

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MONTES CLAROS

Renata Francine Rodrigues de Oliveira

Colonização de diferentes sítios bucais por *Streptococcus mutans* e *Lactobacillus* sp. e associações com variáveis determinantes em crianças de 1 a 5 anos de idade.

Montes Claros

2010

Renata Francine Rodrigues de Oliveira

Colonização de diferentes sítios bucais por *Streptococcus mutans* e *Lactobacillus* sp. e associações com variáveis determinantes em crianças de 1 a 5 anos de idade.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós graduação em Ciências da Saúde da Universidade Estadual de Montes Claros, Unimontes, como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em Ciências da Saúde.

Orientador : Paulo Rogério Ferreti Bonan

Coorientador: Sergio Avelino Mota Nobre

Montes Claros

2010

Oliveira, Renata Francine Rodrigues de.

O48c Colonização de diferentes sítios bucais por *Streptococcus mutans* e *Lactobacillus sp.* e associações com variáveis determinantes em crianças de 1 a 5 anos de idade [manuscrito] / Renata Francine Rodrigues de Oliveira. – 2010.

43 f.

Bibliografia : f. 40-43.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual de Montes Claros – Unimontes, Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde/PPGCS, 2010.

Orientador: Prof. Dr. Paulo Rogério Ferreti Bonan.

Co-orientador: Prof. Dr. Sérgio Avelino Mota Nobre.

1. *Streptococcus mutans*. 2. *Lactobacillus sp.* 3. Epidemiologia. I. Bonan, Paulo Rogério Ferreti. II. Nobre, Sérgio Avelino Mota. III. Universidade Estadual de Montes Claros. IV. Título.



ALUNA: RENATA FRANCINE RODRIGUES DE OLIVEIRA

TÍTULO DO PROJETO: "COLONIZAÇÃO DE DIFERENTES SÍTIOS BUAIS POR *STREPTOCOCCUS MUTANS* E *LACTOBACILLUS* SP. E ASSOCIAÇÕES COM VARIÁVEIS DETERMINANTES EM CRIANÇAS DE 1 A 5 ANOS DE IDADE".

ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: SAÚDE BUCAL

LINHA DE PESQUISA: PROMOÇÃO E EPIDEMIOLOGIA EM SAÚDE BUCAL

BANCA (TITULARES)

PROF. DR. PAULO ROGÉRIO FERRETI BONAN - ORIENTADOR/PRESIDENTE

PROF. DR. JÚLIA MARIA MOREIRA SANTOS (UFMG)

PROF. DR. ANA CRISTINA DE CARVALHO BOTELHO (UNIMONTES)

ASSINATURAS

BANCA (SUPLENTES)

PROF. DR. ALFREDO MAURÍCIO BATISTA DE PAULA (UNIMONTES)

PROF. DR. SÉRGIO AVELINO MOTA NOBRE (UNIMONTES)

ASSINATURAS

APROVADA

REPROVADA

Hospital Universitário Clemente Farias – HUCF

<http://www.unimontes.br / ppgcs@unimontes.br>

Telefone: (0xx38) 3224-8372 / Fax: (0xx38) 3224-8372

Av. Cula Mangabeira, 562, Santo Expedito, Montes Claros – MG, Brasil – Cep: 39401-001

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MONTES CLAROS

Reitor: Paulo César Gonçalves de Almeida

Vice-reitor: Professor João dos Reis Canela

Pró-reitora de Pesquisa e Pós-graduação: Sílvia Nietzsche

Coordenador de Pós-graduação: Hercílio Martelli Júnior

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE

Coordenador: Paulo Rogério Ferreti Bonan

Subcoordenador: João Felício Rodrigues Neto

Dedico este trabalho a meus filhos Thais
Gabriela, minha fonte de energia e força e Vitor
Renan que mesmo antes de nascer me ensina a
acreditar que tudo é possível...

AGRADECIMENTOS

À todos que caminharam comigo nesta jornada eu agradeço

À Deus que guia meus passos e me conforta nas adversidades,

A meus pais, irmã, esposo e filha que me apoiaram e foram compreensivos quando estive ausente.

Ao Professor Sérgio Avelino por me ensinar um novo mundo antes desconhecido e por toda gentileza, presteza e paz.

Ao Prof Paulo Bonan por toda ajuda e compreensão.

Ao Prof Emile pelas sugestões oportunas.

À Michele que me ajudou nas atividades microbiológicas sendo mais que companheira de trabalho, uma amiga fiel.

À Edmilsson pelo apoio e ajuda.

À Ronise pela dedicação e zelo no dia a dia das práticas laboratoriais.

A todos os alunos da iniciação científica em biologia e odontologia pela ajuda e parceria.

Ao Prof Alfredo pela participação na qualificação e sugestões feitas.

Às Prof (as) Ana Cristina e Júlia pelas valiosas correções da defesa

Às famílias e crianças avaliadas por me permitirem entrar em suas moradas para fazer ciência.

Aos prof(es) e amigos das disciplinas de Estágio em Saúde da Família e Estágio Supervisionado pela força e ajuda.

RESUMO

Colonização de diferentes sítios bucais por *Streptococcus mutans* e *Lactobacillus* sp. e associações com variáveis determinantes em crianças de 1 a 5 anos de idade.

A incidência de cárie precoce na infância é um problema de saúde pública podendo ter repercussões sobre a dentição permanente. Os fatores relacionados à cárie são: componente microbiológico cariogênico, tempo de contato do componente microbiológico com o dente, frequência de contato, diminuição da secreção salivar e do pH, hábitos alimentares e de higiene e fatores intrínsecos ao hospedeiro. Na infância, ocorrem as aquisições de *Streptococcus mutans* e *Lactobacillus* sp., que combinadas a uma dieta cariogênica e falta ou precariedade de higiene bucal, resultam no aparecimento da doença cárie. Estudos microbiológicos tentam relacionar o incremento da colonização microbiana com o fenômeno cariogênico, porém as análises de coleta são despadronizadas e os resultados não são consensuais. Esse estudo objetivou verificar os níveis de colonização bucal de *Streptococcus mutans* e *Lactobacillus* sp. em sítios bucais distintos e condições associadas predisponentes em crianças de 1 a 5 anos de idade. Tratou-se de um estudo observacional, experimental, descritivo e transversal realizado em crianças e suas mães ou responsáveis cadastradas na Estratégia Saúde da Família Lourdes I de Montes Claros MG. Foram incluídas as crianças que não faziam uso de antimicrobianos e que suas mães ou responsáveis aceitassem fazer parte do estudo assinando o termo de consentimento. Os pacientes foram avaliados através de exames clínicos e submetidos à coleta de saliva (mucosa jugal e assoalho bucal) e de biofilme dental e seus responsáveis responderam a um questionário estruturado sobre hábitos de higiene, dieta e

dimensões socioeconômicas. As amostras salivares foram semeadas em meios de cultura seletivos quantificando e identificando presuntivamente para *Streptococcus mutans* e *Lactobacillus* sp. Participaram do estudo 84 pacientes sendo o estrato etário de 25 a 30 meses (21,4%) o mais comum. O índice de dentes cariados, perdidos e obturados (CPOD) encontrado foi considerado baixo (0,98) e associado ao gênero masculino e não associado a contagens microbianas no biofilme. Desses crianças, 75,9% recebem algum cuidado de higiene oral. Mais de 70% dos responsáveis informaram ter recebido alguma orientação de como cuidar da saúde bucal dos filhos. As contagens bacterianas de *Streptococcus mutans* e *Lactobacillus* sp. foram estatisticamente distintas em todos os sítios avaliados sendo mais elevada na mucosa jugal ($p<0,05$). Houve homogeneidade de presença ou ausência para *Streptococcus mutans* para todos os sítios e heterogeneidade para *Lactobacillus* sp. Houve associação de algumas contagens relacionadas ao maior risco para cárie com gênero, condições sócioeconômicas, escolaridade materna e ingestão de leite acima de 12 meses, não sendo um achado universal para todos os sítios bucais. Observou-se que a mucosa jugal é o nicho de maior contagem para ambos microorganismos; perceberam-se diferenças entre homogeneidade e heterogeneidade de presença para ambos e a associação de variáveis como gênero, idade, sócioeconômicas, culturais e tipo de alimentação com maior risco para cárie em alguns nichos. Recomenda-se com esse estudo a realização de coletas padronizadas em nichos específicos na cavidade bucal para a mensuração da contagem desses microorganismos.

Palavras-chave: *Streptococcus mutans*. *Lactobacillus* sp.. Epidemiologia.

