZZI et al. (1995), os quais demonstraram, através de um estudo longitudinal nesta mesma localidade (Piracicaba), valores de *Streptococcus mutans* considerados como ligeiramente mais baixos em relação à literatura, $9,6 \times 10^5$ UFC/ml, bem como quando comparados aos nossos

resultados. Outros estudos, nessa linha de investigação, variando-se as cidades, as faixas etárias e o nível sócio-econômico, embora demonstrem dados quantitativamente diferentes, sempre apresentam uma grande porcentagem de indivíduos apresentando esses microrganismos em níveis relativamente acima dos índices considerados normais (ALVES et al., 1986; MALTZ, 1986; HÖFLING, 1992; EVANS et al., 1993).

A relação entre número elevado de *Streptococcus grupo mutans* e a alta atividade de cárie tem sido comprovada por diversos autores (NEWBRUN, 1989; ALALUUSUA, 1993; ANDERSON et al., 1993). O nível desses microrganismos também tem sido associado à dieta contendo carboidratos e portanto sua contagem é válida também na avaliação dietética (VAN HOUTE, 1994).

Na presente pesquisa, o número de UFC/ml de *Streptococcus grupo mutans*, demonstrou uma relação positiva com a classe sócio-econômica, visto que os baixos e altos números desses microrganismos foram detectados para as classes sócio-econômicas altas e baixas, respectivamente. Os parâmetros para a avaliação do número de *Streptococcus grupo mutans* são variáveis. KLOCK & KRASSE (1977), demonstraram que pessoas com níveis acima de 10^6 UFC/ml de *Streptococcus grupo mutans* na saliva apresentavam alto risco de cárie. Para esses autores, inversamente, pacientes com menos de $2,5 \times 10^5$ UFC/ml de *Streptococcus grupo mutans* são considerados, fora do risco de desenvolver cáries num espaço curto de tempo. ANDERSON et al. (1993),

consideram de alto risco, pacientes que apresentam contagens de *Streptococcus* grupo mutans acima de $1,0 \times 10^5$ UFC/ml de saliva. Nossos resultados demonstram que os indivíduos pertencentes a grupos de nível sócio-econômico baixo são frequentemente os que apresentam maior número de microrganismos cariogênicos, como pode ser constatado nas Tabelas VIa e VIb. É sabido, em termos comportamentais, que os indivíduos pertencentes às classes menos favorecidas, apresentam uma higiene bucal e uma dieta alimentar mais incompatíveis com uma saúde bucal desejada do que crianças de classes sócio-econômicas mais altas, demonstrando menor higiene bucal, escovando menos os dentes e consumindo carboidratos com maior frequência, fatores este comprovados através da anamnese por nós efetuada. Segundo SCHOU & UITENBROEK (1995), a saúde bucal é mais precária entre classes sócio-econômicas baixas quando comparadas às classes altas e conseqüentemente, há um aumento na prevalência de cárie nas classes sócio-econômicas mais desfavorecidas (HAUSEN et al., 1981; MILEN et al., 1981), dados estes também obtidos em nossas investigações.

No que diz respeito ao alto número de *S. mutans*, todas as classes sócio-econômicas em questão, apresentaram-se como um grupo de alto risco à cárie, sendo observada correlação entre classe sócio-econômica e número de *Streptococcus* grupo mutans na saliva das crianças estudadas. Segundo CROSSNER & HOLM (1975), o fator sócio-econômico de determinada população, particularmente o nível educacional da família,

poderia influenciar diretamente os hábitos alimentares e higiênicos desses indivíduos e conseqüentemente a saúde bucal das mesmas. É sabido que a dieta, constituída principalmente de carboidratos refinados, associada à higiene bucal pode influir sobre a microbiota bucal através de seu efeito sobre os fatores salivares, e de maneira direta, pela deposição de resíduos alimentares que podem servir como nutrientes para os vários microrganismos orais, levando assim, à detecção de números elevados dessas bactérias na cavidade bucal e conseqüentemente em aumento pronunciado de cárie na população.

Os resultados apresentados nas Tabelas X (ceos) e XI (CPOS), demonstraram um aumento dos índices de cárie respectivamente nas classes sócio-econômicas de A à E. Segundo POULSEN & HOLM (1980), existe uma correlação estatisticamente positiva entre as cáries nas dentições decídua e permanente do mesmo indivíduo. STAMM et al. (1988), também verificaram que existe uma correlação positiva, embora fraca, entre cáries em dentes decíduos e futuras cáries em dentes permanentes, o mesmo verificado por JAAFAR & RAZAK (1988), os quais afirmam que a porcentagem das dentições decídua e permanente afetadas pela cárie aos 7 anos estava correlacionada ao estado de cárie na dentição permanente aos 12 anos. Segundo GAVAZZI et al. (1995), existe uma correlação significativa entre a prevalência de cárie em dentes decíduos e o incremento de cárie nos dentes permanentes, de tal modo que o índice ceos pode ser útil como previsor do incremento futuro de cárie. Nossos

dados indicaram uma correlação estatisticamente significativa entre a prevalência de cárie em dentes decíduos e dentes permanentes, no mesmo indivíduo, corroborando, dessa forma, com a sugestão de ser o índice ceos um indicativo de cáries futuras (Tabela XIII).

Os resultados expressos na Tabela XII e XIII, foram obtidos à partir dos dados das Tabelas VII (índice de Fluxo salivar), VIII (pH), IX (indicador de Capacidade Tampão), X (ceos), XI (CPOS) e mostram suas respectivas correlações. Embora os resultados obtidos nas Tabelas XII e XIII demonstrem que não houve correlação significativa entre ceos e índice de Fluxo Salivar, ceos e pH ceos e *Lactobacillus* (Tabela XII), CPOS e índice de Fluxo Salivar, CPOS e pH, CPOS e *Lactobacillus* (Tabela XIII) para todas as classes sócio-econômicas estudadas, observou-se uma correlação estatisticamente significativa entre ceos e indicador de Capacidade Tampão, ceos e *Streptococcus* grupo mutans e entre CPOS e esse mesmo indicador e CPOS e *Streptococcus* grupo mutans apenas nas classes sócio-econômicas C e E, não existindo correlação para as demais classes sócio-econômicas, exceto para a correlação ceos e CPOS que apresentaram significância estatística para todas as classes sócio-econômicas (Tabela XIII). Analisando-se esses resultados, pode-se observar que não houve correlação entre fatores salivares e índices de cárie (ceos/CPOS) como também para os índices microbiológicos, exceto para as classes sócio-econômicas C e E. A literatura apresenta dados que comprovam a existência de uma provável correlação negativa entre os

fatores salivares com os índices de cárie. CROSSNER & HOLM (1975), analisando a frequência de cárie em crianças, encontraram uma correlação negativa entre capacidade tampão e fluxo salivar, porém relataram correlação positiva entre nível sócio-econômico e cárie nas crianças analisadas. Da mesma forma, ERICSSON & HARDWICK (1978), demonstraram uma correlação negativa entre os fatores salivares, capacidade tampão (CT), fluxo salivar (FS) e o índice de cárie, sendo que os fatores salivares estariam interrelacionados, de tal forma que num fluxo salivar aumentado, teria-se uma maior capacidade tampão. Por outro lado, KLOCK & KRASSE (1979), demonstraram que nenhum dos fatores salivares estaria correlacionado com o aumento de cárie. De forma semelhante, ainda CROSSNER (1981), afirmou que nenhuma correlação significativa pode ser feita entre fluxo salivar e atividade de cárie, estando deste modo de acordo, parcialmente, com nossos resultados, que apresentaram correlação significativamente positiva entre capacidade tampão e atividade de cárie para as classes sócio-econômicas C e E, o que poderia ser sugerido que indivíduos com baixo fluxo salivar poderiam estar incluídos nos possíveis grupos de risco em razão de um alto índice de cárie, ou ainda, uma explicação adicional possível para a falta de correlação entre essas variáveis, poderia residir no fato delas não estarem familiarizadas aos procedimentos de obtenção de amostras. Muitas crianças se sentem desconfortáveis com a mastigação da goma base e

fornecem valores de fluxo baixos, associados ao controle emocional da secreção salivar.