ABSTRACT

The incidence of early childhood caries is a public health problem which may have an impact on the permanent dentition. Factors associated with caries are cariogenic microbial component, contact time of the microbiological component to the tooth, frequency of contact, decreased salivary secretion and pH, diet and oral care and intrinsic factors of the host. In childhood, there are the acquisitions of *Streptococcus mutans* and *Lactobacillus* sp. that combined with a cariogenic diet and lack/scarcity of oral hygiene, resulting in the appearance of caries. Microbiological studies attempt to relate the increase in the microbial colonization of the cariogenic phenomenon, but the analysis methods are nonstandardized and the results are not consensual. This study aimed to determine the levels of oral colonization of *Streptococcus mutans* and *Lactobacillus* sp. in different oral sites and associated predisposing conditions for children of 1 to 5 years of age. This was an observational, experimental, descriptive and transversal study performed in children and their mothers or guardians registered at the Family Health Strategy I Lourdes Montes Claros MG. Included were children who did not use antimicrobials and their mothers or guardians agree to be parto f the study and signed na informed consent. Patients were evaluated by clinical examination and submitted to the collection of saliva (buccal mucosa and floor of the mouth) and biofilm and their parents answered a structured questionnaire about hygiene, diet and socioeconomic dimensions. The saliva samples were plated on selective media for quantification and presumptive identification for *Streptococcus mutans* and *Lactobacillus* sp. The study included 84 patients and the age-stratum of 25 to 30 months (21.4%) was the most common. The DMFT found was considered low (0.98) and associated with males and not associated with

microbial counts in the biofilm. Of these children, 75.9% receive some oral care hygiene. More than 70% of parents reported having received some guidance about caring for the oral health of children. The bacterial counts of *Streptococcus mutans* and *Lactobacillus* sp. were statistically different at all sites evaluated and was higher in the oral mucosa ($p < 0.05$). There was homogeneity of presence or absence for *Streptococcus mutans* to all sites and heterogeneity of *Lactobacillus* sp. There was relation of some counts associated with increased risk for caries with gender, socioeconomic status, maternal education, and intake of milk over 12 months, but not a universal finding for all habitats. We observed that the mucosa is the niche with highest score for both microorganisms; perceived differences between homogeneity and heterogeneity of presence for both and the association of variables such as gender, age, socio-economic, cultural, and type of feeding with higher risk for caries in some niches. It is recommended to this study the performance of standard collections in specific niches in the oral cavity to measure the count of these microorganisms.

Key words: *Streptococcus mutans*. *Lactobacillus* sp.. Epidemiology.

SUMÁRIO

| | | |
|-----|------------------------------------|----|
| 1 | INTRODUÇÃO | 13 |
| 1.1 | Experiência Infantil de Cárie..... | 13 |
| 1.2 | Cárie e Microorganismos..... | 15 |
| 1.3 | Cárie e Hábitos Alimentares..... | 18 |
| 1.4 | Cárie e Outros Fatores..... | 21 |
| 2 | OBJETIVOS..... | 23 |
| 2.1 | Objetivo Geral..... | 23 |
| 2.2 | Objetivos Específicos..... | 23 |
| 3 | PRODUTO ALCANÇADO | 24 |
| 4 | CONSIDERAÇÕES FINAIS..... | 42 |
| | REFERÊNCIAS..... | 43 |
| | APÊNDICES..... | 47 |

1 INTRODUÇÃO

1.1 Experiência infantil de cárie

A cárie é uma doença infecto contagiosa de origem bacteriana e transmissível em seres humanos. A multifatorialidade de seus determinantes afeta diretamente as estratégias de contenção e controle individual e coletivo (1).

É uma das doenças mais prevalentes na população infantil, principalmente nas populações mais pobres e em países em desenvolvimento, como o Brasil e apresenta a denominação de cárie precoce da infância ou cárie do lactente ou pré escolar em substituição a termos antigos como: cárie de mamadeira, de amamentação ou rampante e se constitui das formas mais preocupantes da doença cárie pelas seqüelas deixadas, como a rápida destruição dos elementos dentais, a dor e as alterações deixadas na oclusão e fala (2).

Um estudo realizado em 1997 (3), afirma que o período crítico de desenvolvimento das lesões cariosas em crianças corresponde ao início de sua erupção decídua até a oclusão funcional. Estudos realizados em crianças de 6 a 36 meses de idade no Brasil e em países desenvolvidos como a Suécia sugerem que a idade inicial na qual se observam lesões irreversíveis de cárie dental (lesões cavitadas) está entre 12 e 18 meses. Sendo que a janela de infectividade pode ocorrer mais precocemente em populações onde a prevalência de cárie é maior.

Suas características clínicas se baseiam em ter evolução rápida, atingir superfícies consideradas de baixo risco e ter um padrão de envolvimento dental definido afetando os dentes decíduos na seqüência em que irrompem na cavidade bucal (4).

Um dos mais amplos estudos epidemiológicos realizados no Brasil, o Saúde Bucal no Brasil (SB Brasil), realizado em 2003, avaliou, dentre outros fatores a experiência de cárie dentária das crianças na faixa etária de 18 a 36 meses e 5 anos de idade. Os resultados se mostraram preocupantes uma vez que quase 27% das crianças de 18 a 36 meses apresentaram pelo menos um dente decíduo com experiência de cárie dentária, sendo que esta proporção chegou a quase 60% das crianças de 5 anos de idade (5).

O índice CPOD vem sendo largamente utilizado em levantamentos epidemiológicos de saúde bucal. É um índice recomendado pela Organização Mundial da Saúde (OMS) para medir e comparar a experiência de cárie dentária em populações, seu valor expressa a média de dentes cariados, perdidos e obturados em um grupo de indivíduos.(6)

Os valores encontrados são altos observando-se que em média, uma criança brasileira de três anos ou menos já possui pelo menos um dente com experiência de cárie dentária. Aos cinco anos esta média aumenta para quase três dentes acometidos. Deve ser ressaltado que na maioria dos casos o componente cariado é responsável por mais de 80% do índice na idade de cinco anos e mais de 90% nas crianças de 18 a 36 meses. Quando se correlacionam as metas preconizadas pela Organização Mundial de Saúde (OMS) em saúde bucal para o ano 2000, com os resultados do SB Brasil, verificou-se que apenas na faixa etária de 12 anos os resultados foram satisfatórios, indicando um CPOD 2,78 para uma meta preconizada de CPOD menor que 3. Para as idade de 5 e 6 anos a meta preconizada era de 50% livres de cárie ou seja, o índice de Dentes Decíduos Cariados, Perdidos e Obturados igual a 0 (CPOD=0) e o resultado alcançado no Brasil em 2003 foi de 40,62%. Este resultado traz consigo a necessidade de se atuar coletivamente com estratégias de alcance populacional em atenção à saúde bucal e, mais emergencialmente no direito ao acesso à recuperação destas seqüelas trazidas por esta doença (5).

Em 1969 uma tríade foi proposta para explicar que a doença cárie seria a interação de fatores que determinariam sua etiologia: substrato oral, certos tipos de bactérias e a susceptibilidade do hospedeiro. Posteriormente outros fatores foram adicionados ao modelo como flúor,

higiene, dieta, variáveis socioeconômicas e psicossociais aumentando assim a complexidade das variáveis causais. (7)

Portanto a doença cária está relacionada à aquisição de *Streptococos mutans*, dieta cariogênica, amamentação noturna, ausência de higiene bucal adequada e fatores comportamentais inerentes à estrutura familiar (8,9). Outros fatores de risco foram acrescentados como: nível educacional materno, estresse, auto-estima, nível sócioeconômico, círculo social, indulgência dos pais e saúde frágil da criança (3,8,9).

1.2 Cária e Microorganismos

A microbiota da cavidade bucal humana é muito diversificada, abrangendo cerca de 700 espécies bacterianas, das quais 50%, ainda não foram cultivadas *in vitro* (10).

Cerca de 65% das infecções humanas de etiologia bacteriana envolvem a formação de biofilme em locais como trato urogenital, respiratório e cavidade bucal. A placa dentária é um exemplo de biofilme estruturalmente e funcionalmente organizado. Os biofilmes da cavidade bucal apresentam uma diversidade microbiana mista e se desenvolvem ao longo do tempo em sequência. Em primeiro lugar se inserem os estreptococos depois actinomicetos, colonizando a superfície dos dentes, através moléculas de adesão e Pilli. Na cária dentária, há uma mudança na colonização microbiana que demonstra a dominância de comunidade de espécies acidogênicas e ácido tolerantes como *Streptococos mutans* e *lactobacilos*, embora outras espécies com características relevantes podem estar envolvidos (11,12).

O desenvolvimento da cária dentária pode ser considerado um processo dinâmico contínuo envolvendo períodos repetidos de desmineralização por ácidos orgânicos fracos produtos da fermentação microbiana e subsequente remineralização pela saliva. Vários microorganismos

podem produzir ácido suficiente para descalcificar a estrutura dentária, particularmente estreptococos acidúricos, lactobacilos, difteróides, leveduras e certas espécies de sarcinas (13,14,15).

Para produzir cárie dentária, é necessário que a bactéria tenha algumas condições favoráveis: ser capaz de colonizar a superfície do dente, produzir ácidos em velocidade maior do que a capacidade de neutralização da placa e ser capaz de realizar os dois primeiros itens em pH abaixo do crítico ($\text{pH} < 5$) para a dissolução do esmalte. (16).