A relação entre o índice de fluxo salivar estimulado e o desenvolvimento de lesões de cárie há muito tem sido estudado. A ausência de saliva, xerostomia, ou índices de secreção muito baixos podem resultar em aumento pronunciado no risco de cárie. Entretanto, não parece haver relação linear rigorosa entre o índice de fluxo salivar e o risco de cárie. HUNTER (1988), afirma que dentre os fatores salivares, o fluxo salivar é o mais importante, de tal forma que pacientes com xerostomia apresentariam aumento na atividade de cárie. De forma semelhante, para DAVENPORT (1990), a saliva desempenharia um papel importante como atenuante da atividade de cárie dental, pela remoção mecânica dos resíduos alimentares. O fluxo salivar e a capacidade tampão, porém seriam dependentes da saúde geral do indivíduo. GAVAZZI et al. (1995), relatam uma correlação negativa da capacidade tampão com o incremento de cárie em dentes permanentes. Segundo THYLSTRUP & FEJERSKOV (1995), uma explicação razoável para a baixa relação estatística dos fatores salivares é que o risco de cáries não parece ser influenciado em nenhuma extensão em especial nos indivíduos dentro das faixas normais de índices de secreção, como por exemplo, o índice de secreção de 1,5 comparado ao de 1,8 ml/min. Todavia, pode haver um valor limite para o aumento de risco de cárie em torno de 0,7 ml/min para o índice de secreção estimulada. Dessa forma, embora nossos resultados relacionados ao fatores salivares

não tenham sido estatisticamente significantes, nossa amostra pode ser considerada como de alto risco à cárie, visto que o índice de secreção salivar manteve uma maior proporção (47%) na faixa de 0,1 à 0,7 ml/min (Tabela VII).

O indicador de capacidade tampão da saliva é importante na manutenção do nível de pH da saliva e na placa, o qual reage contra a dissolução de minerais. DISNEY et al. (1992), afirmam que num modelo de previsão de cárie, a variável relativa aos fatores salivares básicos não seria incluída, tendo em vista que os testes disponíveis são inconclusivos. Semelhante ao índice de secreção, existe uma faixa normal da capacidade tampão, na qual não parece haver nenhuma relação aparente com o risco de cárie. Abaixo do valor limite (pH final ≤ 4), o processo parece ser facilitado.

Com relação aos fatores microbiológicos, *Streptococcus* grupo mutans e *Lactobacillus*, a análise estatística mostrou-se bastante complexa, porque ela nos apresentou uma correlação positiva entre *Streptococcus* grupo mutans e ceos/CPOS somente nas classes sócio-econômicas C e E (Tabelas XII e XIII), resultados estes concordantes em relação a maioria dos dados encontrados na literatura que são enfáticos ao afirmar que existe uma correlação altamente positiva entre a presença de um alto nível de *S. mutans* e um índice de cárie aumentado.

De tal modo que ZICKERT et al. (1982), afirmaram que há uma forte correlação significativa entre níveis de *Lactobacillus* e *S. mutans* e o risco

à cárie. ZICKERT et al. (1985), constataram que níveis salivares de *Lactobacillus* e *S. mutans*, isolados ou em combinação são bons previsores para o desenvolvimento de cárie em adolescentes. Também KOHLER & BJARNASON (1987), verificaram em sua pesquisa, que tanto *Lactobacillus* como *S. mutans* estavam significativamente correlacionados entre si, bem como com a prevalência de cárie. De tal forma, que, crianças com altas contagens salivares de *S. mutans* e *Lactobacillus* desenvolveram 4 vezes mais superfícies cariosas do que aquelas com baixos números. Por sua vez HUNTER (1988), afirmou que existiam provas críticas do envolvimento de microrganismos específicos no desenvolvimento do processo de cárie. De modo semelhante, KLOCK (1989), é concorde com o fato de que os melhores previsores de cárie seriam níveis salivares de *Lactobacillus* e *S. mutans*. Para RUSSEL (1990), estes microrganismos estariam correlacionados de forma significativa com o incremento de cárie, ou seja, contagens salivares de 10^6 UFC/ml de saliva de *S. mutans* e 10^5 UFC/ml de saliva para *Lactobacillus* seriam úteis na previsão do risco à cárie. A combinação de contagem de *Streptococcus* grupo mutans e *Lactobacillus* na saliva mostra maior sensibilidade e especificidade que os testes isoladamente, principalmente se associada a outras variáveis como número de lesões de cárie, segundo STECKESÉN-BLICKS (1985). Em contrapartida, concordamos com HAUGEJORDEN (1984), que afirma serem muito baixa a eficácia e a confiança previsiva dos métodos empregando-se apenas *Lactobacillus* e

S. mutans na identificação de indivíduos de alto risco à cárie. De forma idêntica, DISNEY et al. (1992), constataram que os fatores microbiológicos mostraram contribuições mínimas para o modelo final de avaliação do risco à cárie, apesar de associações positivas para níveis de *S. mutans* e *Lactobacillus* com a prevalência de cárie.

Embora seja extensa a literatura sobre prevalência de cárie dentária, existem poucos trabalhos específicos para a dentição mista. Alguns estudos nesse sentido em molares decíduos foram efetuados demonstrando que a frequência de acometimento por lesão de cárie varia muito nos diferentes grupos de dentes, numa sucessão característica: primeiros e segundos molares mais comumente. Esta ordem prevalece em diferentes regiões geográficas e nas populações cuja incidência de cárie é baixa ou elevada. PUGLIESI & ISSAO (1975), verificaram em crianças de 5 a 9 anos, a perda precoce de molares decíduos superiores. TOLEDO (1980), demonstrou em crianças de 3 a 6 anos serem os molares inferiores decíduos a apresentarem maior suscetibilidade às lesões de cárie, seguido dos segundos molares superiores. Relatos semelhantes foram descritos por BEZERRA (1981), que estudou a frequência de dentes decíduos cariados mostrando serem os segundos molares inferiores os que apresentam maior frequência de cárie, seguidos respectivamente pelos primeiros molares inferiores e segundos molares superiores. Os dados obtidos em nossas investigações (gráficos 9 a 14), indicam que entre as crianças com cárie (Gráficos 9a à 14a), o segundo molar inferior decíduo

direito e esquerdo foram os que se apresentaram mais comprometidos por essa doença, seguido respectivamente pelos primeiros molares decíduos inferiores, segundo molar decíduo superior e primeiro molar decíduo superior, sendo a superfície oclusal a mais acometida por cárie, observando-se essa frequência em todas as amostras, de modo geral. Esses dados sugerem que, entre os molares decíduos, os inferiores parecem ser mais susceptíveis e os mais atingidos pelo processo cariogênico precocemente, em geral logo após a erupção, seguidos de perto pelos primeiros molares superiores, sendo a superfície oclusal a mais acometida por lesões, podendo estar relacionado com altos níveis de *S. mutans* como sugeridos por THIBODEAU & O'SULLIVAN (1996). Com relação às demais superfícies, não se observou um padrão similar de lesões de cárie nos dentes decíduos, considerando-se os diferentes tipos de amostras analisadas. Esse evento, nas superfícies lisas é mais incomum e se ocorre, geralmente é tido como indício de atividade de doença muito alta no indivíduo. Sob o ponto de vista bucal, a distribuição da cárie apresentou-se com uma simetria bilateral, como observado também por LO et al. (1990). A implicação dessa bilateralidade, segundo BOFFA et al. (1986) é que se uma lesão for detectada em uma superfície, existe um risco aumentado de lesão na superfície simétrica que é maior do que o risco aumentado de lesões em quaisquer outras superfícies no lado simétrico da boca. Em conjunto, o subgrupo dos caninos e incisivos inferiores foi o que apresentou-se com menor frequência de cárie. Sob o