Já foi demonstrada a associação positiva entre do grupo *Streptococcus mutans* com a frequência e severidade da cárie dental. Eles são responsáveis principalmente pela fase inicial da lesão e os *Lactobacillus* sp., por não possuírem capacidade de aderência à superfície dentária, estão associados à progressão da lesão cariosa. Os valores encontrados da presença dessas bactérias em crianças brasileiras são muito superiores aos valores apresentados em estudos feitos em países economicamente desenvolvidos. (17)

As formas estreptocócicas, dentre elas *Streptococcus mutans*, são bactérias gram positivas, anaeróbias facultativas que sintetizam glucanos insolúveis via proteína glucan. Bactérias como membros do gênero *Fusobacterium* formam agregados com os colonizadores primários. A presença de uma dieta rica em sacarose e outros carboidratos se traduz num substrato para a produção de ácidos, que são formados via fermentação, e levam à desmineralização do esmalte do dente e, ao longo do tempo, a cárie. Se o biofilme permanecer em repouso sobre os dentes durante vários dias, a microbiota continuará a mudar surgindo os patógenos relacionados também à doença periodontal como: *Porphyromonas gingivalis*, *Forsythus bacterioides*, *Actinobacillus actinomycetemcomitans* e *Treponema denticola* (11).

O *Streptococcus mutans* representa 60% da microbiota da placa dental sendo frequentemente isolado nas lesões cariosas. Apresenta uma morfologia ovalada medindo 0,5 a 0,75 μm de diâmetro. Em meios de cultura acrescido de sacarose produz colônias de até 1 mm de diâmetro com bordas irregulares e fortemente aderidas ao meio. O seu potencial cariogênico

é fortemente influenciado por fatores dietéticos, em especial o consumo de sacarose, os quais afetam sua implantação, colonização e atividades metabólicas (13,14,15,17).

Taxonomicamente *Streptococcus mutans* pertence ao grupo Viridans, o qual inclui várias espécies de estreptococos α hemolíticos e não hemolíticos; que na sua maioria são parte integrante da microbiota do trato respiratório superior, genital e da orofaringe (16). O grupo de Streptococos viridans se subdivide nos grupos: salivarius (*Streptococcus. salivarius* e *Streptococcus. vestibularis*), mitis (*Streptococcus. mitis* e *Streptococcus. oralis*) e sanguis (*Streptococcus. sanguis*, *Streptococcus. gordoni*, *Streptococcus. parasanguis* e *Streptococcus. crista*) além do grupo mutans cujas espécies de colonização humana são *Streptococcus mutans* e *Streptococcus sobrinus* (18).

A infecção da bactéria causadora da cárie na criança dependerá do nível de infecção da mãe. Diversas pesquisas confirmam que este microorganismo é transmitido da boca da mãe para a do lactante, ocorrendo uma relação de número e similaridade destas bactérias isoladas de mães e filhos, confirmando ser a mãe a maior fonte de infecção para os filhos. Existe também um período bem definido, entre 19 e 28 meses de idade, para a colonização da cavidade bucal do bebê por estes microorganismos. Os níveis salivares deste microorganismo na mãe e na criança estão intimamente ligados quando se compara a quantidade de *S. mutans* da mãe em relação à do filho. Verifica-se que quanto maior for o nível materno, mais rápido se dará a contaminação de seu filho. Isto pode ocorrer principalmente por gotículas salivares (beijo) ou pelo uso em comum de talheres e copos (19, 20, 21, 22).

Mesmo sendo impossível a não contaminação pelo *Streptococcus* do grupo *mutans*, é perfeitamente viável não se contrair a cárie dental, o que pode ser obtido através de um contínuo processo de educação em saúde, onde a interação pediatra/odontopediatra se mostra de vital importância (23). Avaliando-se a conduta de pediatras em se tratando das orientações repassadas aos pais, verificou que 78,9% dos profissionais questionados recomendavam adoçar a mamadeira, ressaltando assim que é necessária uma melhor colaboração entre pediatras e odontopediatras para que estes possam fornecer um serviço melhor aos seus pacientes e com isto auxiliar a multiplicação dos hábitos corretos da alimentação infantil como forma de viabilizar a saúde bucal (23).

O gênero *Lactobacillus* tem sido submetido a várias mudanças taxonômicas e inclui atualmente mais de 80 espécies alguns dos quais tendo sido encontrados na cavidade oral.(24)

A presença de *Lactobacillus* sp. na cavidade bucal e sua associação com o índice de dentes cariados perdidos e obturados, (CPOD) é esperada devido a essas bactérias serem implicadas como importante contribuintes para a cárie dentária, mas seu papel na indução de lesões não é bem suportado. Estas bactérias representam aproximadamente 0,1% da microbiota total salivar, e uma concentração crítica de 10^5 UFC / ml de saliva é necessária para a detecção de lactobacilos na superfície do esmalte (24). Os *Lactobacillus* são conhecidos por produzirem ácidos a partir de sacarose ou glicose. Esta produção de ácido pode causar uma queda no pH, que é suficientemente significativo para processo de desmineralização (24). Outras análises mostraram que o número de *Lactobacillus* foi estatisticamente menor na saliva de indivíduos com boa saúde bucal, e 100 vezes maior em crianças com cárie quando comparadas às crianças sem cáries (25,26).

Outro fator que deve ser ponderado na verificação da contagem de microorganismos cariogênicos e o processo de cárie é a variação da colonização de diferentes sítios bucais. É útil considerar os fatores que podem teoricamente influenciar esse processo. Estes fatores incluem: (i) a afinidade de células bacterianas por superfícies orais, (ii) o número de células disponíveis para adesão, (iii) a taxa de crescimento bacteriano, (iv) a freqüência de transferência de células viáveis, (v) o tempo disponível para as células transferidas para tornar-se aderida, (vi) a sobrevivência bacteriana durante a transferência, (vii) o crescimento de bactérias, e (viii) a composição da dieta do hospedeiro. Estes fatores regulam propagação intra-oral, bem como transferência entre indivíduos. (26).

1.3 Cárie e Hábitos Alimentares

A dieta desempenha um papel preponderante no desenvolvimento da cárie dental e já é amplamente aceito que o efeito local, resultante da interação entre resíduos alimentares e placa bacteriana, interfere no processo de des-re-mineralização dental. Entende-se por dieta, o efeito local dos alimentos que consiste no que estes podem causar nos tecidos, pela sua própria presença ou interação com o meio bucal (27,28).

A criança adquire de seus pais seus hábitos alimentares, eles têm origem na cultura e na tradição de um povo. Mas é fato notório também que através dos meios de comunicação, (TV, revistas) as crianças recebem sugestões sobre alimentos, em formas de propagandas, às vezes até antes que os pais e a escola possam dar uma informação mais precisa. O apelo comercial com alimentos coloridos, bonitos e açucarados, desonestamente tidos como fonte de energia, são oferecidos e os pais e as crianças são induzidas a consumir estes alimentos, uma vez que o arranjo das prateleiras reforça a imagem comercial recebida. (29).

A dieta alimentar rica em leite é indispensável na primeira infância. Em geral, há três escolhas aceitáveis: leite humano, leite de vaca comercialmente preparado e leite de vaca modificado ou mais comumente denominado fórmulas. Quer seja na apresentação de leite materno ou artificial o aleitamento é fundamental no desenvolvimento inicial da criança, fornecendo-lhe uma completa fonte de nutrientes para suas necessidades metabólicas tais como, cálcio, fósforo, ferro, flúor, iodo, enzimas, vitaminas, gorduras, proteínas (caseína, albumina), e carboidratos, principalmente a lactose, que é um dissacarídeo formado por uma unidade de glicose e uma de galactose. Ela é encontrada somente no leite e seus derivados, e possui cerca de 1/3 da docura da sacarose (30, 31,34,35).

Os períodos de aleitamento natural ou artificial não podem ser os únicos causadores do desenvolvimento da cárie dental. Devemos considerar a criança como resultado da interação de fatores psicológicos, biológicos, sociais e culturais, e não somente como um indivíduo que manifestaria alguma lesão dependendo unicamente dos períodos de aleitamento. (35)

Correlações significativas entre experiência de cárie e consumo de açúcar têm sido observadas na maioria dos estudos sobre crianças de 0 a 5 anos, existindo uma clara correlação entre cárie precoce na infância e o uso de mamadeira açucarada. Ao ser introduzida precocemente na vida do bebê, a sacarose, torna facilitada a implementação e colonização das novas superfícies dentárias por uma microbiota cariogênica, cujo comportamento na cavidade bucal é em grande parte um reflexo dos hábitos alimentares. Apesar do leite bovino possuir uma baixa quantidade de lactose e desempenhar um efeito protetor contra o aparecimento de cárie, a adição de açúcar torna-o altamente cariogênico (13, 31, 32, 35).

Existe uma tendência alimentar de adoçar o leite, pode também estar associada ao padrão do paladar da mãe, já que a lactose apresenta uma doçura relativa muito inferior à sacarose. Assim a mãe ou o adulto responsável pela criança tende a adoçar o leite, pois esse considera-o como “sem sabor” (38).

A amamentação noturna age diretamente nos fatores etiológicos da cárie dentária: hospedeiro (contato com os dentes); microbiota (campo ideal para o desenvolvimento); substrato (cariogênico); e tempo (longa permanência). À noite, existe uma diminuição da salivação e, também, do reflexo de deglutição que favorece a retenção do alimento junto ao dente. Não existe nenhuma restrição sobre o aleitamento materno e mesmo a amamentação noturna quando o bebê é menor que seis meses (desdentado). A estagnação do líquido adoçado ao redor dos dentes, devido à alta freqüência e tempo de duração da mamada, resulta em um ambiente altamente cariogênico principalmente quando isto ocorre no período noturno (29, 37, 38).