ponto de vista anatômico, o fato de os incisivos e caninos quase não apresentarem cárie tem sido atribuído à posição ocupada por estes dentes anatomicamente, tornando-os facilmente acessíveis à ação protetora do fluxo salivar e às condições de higiene bucal. A ocorrência de cárie é mais comum naqueles locais cujas características anatômicas favorecem a retenção de restos alimentares e conseqüentemente bactérias. Cerca de 40 a 50% das cavidades ocorrem, em ordem decrescente de frequência, ao nível dos sulcos e fissuras da face oclusal dos molares. LI et al. (1996), salientam do ponto de vista da anatomia dental, que os dentes decíduos formam fissuras, particularmente no primeiro e segundo molar decíduos, proporcionando assim, sítios de adesão e colonização para microrganismos cariogênicos. Conseqüentemente, o processo da cárie dental na superfície oclusal é maior do que em outras superfícies dentais. Naturalmente, qualquer mudança nos hábitos orais, como por exemplo, a melhora da higiene oral, uso tópico de flúor e a mudança nos hábitos alimentares, influenciará grandemente no índice cariogênico de qualquer grupo ou classe sócio-econômica de determinada população (ATHANASSOULI et al., 1994).

Em geral, segundo salientam DISNEY et al. (1992), podemos considerar o fator sócio-econômico como um indicador de risco de cárie. Uma baixa renda familiar pode afetar a alimentação e a quantidade nutricional das crianças durante o período de desenvolvimento dental. Isso pode afetar o grau educacional, saúde, estilo de vida e o acesso às

informações de cuidado com a saúde. Como consequência, a renda familiar pode ser um fator indireto à susceptibilidade à cárie dental. Em nosso estudo, utilizamos o critério de qualificação como um indicador de classe sócio-econômica, utilizando-o para estimar e comparar a frequência de *S. mutans* e *Lactobacillus* em relação à atividade cariogênica e a incidência das espécies de *Streptococcus* grupo mutans entre os diferentes grupos de crianças. Essas variáveis por nós utilizadas, como o nível sócio-econômico, nível cultural e os hábitos alimentares são difíceis de serem avaliadas devido à falta de precisão na sua definição e, portanto, na sua medição.

O declínio da cárie nos países industrializados está hoje em dia bem documentado em muitas partes do mundo (GLASS, 1982), havendo uma tendência de focar os cremes dentais fluoretados para o declínio da doença, combinado aos métodos preventivos ensinados nas escolas e à mudança no comportamento em relação à saúde dental. Nos países em desenvolvimento, há muitas alegações de aumento na ocorrência de lesões de cárie. Estudos epidemiológicos mundiais mostram que a prevalência de cárie é baixa em populações que vivem de maneira primitiva, as quais possuem uma dieta composta de produtos locais e com pouco carboidrato refinado. Invariavelmente é visto um aumento drástico no índice de lesões cariosas quando essas populações alteram seu padrão de vida e adotam uma dieta moderna, com alto conteúdo de alimentos contendo sacarose. Dessa forma, o acesso repentino a uma renda maior e

à educação pode resultar em acesso mais fácil à alimentos refinados e outras comodidades modernas, as quais conduzirão ao aumento do índice de lesões cariosas. Contudo, em todas as camadas sócio-econômicas, deve haver a conscientização sobre os métodos preventivos, importância de higiene bucal e dos hábitos alimentares, já que a globalização de consumo e comportamento, parece atingir todas as classes sócio-econômicas, indiscriminadamente.

Neste trabalho, o conjunto de informações obtidas e apresentadas, em associação com dados acrescentados da literatura, permitiram contribuir primeiramente, para o conhecimento de que determinadas espécies de microrganismos, como *S. mutans* e *S. sobrinus*, parecem prevalecer nas populações de modo geral. A presença desses microrganismos em indivíduos multicolonizados, parece independente da classe sócio-econômica. Em segundo lugar, os índices obtidos nas contagens de *S. mutans* e *Lactobacillus* nos indivíduos analisados, ao lado de outros dados relatados por outros pesquisadores, parece ser sugestivo de que uma parcela significativa de nossa população, pode ser considerada como de alto risco à cárie, particularmente as classes menos favorecidas. Em adição à esse fato, a prevalência de cárie entre as classes sócio-econômicas, de modo geral, é alta, principalmente nas camadas sociais mais baixas. Em terceiro lugar, o índice ceos, parece ser um indicativo seguro de cáries futuras, e os dados obtidos mostram que determinados dentes, como os primeiros e segundos molares são mais

susceptíveis à essa doença, sendo a superfície oclusal a mais sujeita à esse fenômeno.

Os resultados obtidos, abrem possibilidades de estudos mais amplos, que venham envolver parcelas significativas de nossas populações em nossa região e em outras localidades mais distantes, nesse país imenso, como é o Brasil. Certamente, um conhecimento mais amplo dessas populações do ponto de vista microbiológico, epidemiológico e social, traria uma contribuição científica importante para estudos dessa natureza. Atualmente, o emprego de técnicas mais sofisticadas, envolvendo a Biologia Molecular (motivo de estudos futuros de nossa parte) como ribotipagem, RAPD (polimorfismo do DNA amplificado ao acaso), RFLP (polimorfismo de comprimento de fragmentos de restrição), entre outras, tem trazido uma contribuição fundamental para o entendimento dessas questões, originando num futuro próximo um amplo conhecimento desses microrganismos e o seu significado em relação à cárie.

CONCLUSÕES

6. CONCLUSÕES

Nesse trabalho, o conjunto de informações obtidas e apresentadas, permitiu concluir que:

1. Das espécies de *Streptococcus* grupo mutans, os *S. mutans*, seguidos por *S. sobrinus* são os que predominaram em todas as classes sócio-econômicas.
2. Nos indivíduos multicolonizados, a associação mais frequente encontrada é a de *S. mutans* / *S. sobrinus*, em todas as classes sócio-econômicas.
3. Os índices microbiológicos, baseados no número de *Lactocacillus* e *Streptococcus* grupo mutans foram considerados altos em todas as classes sócio-econômicas estudadas, devendo-se assim, considerar que uma parcela significativa da população apresenta-se como grupos de alto risco à cárie.
4. A análise estatística revelou que houve correlação estatisticamente significativa entre classe sócio-econômica e número de *Streptococcus* grupo mutans.

5. A prevalência de cárie entre as classes sócio-econômicas, de modo geral, é alta, sendo que as classes mais baixas (D/E), apresentam uma prevalência maior, quando comparadas às classes B/C e A, as quais demonstraram prevalência alta e moderada, respectivamente.

6. Houve uma correlação estatisticamente significativa entre prevalência de cárie em dentes decíduos e dentes permanentes, corroborando dessa forma, com a sugestão de ser o índice ceos um indicativo de cáries futuras.

7. Entre os indivíduos com cárie, os segundos molares decíduos inferiores foram os dentes mais comprometidos por esse evento, seguidos pelos primeiros molares decíduos inferiores, em todas as amostras, sendo a superfície oclusal a mais lesionada por essa patologia.

SUMMARY

7. SUMMARY

Saliva samples from students aged 6 to 8 years were analysed in order to determine the prevalence of mutans streptococci serotypes and to correlate this microbiological parameter to dmfs/DMFS. Two hundred children were examined according to WHO criteria for dmfs/DMFS index, distributed in five socio-economic levels (A to E). Stimulated saliva samples were evaluated as to secretion rate, buffer capacity and pH; after dilution the secretion was inoculated into the SB₂₀ culture media and the colony forming units per ml of saliva of mutans streptococci and *Lactobacillus* were determined. Representative colonies were isolated and classified by biochemical methods on the basis of carbohydrate fermentation. Seventy eight percent of the 491 samples tested were colonies of *S. mutans*, followed by *S. sobrinus* (11,61%), *S. rattus* (4,69%), *S. mutans* V (2,65 %), *S. cricetus* (1,83%) and *S. ferus* (1,22%). The predominance of *S. mutans* was found in every socio-economic level. Among individuals harboring multiple species, the most frequent association detected was *S. mutans* / *S. sobrinus* (17%). A significant part of the population, particularly among the lower socio-economic level (D/E) was considered a high risk group in developing dental carie because of the high number of *Streptococcus* group *mutans* and *Lactobacillus* and high levels of dental caries index. The results also showed that among all the parameters employed to identify such high risk populations, only dmfs showed statistical significance for every socio-economic level.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALALUUSUA, S. Salivary counts of *mutans* streptococci and lactobacilli and past caries experience in caries prediction. Caries Res., 27: 68-71, 1993.
- ALALUUSUA, S; MÄTTÖ, J. GRÖNROOS, L.; INNILÄ, S. Oral colonization by more than one clonal type of *mutans Streptococcus* in children with nursing-bottle dental caries. Archs Oral Biol., 41: 167-73, 1996.
- ALVES, M.P.A.; LORENZETTI, M.R., ZELANTE, F. Contagem de *Streptococcus mutans* na saliva de paulistanos com idade de 12 e 14 anos. Anais Soc. Bras. Pesq. Odontol. 2:44, 1986.
- ANDERSON, M.H.; BALES, D.J.; OMNELL, K. Modern management of dental caries: the cutting edge is not the dental bur. J. Am. Dent. Assoc., 124: 37-44, 1993.
- ASSUMPCÃO, R.M.V.; MORITA, T. Manual de soluções, reagentes e solventes. São Paulo, Edgard Blücher, 1968, p. 329-30.
- ATHANASSOULI, I.; MAMAI-HOMATA, E.; PANAGOPOULOS, H.; KOLETZI-KOUNARI, H.; APOSTOLOPOULOS, A. Dental caries changes between 1982 and 1991 in children aged 6-12 in Athens, Greece. Caries Res., 28: 378-82, 1994.

- AZEVEDO, R.V.P. O emprego da bacteriocinotipagem (mutacinotipagem) no rastreamento epidemiológico de estreptococos do "grupo mutans". São Paulo, 1988. 110p. Dissertação de Doutorado - Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo. Departamento de Microbiologia.
- BEIGHTON, D., RUSSEL, R.R.B.; WHILEY, R.A. A simple biochemical scheme for the differentiation of *S. mutans* and *S. sobrinus*. Caries Res. 25: 174-8, 1991.
- BEIGHTON, D.; HAYDAY, H.; RUSSEL, R.R.B. & WHILEY, R.A. *S. macacae* sp nov from dental plaque of monkeys. Int. J. Syst. Bacteriol., 34: 332-5, 1984.
- BEIGHTON, D.; RIPPON, H.R.; THOMAS, H.E.C. The distribution of *S. mutans* serotypes and dental caries in a group of 5 to 8 year old Hampshire schoolchildren. Br. Dent. J., 162: 103-6, 1987.
- BEIGHTON, D.; RUSSEL, R.R.B.; HAYDAY, H. The isolation and characterization of *S. mutans* serotype h from dental plaque of monkeys (*Macaca fascicularis*). J. Gen. Microbiol., 124: 271-9, 1981.
- BENTLEY, C.; CRAWFORD, J.G. & BRODERIUS, C.A. Analytical and physiological variability of salivary microbial counts. J. Dent. Res., 67: 1409-13, 1988.
- BEZERRA, R.D. Frequência de dentes decíduos cariados e hígidos em escolares do nível sócio-econômico alto e baixo, na faixa etária de 3

- a 6 anos, na cidade de Salvador. Rev. Fac. Odont. UF-Ba, 1: 17-37, 1981.
- BOFFA, J.; SHWARTZ, M.; ASH, A.; PLISKIN, J.S. Bilateral dental caries from the individual perspective: a definition and a statistical test for its existence. Caries Res., 20: 91-5, 1986.
- BOWEN, W.H. Interpretation and use of microbiological findings in dental caries. Oral Microbiol. Immunol., 1: 82-4, 1986.
- BRATTHALL, D. Selection for prevention of high caries risk groups. J. Dent. Res., 59: 2178-82, 1980.
- BRATTHALL, D. Demonstration of five serological groups of streptococcal strain resembling *S. mutans*. Odontologisk Revy, 21: 143-52, 1970.
- BRATTHALL, D. Immunofluorescent identification of *S. mutans*. Odontol. Revy., 23: 181-96, 1972a.
- BRATTHALL, D. Demonstration of *Streptococcus mutans* strains in some selected areas of the world. Odontol. Revy., 23: 401-10, 1972b
- BRATTHALL, D. & KÖHLER, B. *Streptococcus mutans* serotypes: some aspects of their identification, distribution, antigenic shifts and relationship to caries. J. Dent. Res., 55 (special issue C):C15-21, 1976.

- BRETZ, W.A.; DJAHJAH, C.; ALMEIDA, R.S.; HUJOEL, P.P. & LOESCHE, W.J. Relationship of microbial and salivary parameters with dental caries in Brazilian pre-school children. Comm. Dent. Oral. Epidemiol., 20: 261-4, 1992.
- BURNETT, G.W.; SCHERP, H.W. & SCHUSTER, G.S. Microbiologia Oral e Doenças Infecciosas., 4ª ed., R.J.: Ed. Guanabara Koogan S.A., 1978.
- CALHOON, D.A.; MAYBERRY, W.R.; SLOTS, J. Cellular fatty acid and soluble protein composition of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* and related organisms. J. Clin. Microbiol., 14: 376-82, 1981.
- CANTISANO, M.H. Determinação do número de *S. mutans* na saliva de crianças com 6 anos de idade e diferentes experiências de cárie. Bauru, 1981. /Tese de Mestrado - Faculdade de Odontologia de Bauru - USP/.
- CARLSSON, J. A numerical taxonomic study of human oral streptococci. Odontologisk Revy, 19: 137-60, 1968.
- CARLSSON, J.; GANDOUR, I.A.; OLSSON, B.; RICKARDSSON, B. & ABBAS, K. High prevalence of mutans streptococci in a population with extremely low prevalence of dental caries. Oral Microbiol. Immunol., 2: 121-4, 1987.
- CAZABAT, M.C.; BORDONI, N.; PIOVANO, S.; MARCANTONI, M.; DIDIEGO, M. TCHTENSCHWIAIDER, T. Identificación de biotipos de

S. mutans en la dentición primaria. Rev. Asoc. Odontol. Argent., **68**: 90-4, 1980

CHAPMAN, G.H. The isolation of streptococci from mixed cultures. J. Bacteriol. **48**: 113-4, 1944.

CHOSACK, A.; CLEATON-JONES, P.; WOODS, A.; MATEJKA, J. Caries prevalence and severity in the primary dentition and *S. mutans* levels in saliva of preschool children in South Africa. Commun. Dent. oral Epidemiol., **16** : 289-91, 1988.