A freqüência e a duração da exposição da superfície dentária ao leite são outros fatores importantes na sua cariogenicidade (34). Alguns autores relataram a presença de cárie precoce da infância em crianças que recebiam aleitamento prolongado como fonte principal de nutrição sem haver abuso alimentar e considerou que existe uma forte evidência de que a lactose do leite é cariogênica quando o aleitamento é excessivamente freqüente (39).

1.4 Cárie e outros fatores

Provavelmente os fatores etiológicos da cárie infantil são os mesmos da cárie em adultos. Entretanto, a situação é agravada nas crianças por alguns fatores, como imaturidade do esmalte dental, pois, como os dentes decíduos são menos mineralizados que os permanentes, logicamente serão mais susceptíveis, já que a resistência do esmalte é menor a um pH mais alto e fraco, determinando que, em uma acidificação mais fraca, podem ocorrer lesões, mais facilmente no esmalte. Outros fatores também interferem na resistência do dente, tais como: a capacidade tampão da saliva e da placa, a concentração de flúor, fósforo e cálcio existente na placa, assim como a capacidade da saliva de remover o substrato (37).

Em amostras de 227 crianças de 18 a 48 meses, em área com baixo índice de flúor na água e verificou que 54% das crianças amamentadas exclusivamente estavam livres de cárie enquanto que apenas 20% das que usavam mamadeiras estavam sem a doença cárie (36).

É necessária, também, uma avaliação cuidadosa dos fatores extrínsecos em que a criança está inserida (hábitos familiares, conhecimento dos pais) tanto a nível individual de atenção quanto coletivo para classificá-la em um grupo de risco de cárie precoce da infância. Os fatores psicológicos, sociais e culturais devem ser avaliados e considerados na elaboração de estratégias preventivas e curativas da cárie precoce na infância. A educação dos responsáveis, fundamental nesse processo, deve considerar os aspectos psicológicos da amamentação e da relação pais–filhos na orientação e motivação de hábitos alimentares e de higiene adequados para a criança em idade precoce. É importante estabelecer hábitos de dieta cedo na vida da criança, o que promoverá não somente o crescimento físico e desenvolvimento, mas também um ambiente propício para uma ótima saúde bucal (39, 40, 41).

Em um estudo, concluiu-se que, existe uma microbiota distinta na cavidade bucal saudável, que é diferente na doença. Em indivíduos saudáveis, algumas espécies são específicas a um sitio ou vários sitios, enquanto outras espécies são específicas a um local. Os autores sugerem a

necessidade de primeiro definir a flora bacteriana da cavidade oral saudável antes de podermos determinar o papel das bactérias orais nas doenças uma vez que mais de 60% das espécies não são cultiváveis (40). A incidência de cárie precoce na infância é um risco potencial de que na dentição permanente isso se repita. Diante do exposto, quando se conhece o agente etiológico e a localização do foco ou reservatório, as medidas de controle podem ser aprimoradas e tornarem-se mais eficientes. Devido à carência de estudos que consideram a contagem de microorganismos cariogênicos em distintos sítios intraorais, que podem servir como reservatório e ou dispensor, e a associação destes com outros fatores relacionados ao processo carioso, realizou-se este estudo.

2 OBJETIVOS

2.1 Geral

Avaliar a colonização por *Streptococcus mutans* e *Lactobacillus* sp. em sítios bucais distintos e sua relação com variáveis associadas predisponentes em crianças de 1 a 5 anos de idade.

2.2 Específicos

- Mensurar populações de *Streptococcus mutans* e *Lactobacillus* sp na mucosa jugal, no assoalho bucal e em biofilme.
- Observar a caracterização de homogeneidade das amostragens para esses microorganismos na mucosa jugal, assoalho bucal e biofilme.
- Correlacionar as contagens microbianas a partir de estimativas de risco de cárie para ambos microorganismos com variáveis individuais categorizadas (idade, gênero, pH salivar, CPOD), nutricionais, sóciodemográficas, culturais e de higienização oral.

3 PRODUTO

3.1 Artigo: Distribuição das espécies *Streptococcus mutans* e *Lactobacillus* sp em diferentes sítios intra-oraais em crianças

Periódico: European Journal Paediatric Dentistry (EJPD)

Distribution of *Streptococcus mutans* and lactobacilli species in three different intraoral habitats in children.

Renata Francine Rodrigues de Oliveira¹

Michelle Bomfim da Silva Fernandes²

Edimilson Martins de Freitas¹

Emile Rocha Bernadino Almeida Prata²

Sérgio Avelino Mota Nobre²

Paulo Rogério Ferreti Bonan³

¹DDS, MSc Student, Biological Sciences and Health Center, State University of Montes Claros Minas Gerais, Brazil.

²Researcher of Epidemiology and Microorganisms Biocontrol Laboratory, Biological Sciences and Health Center, State University of Montes Claros Minas Gerais, Brazil.

³ DDS, PhD, Biological Sciences and Health Center, State University of Montes Claros Minas Gerais, Brazil.

Correspondence to

Paulo Rogério Ferreti Bonan

Rua Helena de Paula Fraga, 867

Major Prates

Montes Claros – Minas Gerais – Brasil

Zip Code: 39403-263

E-mail: pbonan@yahoo.com

Abstract

Streptococcus mutans and *Lactobacillus* sp. are habitually reported as important bacteria associated with human dental caries. Nevertheless, few studies had focused the populations'

measure at different oral habitats and co-factors associated with their colonization. The aim of this study was to assess the size of *Streptococcus mutans* and *Lactobacillus* sp populations, their distribution and contributing co-factors considering three different oral sites. It was considered a descriptive, experimental cross-sectioned design developed from a sample of 84 children with 1 to 5 five year-old. Saliva collected from floor of the mouth, buccal mucosa and biofilm was sampled to bacterial quantification, isolation and biochemical confirmation. A structured questionnaire with variables of interest was fulfilled by mothers or responsible. The study included 84 patients and the age-stratum of 25 to 30 months (21.4%) was the most common. The DMFT was considered low (0.98) and associated with males and not associated with microbial counts in the biofilm. Representative number of these children (75.9%) has received some oral care hygiene. More than 70% of parents reported having received some guidance about caring for the oral health of children. The bacterial counts of *Streptococcus mutans* and *Lactobacillus* sp. were statistically different at all sites evaluated and were higher on the oral mucosa ($p < 0.05$). The incidence of *Streptococcus mutans* was statistically homogeneous in all sites, although it was heterogeneous to *Lactobacillus* sp. There was relation of some counts associated with increased risk for caries with gender, socioeconomic status, maternal education, and intake of milk over 12 months, but not a universal finding for all habitats. We observed that the mucosa is the place with highest scores for both microorganisms; perceived differences between homogeneity and heterogeneity of presence for both and the association of variables such as gender, socioeconomic status, cultural practices, and type of feeding with higher risk for caries in some niches. Regarding the results obtained is recommended the performance of standard sampling in the oral cavity specific sites to assess the microbial population size.

Keywords: *Lactobacillus* sp, *Streptococcus mutans*, microbial-dynamics

Introduction

Streptococcus mutans is generally considered to be the prime etiological bacteria of human dental caries [Acevedo et al., 2009; Coykendal, 1989]. In fact, caries experience was significantly and positively associated with the *Streptococcus mutans* levels in children's and their mothers' dental biofilm [Jigjid et al., 2009]. Nevertheless, the behavior and pathogenicity inside groups of this microorganism is distinct and so genetically heterogeneous that it was divided into four species and three more have been added [Coykendal, 1989].

Another microbial group is the *Lactobacillus* sp. frequently referred associated with cariogenesis process. Indeed, *Lactobacillus* sp. higher counts are straightly associated with carious lesions [Scheutz et al., 2007]. Other additional predisposing factors like higher family income and mother's education level are significantly associated with children's higher caries experience. Furthermore, dental caries showed an expressive relationship with sweets intake, prolonged breastfeeding, and a negative relationship with tooth brushing habits of the children [Jigjid et al., 2009].

Differences among counts of cariogenic bacteria in different oral sites were previously demonstrated in studies, including the genotypic variation of them [Gizani et al., 2009; Baca et al., 2008]. Ginzani et al. (2009) revealed that the mean proportions of *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sanguis* isolated from soft tissue, subgingival and saliva increased significantly with age, whereas the opposite was seen for *Lactobacillus acidophilus*. Despite of the establishment of this view, few studies leaded straightly with comparative evaluation between salivary count associated with soft tissue and biofilm [Gizani et al., 2009; Mager et al., 2003]. The purpose of this study was to assess the size of *Streptococcus mutans* and *Lactobacillus* sp populations considering three different oral sites, including biofilm, regarding predisposing conditions to habitat colonization.

Material and Methods

This study presented a descriptive cross-sectioned and experimental design developed from a sample of 84 children with 1 - 5 ageds and their respective mothers or responsible. This population was selected from a demographic recorder obtained at I Lourdes Family Strategy Program, located at Montes Claros city, Minas Gerais state, Brazil. The respective mothers or responsible answered a questionnaire with their and children's personal, socio-demographic and feeding/cleaning habits features. This study was classified as a minimal risk research type, according with the resolution 196/96 of the Brazilian National Health Council on research involving human subjects. Previously, the purpose was submitted and approved by the State University of Montes Claros Ethical Committee(protocol 1020/2008).