CLARKE, J.K. On the bacterial factor in the aetiology of dental caries. Br. J. Exp. Pathol., **5**: 141-7, 1924.

COYKENDALL, A.L. Four types of *S. mutans* based on their genetic, antigenic and biochemical characteristics. J. Gen. Microbiol., **83**: 327-38, 1974.

COYKENDALL, A.L. Proposal to elevate the subspecies of *S. mutans* to species status based on their molecular composition. Int. J. Syst. Bacteriol., **27**: 26-30, 1977.

COYKENDALL, A.L. Base composition of deoxyribonucleic acid isolated from cariogenic streptococci. Arch. Oral Biol., **15**: 365, 1970.

COYKENDALL, A.L. *S. sobrinus* nom. rev. and *S. ferus* nom. rev: habitat of these and other *mutans* streptococci. Int. J. Syst. Bacteriol., **33**: 883-5, 1983.

- COYKENDALL, A.L.; SPECHT, P.A.; SAMOL, H.H. *S. mutans* in a wild, sucrose-eating rat population. Infec. Immun., 10: 216-9, 1974.
- CROSSNER, C.G. Salivary *Lactobacillus* counts in the prediction of caries activity. Commun. Dent. Oral Epidemiol., 9: 182-90, 1981.
- CROSSNER, C.G. & HOLM, A.K. A descriptive and comparative study of the oral health in 8-year-old Swedish children. Acta Odont. Scand., 33: 135-42, 1975.
- DAVENPORT, E.S. Caries in preschool children: aetiology. J. Dent., 18: 300-3, 1990.
- DAVEY , A. L. & ROGERS, A. H. Multiple types of the bacterium *Streptococcus mutans* in the human mouth and their intra-family transmission. Arch. Oral Biol., 29 : 453-60, 1984.
- DISNEY, J.A.; GRAVES, R.C.; STAMM, J.W.; BOHANNAN, H.M.; ZACK, D.D. The University of North Carolina caries risk assessment study: further developments in caries risk prediction. Commun. Dent. Oral Epidemiol., 20 : 64-75, 1992.
- DRUCKER, D.B. & MELVILLE, T.H. The classification of some oral streptococci of human or rat origin. Arch. Oral Biol., 16: 845-53, 1971.
- DUNNY, G.M.; BIRCH, G.H.N.; CLEWELL, D.B. Isolation and characterization of plasmid deoxyribonucleic acid from *S. mutans*. J. Bacteriol., 114: 1362-4, 1973.

- EDWARDSSON, S. Characteristics of caries-inducing human streptococci resembling *S. mutans*. Arch Oral Biol., 13: 637-46, 1968.
- EMILSON , C.G. & THORSELIUS, I. Prevalence of mutans streptococci and lactobacilli in elderly Swedish individuals. Scand. J. Dent. Res., 96 : 14-21, 1988.
- EMILSON, C.G. Prevalence of *S. mutans* with different colonial morphologies in human plaque and saliva. Scand. J. Dent., 91: 26-32, 1983.
- ERICSSON, Y. Clinical investigation of the saliva buffering action. Acta Odontol. Scand., 17: 131-65, 1959.
- ERICSSON, Y. & HARDWICK, L. Individual diagnosis, prognosis and counseling for caries prevention. Caries Res., 12 : 94-102, 1978.
- EVANS, R.W.; LO, E.C.M.; DARVELL, B.W. Determinants of variation in dental caries experience in primary teeth of Hong Kong children 6-8 years. Commun. Dent. oral Epidemiol., 21: 1-3, 1993.
- FACKLAM, R.R. Recognition of group D streptococcal species of human origin by biochemical and physiological tests. Appl. Microbiol., 23:1131-9, 1972.
- FARGHALY, M.M.; EKLUND, S.; LOESCHE, W.J. *Streptococcus mutans* levels and biotypes in Egyptian and Saudi Arabian students during the first months of residency in the United States. J. Dent. Res., 63: 52-5, 1984.

FITZGERALD, R.J. & JORDAN, H.V. Polysaccharide-producing bacteria and caries. In: HARRIS, R.S., ed. Art an science in dental caries research Academic Press, New York, p. 79-86, 1968.

FITZGERALD, R.J. & KEYES, P.H. Demonstration of the etiologic role of streptococci in experimental caries in the hamster. J. Am. Dent. Assoc., 61:9-19, 1960.

FITZGERALD, R.J.; JORDAN, H.V.; STANLEY, H.R. Experimental caries and gingival pathologic changes in the gnotobiotic rat. J. Dent. Res., 39: 923-35, 1960.

FOX, P.C.; van der VEN, P.F.; SONIES, B.C.; WEIFFENBACH, J.M. & BAUM, B.J. Xerostomia: evaluation of a symptom with increasing significance, JADA 110: 519-25, 1985.

FRACALANZZA, S.E.L. Isolamento e caracterização de *Streptococcus mutans* e seus biotipos de placa dental de crianças da cidade do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro, 1979. 119p. /Tese de Mestrado-Instituto de Microbiologia, Universidade Federal do Rio de Janeiro.

GAVAZZI, J.C.; HÖFLING, J.F.; MOREIRA, B.W.; PETERS, CF; USBERTI, A.C.; CURY, J.A. Previsores do incremento de cárie em crianças brasileiras. Rev. APCD., 49 : 40-6, 1995.

GIBBONS, R.J.; BERMAN, K.S.; KNOETTNER, P. & KAPSIMALIS, B. Dental caries and alveolar bone loss in gnotobiotic rats infectedd with capsule forming streptococci of human origin. Arch. Oral Biol., 2: 549-60, 1966.

- GLASS, R.L. The first international conference on the declining prevalence of dental caries. J. Dent. Res., 61: 1301-83.. 1982.
- GOLD, O.C.; JORDAN, H.V.; VAN HOUTE, J. A selective medium for *S. mutans*. Arch. Oral Biol., 18: 1356-64, 1973.
- HAMADA, S. & SLADE, H.D. Biology, immunology and cariogenicity of *Streptococcus mutans*. Microbiol. Rev., 44: 331-84, 1980.
- HAMADA, S; MASUDA, N.; OOSHIMA, T.; SOBUE, S.; KOTANI, S. Epidemiological survey of *S. mutans* among japanese children. Identification and serological typing of the isolated strains. Jpn.J.Microbiol., 20 : 33-44, 1976.
- HARDIE, J.M. Oral streptococci. In: BERGEY, D.H. Bergey's manual of sistematic bacteriology . Baltimore: Williams & Wilkins, 1986. v.2, sec. 12, p. 1054-63.
- HARDIE, J.M.; THOMSON, P.L.; SOUTH, R.J.; MARSH, P.D.; BOWDEN, G.H.; McKEE, A.S.; FILERY, E.O. & SLACK, G.L. A longitudinal epidemiological study on dental plaque and the development of dental caries-interim results after two years. J. Dent. Res., 56: C 90-9, 1977.
- HAUGEJORDEN, O. Caries prevention in dental office. Int. Dent. J., 34: 49-55, 1984.
- HAUSEN, H.; HEINONEN, O.P.; PAINIO, I. Caries in permanent dentition and social class of children participating in public dental care in fluoridated and non-fluoridated areas. Comm. Dent. Oral Epidemiol., 9: 289-91, 1981.

- HÖFLING, J.F. Contagens de microrganismos cariogênicos da saliva de escolares da região de Piracicaba. Rev. APCD., 46 : 749-52, 1992.
- HOLBROOK, W.P. Dental caries and cariogenic factors in pre-school urban Iceland children. Caries Res., 27: 431-37, 1993.
- HOLBROOK, W.P. & BLACKWELL, C.C. Secretor status and dental caries in Iceland. Microbiol. Immunol., 47: 397-400, 1989.
- HUNTER, P.B. Risk factors in dental caries. Int. Dent. J., 38 : 211-17, 1988.
- JAAFAR, N. & RAZAK, I.A. Correlation between caries experience at age 7 and 12: a longitudinal study. J. Pedod., 13 : 11-6, 1988.
- JAY, P. The reduction of oral *Lactobacillus* counts by periodic restriction of carbohydrate. Amer. J. Orthod., 33: 162-84, 1947.
- KILIAN, M.; THYLSTRUP, A.; FEJERSKOV, O. Predominant plaque flora of Tanzanian children exposed to high and low water fluoride concentrations. Caries Res., 13 : 330-43, 1979.
- KIMMEL, L. & TINANOFF, N. A modified mitis salivarius medium or caries diagnostic test. Oral Microbiol. Immunol., 6: 275-9, 1991.
- KLOCK, B. & KRASSE, B. Effect of caries preventive measures in children with high number of *S. mutans* and Lactobacilli. Scand. J. Dent. Res., 86: 221-30, 1978.

- KLOCK, B. Prediction of caries activity in children with today's low caries incidence. Commun. Dent Oral Epidemiol., 17:285-8, 1989.
- KLOCK, B. & KRASSE, B. A comparison between different methods for prediction of caries activity. Scand. J. Dent. Res., 87: 129-39, 1979.
- KLOCK, J. & KRASSE, B. Caries status and microbial conditions in children in 1973 and 1984. Scand. J. Dent. Res., 95: 13-7, 1987.
- KLOCK, J. & KRASSE, B. Microbial and salivary conditions in 9 to 12 years old children. Scand. J. Dent. Res., 85: 56-63, 1977.
- KÖHLER, B & BJARNASON, S. Mutans streptococci, lactobacilli and caries prevalence in the 11 and 12 year old Iceland children. Commun. Dent. Oral Epidemiol., 15 : 332-35, 1987.
- KÖHLER, B.; PETTERSSON, B-M; BRATTHALL, D. *S. mutans* in plaque and saliva and the development of caries. Scand. J. Dent. Res., 89 : 19-25, 1981.
- KOLSTAD, R.A. Strain typing of oral streptococci by the use of bacterial antagonism. J. Dent. Res.; supplement 55: A 154-65, 1976.
- KOZAI, K.; WANG, D.S.; SANDHAM, H.J.; PHILLIPS, H.I. Changes in strains of *mutans streptococci* induced by treatment with chlorhexidine varnish. J. Dent. Res., 70: 1252-7, 1991.
- KRAL, T.A. & DANEO-MOORE, L. Biochemical differentiation of certain oral streptococci. J. Dent. Res., 60: 1713-8, 1981.

- KRASSE, B. Risco de Cáries. 2. ed. São Paulo: Ed. Quintessence, 1988.
- KRASSE, B. Human streptococci and experimental caries in hamsters. Arch. Oral Biol., 2:429-36, 1966.
- KRASSE, B. Interpretation and use of microbiologic findings in dental caries. Oral Microbiol. Immunol., 1: 85-6, 1986.
- LANCEFIELD, R.C. A serological differentiation of human and other groups of hemolytic streptococci. J. Exp. Med., 57: 571-95, 1933.
- LI, Y.; NAVIA, J.M.; BIAN, J.Y. Caries experience in deciduous dentition of rural chinese children 3-5 years old in relation to the presence or absence of enamel hypoplasia. Caries Res., 30: 8-15, 1996.
- LINDQUIST, B. & EMILSON, C.G. Dental location of *S. mutans* and *S. sobrinus* in humans harboring both species. Caries Res., 25: 146-52, 1991.
- LO, E.C.M.; EVANS, R.W.; LIND, O.P. Dental caries status and treatment needs of the permanent dentition of 6 - 12-years-olds in Hong Kong. Commun. Dent. oral Epidemiol., 18 : 9-11, 1990.
- LOESCHE, W.J. Ecology of *S. mutans* in the human mouth and evidence for its role in carie initiation. In: Simposium on Current Topics in Dental Caries, Matsudo, Japan, 1982. Proccedings. p.180-97.

- LOESCHE, W.J. Possible effects of medically administered antibiotics on the *mutans* streptococci implications for reduction in decay. Oral Microbiol. Immunol., 4: 77-81, 1989.
- MALTZ, M. Estreptococos mutans: lactobacilos e saúde oral de crianças de 9 e 10 anos em Brasília. Anais Soc. Bras. Pesq. Odontol., 2: 72, 1986.
- MALTZ, M. & EMILSON, C.G. Susceptibility of oral bacteria to various fluoride salts. J. Dent. Res., 61: 786, 1982.
- MANDEL, I.D. The function of saliva. J. Dent. Res., 66: 623-7, 1987.
- MARFORT, R.A.; BORGARELLI, M.I.; PIOVANO, S.H.; CAZABAT, M.C.; BRIZUELA, L.E.; MANTO, M. DEL C. Identificación morfológica, bioquímica y serológica de *S. mutans* en placa dental de niños. Rev. Asoc. Odontol Argent., 73 : 40-4, 1985.
- MARTINS, A.B. & BERTOLINI, P. Incidência das espécies de *S. mutans* em crianças da região de Piracicaba, segundo o esquema de SHKLAIR & KEENE (1974). Rev. Paul. Odontol., 2 : 42-5, 1980.
- MASUDA, N.; SHIMAMOTO, T.; KITAMURA, K.; SOBUE, S.; HAMADA, S. Transmission of *Streptococcus mutans* in some selected families. Microbios, 44 : 223-32, 1985.
- MILEN, A.; HAUSEN, H. HEINONEN, O.P.; PAUNIO, I. Caries in primary dentition related to age, sex and social status, and county of residence in Finland. Comm. Dent. Oral Epidemiol., 9: 83-6, 1981.

- MIRANDA, V.C. Verificação de estreptococos em placa dental, sulco gengival e língua, de crianças com dentição mista e permanente, suas relações com o índice de cárie e fluor. Araraquara, 1977. 122p / Tese de Livre Docência - Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara, Universidade Estadual de São Paulo.
- MIRANDA, V.C.; PIZSOLITTO, A.C.; VERTUAN, V. Meio de cultura para isolamento de *S. mutans*. Rev. APCD, 36: 618-23, 1982.
- MUNDORFF, S. A.; EISENBERG, A.D.; LEVERETT, D.H.; ESPELAND, M.A. & PROSKIN, H.M. Correlations between numbers of microflora in plaque and saliva. Caries Res., 24: 312-7, 1990.
- MUNDT, J.O. The ecology of the streptococci. Microb. Ecol., 8: 355-69, 1982.
- NEWBRUN, E. Cariologia. 3.ed. São Paulo: Livr. Santos, 1989.
- NISHINO, M.; IMANISHI, H.; OKITA, Y. Serotypes and extracellular bacteriocin production among strains of *S. mutans* isolated from the human oral cavity. Japan. J. Pedod., 24: 765-76, 1986.
- NIVEN JUNIOR, C.F.; SMILEY, K.L.; SHERMAN, J.M. The production of large amounts of a polysaccharide by *S. salivarius*. J. Bacteriol., 41: 479-84, 1942.
- NUTT, G. & VAN WYK, C.W. The distribution of biotypes of *S. mutans* in some isolated communities in the Western Cape. J. Dent. Assoc. S. Africa, 33: 585-9, 1978.

NYVAD, B. & KILIAN, M. Comparison of the initial streptococcal microflora on dental enamel in caries-active and caries-inactive individuals. Caries Res., 24:267-72, 1990.

OLIVEIRA, C.M. Isolamento e caracterização de Streptococcus de placa dental. Rio de Janeiro, 1974. 291p./Tese de Doutorado- Instituto de Microbiologia, Universidade Federal do Rio de Janeiro. Departamento de Microbiologia Médica/.