All children were in good general health and not received antimicrobial drugs or prophylactic dental cleaning immediately before the study realization. Clinical examination was carried out by unique observer with intra-examiner reliability evaluation (Kappa significance<0.05). Decayed, Missing, Filled Teeth Index (DMFT) and Developmental Defect of Enamel (DDE) indexes were established. These examinations were conduct under natural light in the children's houses. The determination of teeth with caries was done using DMFT criteria [Tanzerm et al., 2001]. After the clinical examination, the salivary pH was measured using the ColorpHast® pH strip (Merck, Darmstadt, Germany).

Samples for bacterial enumeration and identification were collected from each child from a dental biofilm, using a sterile exploratory probe to remove it on the vestibular face of superior central incisors or inferior central incisors; from the buccal mucosa, with a sterile swab gently in contact with saliva preferentially than mucosa and from the floor of the mouth, with another sterile swab carefully in contact with saliva preferentially than mucosa. Each one of three sub-samples were put in 2 mL of buffered sterilized peptone water (Oxoid CM 0509, England).

After the collection, the sub-samples were homogenized by vortex and serially diluted in buffered sterilized peptone water (Oxoid CM 0509, England) constituting duplicates of 10^{-1} dilution. Aliquots of original suspension and dilution (100 μ L) were distributed, using **Drigalski loop**, on Mitis Salivarius Agar (MS-DIFCO, Detroit, USA), added by sucrose (3%

w/v) (DIFCO, Detroit, USA), bacitracine (0.2 UI/mL) (Fluka 11702) and 1% potassium telurite (HiMEDIA, Laboratories, Mumbai, India), and incubated under microaerophilia at 37° C for 48 hours, in duplicate. The presumptive assessment of *Streptococcus mutans* populations was done by direct count of typical colonies (CFU.oral site⁻¹. individual⁻¹) in X100 magnification, on the stereoscope microscope. The typical colonies were elevated, convex, waving surface, opaque, light blue, 0.5 to 1 mm, with rough margin and granular surface. They were assessed with gram coloration, mannitol and sorbitol fermentation, absence of catalase production and hemolytic activity to confirm the *Streptococcus mutans* identification [Coykendal, 1989]. The *Streptococcus mutans* ATCC 25175 was used as reference to phenotypic and biochemistry characteristics.

Jointly with *S. mutans* proceedings was performed an aliquot to *Lactobacillus* sp. assessment, distributed using **Drigalski loop on** Rogosa Agar (HiMEDIA Laboratories, Mumbai, India) and incubated in microaerophilia at 37° C for 48 hours. Typical colonies to presumptive assessment were considered with size of 2-3 mm, whitish, rounded and smooth. The final measurement was fitted regarding the dilution factors and aliquot volume to both microorganisms.

The data obtained was submitted to SPSS 17.0 tabulation (SPSS, Chicago, EUA) to descriptive and Kruskal Wallis tests and correlation analysis. For the bivariate analysis, *Streptococcus mutans* was grouped into low risk (<10³ CFU. Site sampled⁻¹) and medium-high risk (> 10³ CFU. Site sampled⁻¹) [Paula et al., 2009; Ahumada Mdel et al., 2003]. For *Lactobacillus* sp. a cut off point was considered using the average of scores on each site to rank in low-and moderate-high risk.

Results

The age of children assessed was stratified and the most common range was 25 to 30 months (21.4%), followed by 55 to 60 (17.9%), 18 to 24 (13.1%) and 43 to 48 (13.1%). The DMFT, in mean, of these individuals was 0.98 (± 2.12), being the higher values associated

with older children ($p=0.028$). The correlation among *Streptococcus mutans* and *Lactobacillus* sp. counts at biofilm and DMFT was positive but not statistically significant ($p=0.368$ and $p=0.410$, respectively). The salivary pH was, in mean, 7.34 (± 0.78). There was a negative but not significant correlation between DMFT and salivary pH ($p=0.875$). It was observed that 64 children (75.9%), received oral care procedures, mainly from their mothers ($n=32$, 38.6%), followed by the exclusive self care ($n=27$, 32.5%). Additionally, 76 (91.6%) received or realized tooth brushing with dentifrices, with infantile composition ($n=44$, 53%) and with two times a day of frequency ($n=30$, 36.1%) followed by one time and three times a day (respectively, $n=25$, 30.1% and $n=20$, 24.1%). Cattle milk was the main form of feeding ($n=72$, 86.7%) and in 70.1% of cases, sugar addition to milk was currently done by mothers or responsible.

The site with higher counts of *Streptococcus mutans* and *Lactobacillus* sp. was the buccal mucosa and the biofilm samples had presented lower counts to *Lactobacillus* sp., differently to *S. mutans* (Figure 1). The distribution of negative and positive cases of *S. mutans* and *Lactobacillus* sp. is presented in Tables 1 and 2. The positive cases of *S. mutans* were more frequent than negative in all of examined sites, presenting homogeneous response to sample process ($p=0.001$ to biofilm, $p<0.001$ to floor of the mouth and $p=0.002$ to buccal mucosa). The distribution of *Lactobacillus* sp. was different to assessed sites, suggesting a heterogeneous response concerning sampled sites ($p=0.001$ to floor of the mouth, $p<0.001$ to biofilm and $p=0.564$ to buccal mucosa).

The Table 3 presents a bivariate analysis of *Streptococcus mutans* risk for caries in specific oral sites and its interaction with the variables analyzed. Highlighting the main results, children with medium-high risk for *Streptococcus mutans* at floor of the mouth were more associated with male gender and lower familial income. Lower income and scholarship level were also more associated with medium-higher risk at buccal mucosa. The *Lactobacillus* sp assessment had changed significantly with risk level of *S. mutans* from floor of mouth and biofilm ($p\leq 0.001$).

When we applied the bivariate analysis to *Lactobacillus* sp. levels of counts in biofilm, it was observed a significant relation of them with age and marital state of the mother. The use of milk intake over than 12 months had influenced significantly the lactobacilli counts in floor of the mouth. DMFT values were significantly associated with lactobacilli colonization in the buccal mucosa (Table 4).

Discussion

There are various reports inferring to high counts of *Streptococcus mutans* and *Lactobacillus* sp to caries development in children. [Acevedo et al., 2009; Jigjid et al., 2009; Scheutz et al., 2007; Coykendal, 1989]. A previous study of microbial role in caries revealed that in 2.5 year-old children, the percentage of DFMT-positive subjects and mean number of DFMT were significantly higher in the positive *Streptococcus mutans* group than negative *Streptococcus mutans* group [Kishi et al., 2009]. Curiously, our study showed strong association between elevated DFMT and higher counts of *Lactobacillus* sp. at buccal mucosa but there was a lack of association among DFMT with other sites and even with *Streptococcus mutans*. Corroborant of our findings, a study which deals with schoolchildren revealed that salivary flow rate, *Lactobacillus* and *Streptococcus mutans* counts did not contribute significantly to the prediction of caries lesions in children after clinical measurements [Sánchez-Pérez et al., 2009]. Even children with high levels of *Streptococcus mutans* still remained free from caries mostly supporting the notion that their presence alone should not be the only indicator for increased risk of dental caries [Ge et al., 2008]. In concordance, the number of *Lactobacillus* and *Streptococcus mutans* in a total biofilm sample does not explain the variation in caries better than the numbers in stimulated whole saliva [Sullivan et al., 2006]. In fact, microbial colonization is only a part of a dynamic multifactorial conditions that predisposing caries [Jigjid et al., 2009; Badet and Thebaud, 2008].

The higher rate of *Lactobacillus* sp. found at buccal mucosa and the association with DFMT is expected since these bacteria are normally implicated as important contributor to tooth decay, but their role in induction of lesions is not well supported [Tanzerm et al., 2001]. Maybe, this site represents a safe reservoir to intraoral distribution. *Lactobacilli* represent 0.1% of the total salivary microbiota, and a critical concentration of 10^5 CFU/mL in saliva is necessary for the detection of these microorganisms on the surface of enamel [Badet and Thebaud, 2008]. *Lactobacilli* are known to produce acids from sucrose or glucose. This acid production can cause a drop in pH which is sufficiently significant to demineralization process [Badet et al., 2001]. Other analysis showed that the number of *Lactobacillus* was statistically lower in saliva of subjects with good oral health but 100 times higher in children with caries compared to children without caries [Matee et al., 1992].

In our study, we found significant correlations between higher age and *Streptococcus mutans* and *Lactobacillus* sp. higher counts. In fact, the bacterial colonization is narrowed associated with dental eruption like a previous study which showed the higher percentage of children who were colonized with *Streptococcus mutans* with increasing age and numbers of erupted teeth [Irigoyen Camacho et al., 2009]. It was stated that the frequency of detection and concentration of *Streptococcus mutans* in biofilm as well as its concentration in saliva were higher in the case of the older children [Ahumada Mdel et al., 2003]. In fact, progressive colonization was demonstrated according with age, mainly in the end of childhood with positivity of 90% of individuals from 9 to 14 year-old [Badet and Thebaud, 2008].

In our report, we did not observe associations between satisfactory oral care and bacterial reduction considering the different oral sites. In the literature, there is not consensus over the impact of oral care and bacterial counts [Paula et al., 2009], but the incorporation of hygiene habits early in the childhood is strongly recommended [Habibian et al., 2002]. Physiologic ph values were not associated with higher DMTF in our study. A study which investigated the effects of diet on the pH of the biofilm in children and on the levels of *Streptococcus mutans* showed that a more acidic pH is observed in groups with high scores

for *Streptococcus mutans* until 30 minutes after feeding [Thaweboon et al., 2007]. Our study did not consider pH values after meal but intrinsic values in resting state, with physiologic characteristics without clinical interferences.

Milk intake for longer time was associated with *Lactobacillus* sp. at floor of the mouth but not with *Streptococcus mutans* and neither with other sites. There is not consensus on the discussion about the protective effect of the milk and its cariogenic potential [Mohebbi et al., 2008]. Because of its association with caries, the utilization of nocturne milk should be limited [Mohebbi et al., 2008]. Milk inhibitory effect against *Lactobacillus* sp. and *Streptococcus mutans*, especially in caries-free individuals, was previously described [Simark-Mattsson et al., 2007].

Statistically significant results about socioeconomical determinants in other studies, and in ours, highlight the importance of income and instruction level as a determinant of buccal health [Ismail et al., 2008]. Nevertheless, there is no consensus between levels of salivary cariogenic bacteria and socioeconomic status of children [Zukanović et al., 2008]. Previous data indicated that the mother's education was a risk indicator for the colonization of caries-related microorganisms. Unfavorable maternal social inclusion, the number of children, her need for dental treatment and frequency of visits to the dentist were associated with the children's dental caries experience [Fadel and Saliba, 2009]. In our study, for some habitats, lower mother's education level was associated with higher bacterial cariogenic counts. Referring to gender prevalence associated with dental caries, a previous analysis showed that males were more affected by dental caries than females, independent of socioeconomic level, maybe due to better oral care habits and more prompt searching for dental assistance [Peres et al., 2007]. Nevertheless, this fact was not supported by other researches [Warren et al., 2008].

Like previously demonstrated, species of different genera exhibited different proportions on the various intraoral surfaces [Mager et al., 2003]. In our study, we observed a relative

heterogeneity of counts in the two genders. Referring to counts and presence in different sites, a previous study revealed that there was a higher species detection frequency from teeth than tongue samples. Levels of *Streptococcus mutans* and other *Streptococcus* sp. increased with caries extent [Soncini et al., 2009]. Also, mean proportions of *Streptococcus mutans* isolated from soft tissue and *Streptococcus sanguinis* from soft tissue, subgingival and saliva samples increased significantly with age, whereas the opposite was seen for *Lactobacillus acidophilus*. Soft tissues, saliva, and tongue were more often colonized by cariogenic streptococcal species than teeth. These surfaces may serve as reservoirs for oral pathogens, requiring attention during preventive interventions [Gizani et al., 2009].

Other analysis showed a total of 28 genotypes of *Streptococcus mutans* isolated: 23 in saliva samples, 23 in buccal surface plaque samples, and 16 in plaque samples from occlusal surface fissures [Baca et al., 2008]. A study resembling collected samples from 5 different locations in the oral cavity showed different patterns of bacterial colonization with aging modifications [Papaioannou et al., 2009].

It is helpful to consider the factors that may theoretically influence this process. These factors include (i) the affinity of bacterial cells for oral surfaces, (ii) the number of cells available for attachment, (iii) the rate of bacterial growth, (iv) the frequency of cell transfer, (v) the time available for the transferred cells to become attached, (vi) bacterial survival during transfer, (vii) host factors that influence bacterial attachment or growth, and (viii) the composition of the host's diet. These factors govern intraoral distribution as well as transfer between subjects [Van Houte and Green, 1974].

Conclusions

The counts for *Streptococcus mutans* and *Lactobacillus* sp. were higher on buccal mucosa and there are no correlations among their count at biofilm and DMFT. Homogenous presence or absence for *Streptococcus mutans* but heterogeneity finding to *Lactobacillus* sp. was shown. Variables like gender, familial income, mother's instruction, children's age, milk intake were significant for some oral sites but not universally. This finding suggests that buccal microbial collection standardization by oral site might avoid miscounts and incorrect clinical suppositions.

Acknowledgments

To Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) due to financial support.

References

- Acevedo AM, Ray MV, Socorro M, Rojas-Sánchez F. Frequency and distribution of Mutans Streptococci in dental plaque from caries-free and caries-affected Venezuelan children. *Acta Odontol Latinoam* 2009; 22(1):15-20.
- Ahumada Mdel C, Bru E, Colloca ME, López ME, Nader-Macías ME. Evaluation and comparison of lactobacilli characteristics in the mouths of patients with or without cavities. *J Oral Sci.* 2003;45(1):1-9.
- Baca P, Castillo AM, Baca AP, Liébana MJ, Junco P, Liébana J. Genotypes of *Streptococcus mutans* in saliva versus dental plaque. *Arch Oral Biol.* 2008; 53(8):751-4.
- Badet C, Thebaud ND. Ecology of lactobacilli in the oral cavity: A review of literature. *Open Microbiol J.* 2008; 2: 38-48.
- Badet MC, Richard B, Dornignac G. An in vitro study of the pH-lowering potential of salivary lactobacilli associated with dental caries. *J Appl Microbiol.* 2001; 90(6): 1015-8.
- Coykendal AL. Classification and identification of the viridans streptococci. *Clinical Microbiology Reviews* 1989; 2 (3):315-328.

- Fadel CB, Saliba NA. Social-dental and social representation aspects of dental caries in the mother-child context. *RGO* 2009; 57(3): 295-301.
- Ge Y, Caufield PW, Fisch GS, Li Y. *S. mutans* and *S. sanguinis* colonization correlated with caries experience in children. *Caries Res* 2008; 42(6): 444-448.
- Gizani S, Papaioannou W, Haffajee AD, Kavvadia K, Quirynen M, Papagiannoulis L. Distribution of selected cariogenic bacteria in five different intra-oral habitats in young children. *Int J Paediatr Dent*. 2009; 19(3):193-200.
- Habibian M, Beighton D, Stevenson R, Lawson M, Roberts G. Relationships between dietary behaviours, oral hygiene and *mutans streptococci* in dental plaque of a group of infants in southern England. *Arch Oral Biol*. 2002; 47(6): 491-8.
- Irigoyen Camacho ME, Sánchez Pérez L, García Pérez A, Zepeda MA. Relationship between severe early childhood caries, mother's oral health and *mutans streptococci* in a low-income group: changes from 1996 to 2007. *J Clin Pediatr Dent*. 2009; 33(3):241-6.
- Ismail AI, Lim S, Sohn W, Willem JM. Determinants of early childhood caries in low-income African American young children. *Pediatr Dent*. 2008;30(4):289-96.
- Jigjid B, Ueno M, Shinada K, Kawaguchi Y. Early childhood caries and related risk factors in Mongolian children. *Community Dent Health*. 2009; 26(2):121-8.
- Kishi M, Abe A, Kishi K, Ohara-Nemoto Y, Kimura S, Yonemitsu M. Relationship of quantitative salivary levels of *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sobrinus* in mothers to caries status and colonization of *mutans streptococci* in plaque in their 2.5-year-old children. *Community Dent Oral Epidemiol*. 2009; 37(3):241-9.
- Mager DL, Ximenez-Fyvie LA, Haffajee AD, Socransky SS. Distribution of selected bacterial species on intraoral surfaces. *J Clin Periodontol*. 2003; 30(7): 644-54.
- Matee MI, Mikx FH, Maselle SY, Van Palenstein H. *Mutans streptococci* and lactobacilli in breast-fed children with rampant caries. *Caries Res*. 1992; 26(3):183-7.
- Mohebbi SZ, Virtanen JI, Vahid-Golpayegani M, Vehkalahti MM. Feeding habits as determinants of early childhood caries in a population where prolonged breastfeeding is the norm. *Community Dent Oral Epidemiol*. 2008;36(4):363-9.

- Papaioannou W, Gizani S, Haffajee AD, Quirynen M, Mamai-Homata E, Papagiannoulis L. The microbiota on different oral surfaces in healthy children. *Oral Microbiol Immunol*. 2009; 24(3): 183-9.
- Paula VA, Moraes RS, Modesto A, Santos KR, Gleiser R. Correlation between dietary and oral hygiene habits and the *Streptococcus mutans* levels in Schoolchildren. *Pesq Bras Odontoped Clin Integr*. 2009; 9(1):71-75.
- Peres MA, Peres KG, Barros AJ, Victoria CG. The relation between family socioeconomic trajectories from childhood to adolescence and dental caries and associated oral behaviors. *J Epidemiol Community Health* 2007; 61:141–145.
- Sánchez-Pérez L, Golubov J, Irigoyen-Camacho ME, Moctezuma PA, Acosta-Gio E. Clinical, salivary, and bacterial markers for caries risk assessment in schoolchildren: a 4-year follow-up. *Int J Paediatr Dent*. 2009; 19(3):186-92.
- Scheutz F, Matee MI, Poulsen S, Frydenberg M. Caries risk factors in the permanent dentition of Tanzanian children: a cohort study (1997-2003). *Community Dent Oral Epidemiol*. 2007;35(6):500-6.
- Simark-Mattsson C, Emilson CG, Håkansson EG, Jacobsson C, Roos K, Holm S. *Lactobacillus*-mediated interference of mutans streptococci in caries-free vs. caries-active subjects. *Eur J Oral Sci*. 2007 ;115(4):308-14.
- Soncini JA, Kanasi E, Lu SC, Nunn ME, Henshaw MM, Tanner AC. Oral microbiota of children in a school-based dental clinic. *Anaerobe*. 2009; in press.
- Sullivan A, Borgström MK, Granath L, Nilsson G. Number of mutans streptococci or lactobacilli in a total dental plaque sample does not explain the variation in caries better than the numbers in stimulated whole saliva. *Community Dentistry and Oral Epidemiology* 2006; 24 (3): 159-163.
- Tanzer JM, Livingston J, Thompson AM. The microbiology of primary dental caries in humans. *J Dent Educ*. 2001; 65(10): 1028-1037.