OLSSON, J.; GLANTZ, P.; KRASSE, B. Electrophoretic mobility of oral streptococci. Arch. Oral Biol., 21: 605-9, 1976.

PERCH, B.; KJEMS, E.; RAVN, T. Biochemical and serological properties of *S. mutans* from various human and animal sources. Act. Pathol. Microbiol. Scand., 82: 357-70, 1974.

PINTO, V.G. Saúde bucal: odontologia social e preventiva. 3.ed. São Paulo: Ed. Santos, 1989. p.129-138.

POULSEN, S. HOLM, A.K. The relation between dental caries in the primary and permanent dentition of the same individual. J. Publ. Hlth Dent., 40 : 17-25, 1980.

PUGLIESI, N.S. & ISSAO, M. Prevalência da perda precoce de dentes decíduos em escolares de São Paulo. Rev. Fac. Odont. S. Paulo, 13: 141-8, 1975.

- QURESHI, J.V.; GOLDNER, M.; LE RICHE, W.H.; HARGREAVES, J.A. *Streptococcus mutans* serotypes in young schoolchildren. Caries Res., 11: 141-52, 1977.
- ROGERS, A.H. Bacteriocin types of *S. mutans* in human mouths. Arch. Oral Biol., 20 : 853-8, 1975.
- ROGOSA, M.; MITCHELL, J.A.; WISEMAN, R.F. A selective medium for the isolation and enumeration of oral *Lactobacilli*. J. Dent. Res., 30 : 682-89, 1951.
- RUSSEL, J.I. Prediction of caries increment in scotish adolescents. Commun. Dent. oral Epidemiol., 19 : 74-7, 1990.
- RUSSEL, R.R.B. Classification of *Streptococcus mutans* strains by SDS gel electrophoresis. Microbios Letters, 2: 55-9, 1976.
- RUSSELL, R.R. & JOHNSON, N.W. The prospects for vaccination against dental caries. British. Dent. J., 162 : 29-34, 1987.
- SAARELA, M.; ALALUUSUA, S.; TAKEI, T.; ASIKAINEN, S. Genetic diversity within isolates of *mutans streptococci* recognized by an rRNA gene probe. J. Clin. Microbiol., 31 : 584-7, 1993.
- SANTOS, M.N. & CURY, J.A. Dental plaque fluoride is lower after discontinuation of water fluoridation. Caries Res., 22: 316-7, 1988.

- SCHOU, L.; UITENBROEK, D. Social and behavioural indicators of caries experience en 5-year-old children. Comm. Dent. Oral Epidemiol., 23: 276-81, 1995.
- SEITER, J.A. & JAY, J.M. Application of polyacrylamide gel electrophoresis to the characterization and identification of *Arthrobacter* species. Int. J. Syst. Bacteriol., 30: 460-5, 1980.
- SHKLAIR, I.L. & KEENE, H.J. Biochemical characterization and distribution of *S. mutans* in three diverse populations. In: STILES, H.M.; LOESCHE, W.J. & O'BRIEN, T.C. Microbial aspects of dental caries. Suppl. Microbiolgy Abstracts. Washington, Information Retrieval Inc., vol.1, p. 201-10, 1976.
- SHKLAIR, I.L. & KEENE, H.J. A biochemical scheme for the separation of the five varieties of *S. mutans*. Arch. Oral Biol., 19: 1079-81, 1974.
- SHKLAIR, I.L.; KEENE, H.J.; SIMONSON, L.G. Distribution and frequency of *S. mutans* en caries-active individuals. J. Dent. Res., 51:882, 1972.
- SORENSEN, E. Ergebn. Physiol., 12: 393, 1912. Apud: SOBER, H.A., ED. - Handbook of biochemistry: selected data for molecular biology. Cleveland, The Chemical Rubber, 1968. p. 195-8.
- SPOLIDORIO, D.M.P.; VERLENGIA, R; HÖFLING, J.F. Resolution of whole proteins of some oral *Streptococci* by polyacrylamide gel electrophoresis on slab and disc. Rev. Odontol. UNESP, 24 : 299-308, 1995.

- STAMM, J.W.; DISNEY, J.A.; GRAVES, R.C.; BOHANNAN, H.M. The University of North Carolina caries risk assessment. Study I: rationale and content. J. Publ. Hlth. Dent., 48 : 225-32, 1988.
- STECKESÉN-BLICKS, C. Salivary counts of lactobacilli and *Streptococcus mutans* in caries prediction. Scand J. Dent Res., 93 : 204-12, 1985.
- TANZER, J.M. & CLIVE, J. Quantitative considerations in microbiological evaluations for caries: risk for type II errors resulting from use of MSB agar. Oral Microbiol. Immunol., 1: 28-30, 1986.
- TENOVOO, J.; JENTSCH, H.; SOUKKA, T. & KARHUVAARA, L. Antimicrobial factors of saliva in relation to dental caries and salivary levels of mutans streptococci. J. Biol. Buccale, 20: 85-90, 1992.
- THIBODEAU, E.A. & O'SULLIVAN, D.M. Salivary *mutans streptococci* and dental caries patterns in pre-school children. Comm. Dent. Oral Epidemiol., 24: 164-8, 1996.
- THIBODEAU, E.A.; O'SULLIVAN, D.M.; TINANOFF, N. *Mutans streptococci* and caries prevalence in pre-school children. Comm. Dent. Oral Epidemiol., 21: 288-91, 1993.
- THOMSON, L.A.; LITTLE, W.A.; BOWDEN, W.H.; SIERRA, L.I.; AGUIRRER, M.; GILLESPIE, G. Prevalence of *S. mutans* serotypes, *actinomyces* and other bacteria in the plaque of children. J. Dent. Res., 59 : 1581-9, 1980.

- THYLSTRUP, A. & FEJERSKOV, O. Cariologia Clínica, 2. ed. São Paulo, Livraria Ed. Santos, 1995.
- TOGELIUS, J. & BRATTHALL, D. Frequency of bacterium *Streptococcus mutans* in the saliva of selected human population. Archs Oral Biol., 27 : 113-16, 1982.
- TOLEDO, O. A. Prevalência de cárie dentária em molares decíduos de pré escolares da cidade de Araraquara. Estudo radiográfico. Rev. Assoc. Paul. Cir. Dent., 34 : 296-301, 1980.
- TORRES, S. A. Avaliação do agar SB-20 e MSB na contagem de estreptococos do grupo mutans na saliva e na placa dental de adolescentes. Araraquara, 1991. 124p. / Tese de Doutorado - Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho - UNESP.
- TORRES, S.A.; PIZZOLITTO, A.C.; ELLIAS, A.M.; ITO, I.Y. Estreptococos do grupo *mutans*: avaliação do ágar SB 20 e MSB na determinação de UFC na saliva e na placa dental de adolescentes. Rev. Bras. Odontol., 50 :18-21, 1993.
- TREASURE, E.T. & DEVER, J.G. Relationship of caries with socioeconomic statuts in 14-year-old children from four communities with different fluoride histories. Commun. Dent Oral Epidem., 22: 226-30, 1994.