Thaweboon S, Suddhasthira T, Thaweboon B, Soo-Ampon S, Dechkunakorn S. Plaque pH response to snack foods in children with different levels of mutans streptococci. Southeast Asian J Trop Med Public Health 2007; 38(3): 598-603.

Van Houte J, Green DB. Relationship between the concentration of bacteria in saliva and the colonization of teeth in humans. Infect Immun 1974; 9: 624-360.

Warren JJ, Weber-Gasparoni K, Marshall TA, Drake DR, Dehkordi-Vakil F, Kolker JL, Dawson DV. Factors Associated with Dental Caries Experience in 1-Year-Old Children. J Public Health Dent. 2008; 68(2): 70-75.

Zukanović A, Muratbegović A, Kobaslija S, Marković N, Ganibegović M, Beslagić E. Relationships between socioeconomic backgrounds, caries associated microflora and caries experience in 12-year-olds in Bosnia and Herzegovina in 2004. Eur J Paediatr Dent. 2008; 9(3):118-24.

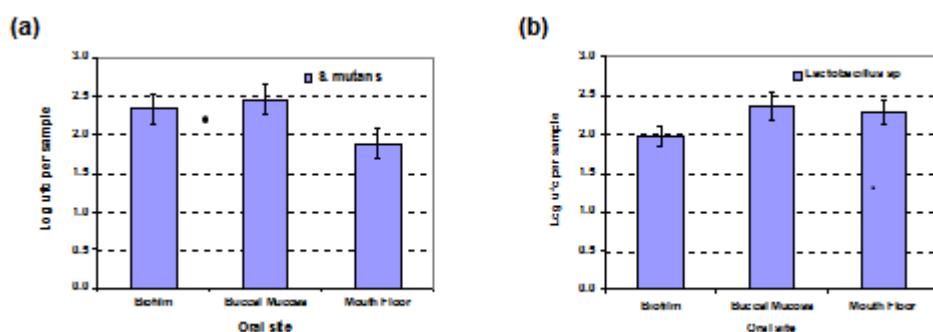


Figura 1. Means of *Streptococcus mutans* (a) e *Lactobacillus sp.* (b) logarithmical counts by the oral site sampled. Bars = Confidence Interval ($p<0.05$).

Tabela 1. Distribution of negative and positive cases of *Streptococcus mutans* in the oral sites: Biofilm (BIO), Buccal Mucosa (BM) and Floor of the Mouth (FM) in a 2X2 format (Kappa coefficient).

| | | BM | | | BIO | | | FM | | |
|-----------|-----|----|----|------------------|-----|----|------------------|----|----|------------------|
| Oral Site | P/N | P | N | Kappa p | P | N | p | P | N | Kappa p |
| BM | P | - | - | | 53 | 10 | | 49 | 3 | |
| | N | - | - | - | 10 | 10 | 0.002 | 14 | 17 | <0.001 |
| BIO | P | 53 | 10 | | - | - | | 49 | 14 | |
| | N | 10 | 10 | 0.002 | - | - | - | 3 | 17 | <0.001 |
| FM | P | 49 | 3 | | 49 | 3 | | - | - | |
| | N | 14 | 17 | <0.001 | 14 | 17 | <0.001 | - | - | - |

P- positive N-Negative P-p statistic

Tabela 2. Distribution of negative and positive cases of *Lactobacillus* sp. in the oral sites: Biofilm (BIO), Buccal Mucosa (BM) and Floor of the Mouth (FM) in a 2X2 format (Kappa coefficient).

| | | BM | | | BIO | | | FM | | |
|-----------|-----|----|----|------------------|-----|----|------------------|----|----|--------------|
| Oral Site | P/N | P | N | Kappa p | P | N | p | P | N | Kappa p |
| BM | P | - | - | | 57 | 7 | | 54 | 10 | |
| | N | - | - | - | 9 | 10 | <0.001 | 10 | 9 | 0.04 |
| BIO | P | 57 | 9 | | - | - | | 50 | 16 | |
| | N | 7 | 10 | <0.001 | - | - | - | 14 | 3 | 0.564 |
| FM | P | 54 | 10 | | 50 | 14 | | - | - | |
| | N | 10 | 9 | 0.04 | 16 | 3 | 0.564 | - | - | - |

P- positive N-Negative P-p statistic

Tabela 3. Bivariate analysis of Streptococcus mutans risk with personal, sociodemographic, feeding habits, oral care and microbiological variables (n=84).

| Variables | Floor of the Mouth | | | Biofilm | | | Buccal Mucosa | | |
|---------------------------------------|--------------------|------------------|-------|-----------|------------------|-------|---------------|------------------|-------|
| | Low Risk | Medium-High Risk | p | Low Risk | Medium-High Risk | p | Low Risk | Medium-High Risk | P |
| Age | | | | | | | | | |
| < 36 months | 25(56.8%) | 19(43.2%) | | 28(63.6%) | 16(36.4%) | | 22(50%) | 22(50%) | |
| > 36 months | 26(65%) | 14(35%) | 0.294 | 19(47.5%) | 21(52.5%) | 0.102 | 22(55%) | 18(45%) | 0.406 |
| Gender | | | | | | | | | |
| Female | 29(74.4%) | 10(25.6%) | | 26(66.7%) | 13(33.3%) | | 21(53.8%) | 18(46.2%) | |
| Male | 22(48.9%) | 23(51.1%) | 0.015 | 21(46.7%) | 24(53.3%) | 0.052 | 23(51.1%) | 22(48.9%) | 0.488 |
| Scholarship Mother | | | | | | | | | |
| Up to college | 37(57.8%) | 27(42.2%) | | 34(53.1%) | 30(46.9%) | | 29(45.3%) | 35(54.7%) | |
| Graduation | 14(70%) | 6(30%) | 0.240 | 13(65%) | 7(35%) | 0.251 | 15(75%) | 5(25%) | 0.018 |
| Income | | | | | | | | | |
| < 2 wages | 27(51.9%) | 25(48.1%) | | 28(53.8%) | 24(46.2%) | | 26(50%) | 26(50%) | |
| > 2 wages | 24(75%) | 8(25%) | 0.029 | 19(59.4%) | 13(40.6%) | 0.395 | 18(56.2%) | 14(43.8%) | 0.018 |
| Children | | | | | | | | | |
| < 2 children | 34(64.2%) | 19(35.8%) | | 31(58.5%) | 22(41.5%) | | 29(54.7%) | 24(45.3%) | |
| > 2 children | 17(54.8%) | 14(45.2%) | 0.270 | 16(51.6%) | 15(48.4%) | 0.350 | 15(48.4%) | 16(51.6%) | 0.369 |
| Marital State | | | | | | | | | |
| Married | 39(62.9%) | 23(37.1%) | | 35(56.5%) | 27(43.5%) | | 30(48.4%) | 32(52.6%) | |
| Other | 12(54.5%) | 10(45.5%) | 0.329 | 12(54.5%) | 10(45.5%) | 0.536 | 14(63.6%) | 8(36.4%) | 0.163 |
| Milk intake | | | | | | | | | |
| < 12 months | 29(56.9%) | 22(43.1%) | | 29(56.9%) | 22(46.1%) | | 25(49%) | 26(51%) | |
| > 12 months | 22(66.7%) | 11(33.3%) | 0.252 | 18(54.5%) | 15(45.5%) | 0.506 | 19(57.6%) | 14(42.4%) | 0.294 |
| Breastfeeding | | | | | | | | | |
| < 4 months | 21(60%) | 14(40%) | | 20(57.1%) | 15(42.9%) | | 17(48.6%) | 18(51.4%) | |
| > 4 months | 30(61.2%) | 19(38.8%) | 0.544 | 27(55.1%) | 22(44.9%) | 0.515 | 27(55.1%) | 22(44.9%) | 0.356 |
| Oral Care | | | | | | | | | |
| Unsatisfactory | 43(66.2%) | 22(33.8%) | | 38(58.5%) | 27(41.4%) | | 36(55.4%) | 29(44.6%) | |
| Satisfactory | 8(42.1%) | 11(57.9%) | 0.054 | 9(47.4%) | 10(52.6%) | 0.275 | 8(42.1%) | 11(57.9%) | 0.224 |
| Toothpaste | | | | | | | | | |
| Fluorite | 47(61.8%) | 29(38.2%) | | 42(55.3%) | 34(44.7%) | | 40(52.6%) | 36(47.4%) | |
| Whithout | 4(50%) | 4(50%) | 0.386 | 5(62.5%) | 3(37.5%) | 0.498 | 4(50%) | 4(50%) | 0.588 |
| DMFT | | | | | | | | | |
| ≤ 3 | 46(60.5%) | 30(39.5%) | | 42(55.3%) | 34(44.7%) | | 40(52.6%) | 36(47.4%) | |
| > 3 | 5(62.5%) | 3(37.5%) | 0.614 | 5(62.4%) | 3(37.5%) | 0.498 | 4(50%) | 4(50%) | 0.588 |
| pH | | | | | | | | | |
| ≤ 7 (5,6,7) | 26(56.5%) | 20(43.5%) | | 24(52.2%) | 22(47.8%) | | 25(54.3%) | 21(45.7%) | |
| > 7 (8,9) | 25(65.8%) | 13(34.2%) | 0.261 | 23(60.5%) | 15(39.5%) | 0.293 | 19(50%) | 19(50%) | 0.429 |
| Milk | | | | | | | | | |
| Without sugar | 33(64.7%) | 18(35.3%) | | 31(60.8%) | 20(39.2%) | | 29(56.9%) | 22(46.1%) | |
| With sugar | 18(54.5%) | 15(45.5%) | 0.241 | 16(48.5%) | 17(51.5%) | 0.188 | 15(45.5%) | 18(54.5%) | 0.212 |
| Lactobacillus at Buccal mucosa | | | | | | | | | |
| Lower rating | 36(81.8%) | 8(18.2%) | | 32(72.7%) | 12(27.3%) | | 15(44.1%) | 19(55.9%) | |
| Higher rating | 15(37.5%) | 25(62.5%) | 0.000 | 15(37.5%) | 25(62.5%) | 0.001 | 29(58%) | 21(42%) | 0.152 |