- TUKIA-KULMALA, H. & TENOVUO, J. Intra and inter individual variations in salivary flow rate, buffer effect, lactobacilli and mutans streptococci among 11 and 12 year-old-schoolchildren. Acta Odontol. Scand. 51: 2-5, 1993.
- TWETMAN, S.; MATTLASSON, A.; VARELA, R.J.; BRATTHALL, D. *Mutans streptococci* in saliva and dental caries in children living in a high and a low fluoride area. Oral Microbiol. Immunol., 5: 169-71, 1990.
- VAN HOUTE, J. Lactobacilli in human dental plaque and saliva. J. Dent. Res., 60: 2-5, 1981.
- VAN DER HOEVEN, J.S.; ROGERS, A.H.; MIKX, F.H.M. Inhibition of *A. viscosus* by bacteriocin-producing gnotobiotic rats. J. Dent. Res.: Suppl. 56A:132, 1977.
- VAN HOUTE, J. Role of micro-organisms in caries etiology. J. Dent. Res., 73: 672-81, 1994.
- VAN PALENSTEIN-HELDERMAN, W.H.; IJSSELDIJK, M.; HUIS in't VELD, J.H.J. A selective medium for the two major subgroups of the bacterium *Streptococcus mutans* isolated from human dental plaque and saliva. Arch. Oral Biol., 28 : 599-603, 1983.
- VERNAZZA, T.R. & MELVILLE, T.H. Bacteriocin-like activity in strains of *S. mitis*. Int. Assoc. Dent. Res. Brit. Div., Preprinted abstract, 76, 1977.

- VIEIRA, S. Introdução à bioestatística, 2ed., Rio de Janeiro, Ed. Campus Ltda, 1983, 294p.
- WALTER, R.G. & SHKLAIR, I.L. *S. mutans* in caries-free and caries active naval recruits. J. Dent. Res., 16: 1229-32, 1982.
- WEYNE, S. Curso para atualização e educação continuada em Odontologia Preventiva (Cariologia): 2ª aula. Rev. Bras. Odont., 43 : 59-68, 1986.
- WHILEY, R.A.; RUSSEL, R.R.B.; HARDIE, J.M.; BEIGHTON, D. *Streptococcus downei* sp. nov. for strains previously described as *S. mutans* serotype h. Int. J. Syst. Bacteriol., 38: 25-9, 1988.
- WHITTENBURY, R. Hydrogen peroxide formation and catalase activity in the lactic acid bacteria. J. Gen. Microbiol., 35: 13-26, 1964.
- WILSON, R.F. & ASHLEY, F.P. Identification of carie risk in schoolchildren: salivary buffering capacity and bacterial counts, sugar intake and caries experience as predictors of 2-year and 3-year caries increment. Br. Dent. J., 167 : 99-102, 1989.
- WINTER, G.B. Epidemiology of dental caries. Archs Oral Biol., 35: 15-75, 1990.
- ZICKERT, I.; EMILSON, C.G.; KRASSE, B. Prediction of caries incidence based on salivary *S. mutans* and *Lactobacillus* counts. J. Dent. Res., 64: 346, 1985.

ZICKERT, I; EMILSON, C.G.; KRASSE, B. *Streptococcus mutans* ,
Lactobacilli and dental health in 13-14-year-old Swedish children.
Commun. Dent. Oral Epidemiol., 10 : 77-81, 1982.

ZINNER, D.O. & JABLON, J.M. Human streptococcal strains in
experimental caries. In: HARRIS, R.S., ed. The art and science of
dental caries research, London, Academic Press, 1968.

169

APÉNDICE

9. APÊNDICE

1. Escolas

As escolas autorizadas pela Delegacia Regional de Ensino de Piracicaba para estudo e coleta de saliva das crianças foram as seguintes:

- E.E.P.S.G. "Prof. Honorato Faustino"
- E.E.P.S.G. "Prof. Elias de Mello Ayres"
- E.E.P.G. "Profa. Francisca Elisa"
- E.E.P.G. "Prof. Francisco Mariano da Costa"
- E.E.P.G. "Prof. Carlos Sodero"
- Colégio Alphaville
- Liceu Colégio "Albert Einstein"

2. Composição do Meio de Cultura

2.1. SB 20 - (sacarose - bacitracina)

Bacto-casitona (Difco).....	1,5g
Extrato de levedura (Difco).....	0,5g
L-cisteína (Merck).....	0,02g
Sulfito de sódio (Merck).....	0,01g
Acetato de sódio triidratado (Merck).....	2,0g
Sacarose (ou açúcar cristalizado - União)....	20,0g
Agar (Difco).....	1,5g
Água destilada	100,0ml
Bacitracina (Inlab) (suspensão de 20µl/ml)	0,5ml

2.2. Hidrólise da Arginina

Extrato de Levedura (Difco)	0,50g
Triptona (Difco).....	0,50g
Fosfato dipotássico (Merck).....	0,20g
Glicose (Difco).....	0,05g
D-Arginina-HCl (Merck).....	0,30g
Água destilada.....	100,00ml

pH 7,2 - 7,4

2.3. Produção de H₂O₂

Extrato de carne (Difco).....	0,5g
Extrato de levedura (Difco).....	0,5g
Tween 80 (Difco).....	0,05ml
Sulfato de manganês (Merck).....	0,01g
Agar (Difco).....	1,5g
Água destilada.....	q.s.p. 90,0ml

Os componentes foram dissolvidos em água destilada e autoclavado a 120°C, durante 20 minutos, sendo a aparelho aberto cuidadosamente, logo em seguida, para evitar a caramelização da sacarose. Após o resfriamento a aproximadamente 50°C, foram adicionados 0,5ml de suspensão de bacitracina esterilizada por filtração e o meio foi então, distribuído, assepticamente, em placas de Petri esterilizadas.

3. Reativo de Nessler

Solução A - Iodeto de Potássio (Merck).....	5,0g
Água destilada.....	5,0ml
Solução B - Biclreto de Mercúrio (Merck).....	2,5g
Água destilada.....	10,0ml
Solução C - Hidróxido de Potássio (Merck).....	15,0g
Água destilada.....	30,0ml

O reativo de Nessler, empregado segundo recomendações de ASSUMPÇÃO & MORITA (1968), foi preparado segundo AZEVEDO (1988) da seguinte forma: dissolveu-se 5,0g de iodeto de potássio em 5,0 ml de água (sol. A) e, em seguida adicionou-se pouco a pouco a solução de bicloreto de mercúrio (sol. B) dissolvida em banho-maria e adicionada enquanto quente, a fim de evitar a precipitação ou dissolução não homogênea, controlando-se a adição para que o precipitado formado no início não ficasse completamente dissolvido e, a seguir, deixou-se esfriar. Em seguida, adicionou-se a solução de hidróxido de potássio (sol. C) e água destilada até completar o volume total de 100 ml. Logo após, adicionou-se 0,5 ml da solução restante de bicloreto de mercúrio. Este reagente foi preparado em balão volumétrico, com o objetivo de facilitar a homogeneização e complementação do volume final. Deixou-se decantar e o sobrenadante foi acondicionado em frasco âmbar, fechado com rosca esmerilhada e conservado em ambiente fresco.

4. Critério de Qualificação - Questionário

4.1. Definição das classes sociais

CRITÉRIOS DE QUALIFICAÇÃO

ITEM DE CONFORTO	NÃO TEM	SISTEMA DE PONTOS					
		TEM					
		1	2	3	4	5	6 e mais
Televisor	0	2	4	6	8	10	12
Rádio	0	1	2	3	4	5	6
Banheiro	0	2	4	6	8	10	12
Automóvel	0	4	8	12	16	16	16
Empregada	0	6	12	18	24	24	24
Aspirador de pó	0	5	5	5	5	5	5
Máquina de lavar roupa	0	2	2	2	2	2	2

GRAU DE INSTRUÇÃO DO CHEFE DE FAMÍLIA	Nº DE PONTOS
até primário incompleto	0
até ginásial incompleto	1
até colegial incompleto	3
até superior incompleto	5
com superior completo	10

DEFINIÇÃO DAS CLASSES	
CLASSES	PONTOS
A	35 ou mais
B	21 a 34
C	10 a 20
D	5 a 9
E	até 4