Tabela 4. Bivariate analysis of *Lactobacillus* sp. risk with personal, sociodemographic, feeding habits, oral care and microbiological variables (n=84).

| Variables | Floor of the Mouth | | p | Biofilm | | p | Buccal Mucosa | | p |
|------------------------------------|--------------------|------------------|--------------|-----------|------------------|--------------|---------------|------------------|--------------|
| | Low Risk | Medium High Risk | | Low Risk | Medium High Risk | | Low Risk | Medium High Risk | |
| Age | | | | | | | | | |
| < 36 meses | 19(43.2%) | 25(56.8%) | | 19(43.2%) | 25(56.8%) | | 16(36.4%) | 28(63.6%) | |
| > 36 meses | 18(45%) | 22(55%) | 0.521 | 8(20%) | 32(80%) | 0.02 | 18(45%) | 22(55%) | 0.280 |
| Gender | | | | | | | | | |
| Female | 19(42.2%) | 26(57.8%) | | 13(28.9%) | 32(71.1%) | | 19(42.2%) | 26(57.8%) | |
| Male | 18(46.2%) | 21(53.8%) | 0.443 | 14(35.9%) | 25(61.4%) | 0.325 | 15(38.5%) | 24(61.5%) | 0.450 |
| Scholarship Mother | | | | | | | | | |
| Up to college | 29(45.3%) | 35(54.7%) | | 21(32.8%) | 43(67.2%) | | 27(42.2%) | 37(57.8%) | |
| Graduation | 8(40%) | 12(60%) | 0.439 | 6(30%) | 14(70%) | 0.523 | 7(35%) | 13(65%) | 0.381 |
| Income | | | | | | | | | |
| < 2 wages | 24(46.2%) | 28(53.8%) | | 19(36.5%) | 33(63.5%) | | 21(40.4%) | 31(59.6%) | |
| > 2 wages | 13(40.6%) | 19(59.4%) | 0.395 | 8(25%) | 24(75%) | 0.196 | 13(40.6%) | 19(59.4%) | 0.581 |
| Nº Children | | | | | | | | | |
| < 2 children | 23(43.4%) | 30(56.6%) | | 18(34%) | 35(66%) | | 23(43.4%) | 30(56.6%) | |
| > 2 children | 14(45.2%) | 17(54.8%) | 0.527 | 9(29%) | 22(71%) | 0.414 | 11(35.5%) | 20(64.5%) | 0.316 |
| Marital State | | | | | | | | | |
| Married | 26(41.9%) | 36(58.1%) | | 16(25.8%) | 46(74.2%) | | 24(38.7%) | 38(61.3%) | |
| Other | 11(50%) | 11(50%) | 0.342 | 11(50%) | 11(50%) | 0.036 | 10(45.5%) | 12(54.5%) | 0.379 |
| Milk intake | | | | | | | | | |
| < 12 months | 27(52.9%) | 24(47.1%) | | 19(37.3%) | 32(62.7%) | | 24(47.1%) | 27(52.9%) | |
| > 12 months | 10(30.3%) | 23(69.7%) | 0.034 | 8(24.2%) | 25(75.8%) | 0.157 | 10(30.3%) | 23(69.7%) | 0.096 |
| Breastfeeding | | | | | | | | | |
| < 4 months | 15(42.9%) | 20(57.1%) | | 10(28.6%) | 25(71.4%) | | 14(40%) | 21(60%) | |
| > 4 months | 22(44.9%) | 27(55.1%) | 0.515 | 17(34.7%) | 32(65.3%) | 0.363 | 20(40.8%) | 29(59.2%) | 0.561 |
| Oral Care | | | | | | | | | |
| Unsatisfactory | 31(47.7%) | 34(52.3%) | | 18(27.7%) | 47(72.3%) | | 29(44.6%) | 36(55.4%) | |
| Satisfactory | 6(31.6%) | 13(68.4%) | 0.163 | 9(47.4%) | 10(52.6%) | 0.092 | 5(26.3%) | 14(73.7%) | 0.121 |
| Toothpaste | | | | | | | | | |
| Fluorite | 34(44.7%) | 42(55.3%) | | 23(30.3%) | 53(69.7%) | | 31(40.8%) | 45(59.2%) | |
| Without | 3(37.5%) | 5(62.5%) | 0.498 | 4(50%) | 4(50%) | 0.225 | 3(37.5%) | 5(62.5%) | 0.586 |
| DMFT | | | | | | | | | |
| ≤ 3 | 35(46.1%) | 41(53.9%) | | 25(32.9%) | 51(67.1%) | | 34(44.7%) | 42(55.3%) | |
| > 3 | 2(25%) | 6(75%) | 0.225 | 2(25%) | 6(75%) | 0.494 | 0(0%) | 8(100%) | 0.012 |
| pH | | | | | | | | | |
| ≤ 7 (5,6,7) | 18(39.1%) | 28(60.9%) | | 15(32.6%) | 31(67.4%) | | 15(32.6%) | 31(67.4%) | |
| > 7 (8,9) | 19(50%) | 19(50%) | 0.218 | 12(31.6%) | 26(68.4%) | 0.554 | 19(50%) | 19(50%) | 0.082 |
| Milk | | | | | | | | | |
| Without sugar | 26(51%) | 25(49%) | | 16(31.4%) | 35(68.6%) | | 21(41.2%) | 30(58.8%) | |
| With sugar | 11(33.3%) | 22(66.7%) | 0.085 | 11(33.3%) | 22(66.7%) | 0.518 | 13(39.4%) | 20(60.6%) | 0.527 |
| Buccal mucosa Streptococcus | | | | | | | | | |
| Low Risk | 19(43.2%) | 25(56.8%) | | 11(25%) | 33(75%) | | 15(34.1%) | 29(65.9%) | |
| Medium High Risk | 18(45%) | 22(55%) | 0.521 | 16(40%) | 24(60%) | 0.108 | 19(47.5%) | 21(52.5%) | 0.152 |

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

- 1) Observou-se que a mucosa jugal é o nicho de maior contagem para ambos microorganismos; A distribuição da população de *S. mutans* e *Lactobacillus* sp. é diferente nos 3 sitios avaliados, sendo que o *S. mutans* é menos freqüente no assoalho da língua e o *Lactobacillus* sp. no biofilme dental
- 2) Gênero, idade, variáveis sócio-econômicas, condições culturais e tipo de alimentação estavam associados com maior risco para cárie em alguns nichos e consequentemente associados a maior contagem de microorganismos.
- 3) A verificação de homogeneidade para *Streptococcus mutans* foi evidente em todos os sítios avaliados ao passo que para os *Lactobacillus* sp. houve heterogeneidade.
- 4) Recomenda-se com esse estudo a realização de coletas padronizadas em nichos específicos na cavidade bucal para a mensuração da contagem desses microorganismos.

REFERÊNCIAS

- 1- Araújo FB, Figueiredo MC. Promoção de Saúde – Um Desafio para as Novas Gerações. In: Kriger Leo. Aboprev: Promoção de Saúde Bucal. 2 ed. São Paulo: Artes Médicas, 1999; Cap. 13: p 285-348.
- 2- Mattos-Graner RO, Zelante F, Peres RCR, Mayer MPA. Prevalência de estreptococos do grupo *mutans* em crianças de 12 a 31 meses de idade e sua associação com a freqüência e severidade de cárie dental. Rev Odontol Univ São Paulo, out./dez. 1998. v.12, n.4:p 309-314,
- 3- Kramer PF, Feidens CA. Promoção de Saúde Bucal em Odontopediatria. São Paulo: Artes Médicas, 1997.
- 4- Ribeiro Nilza M, Ribeiro Manoel AS. Aleitamento materno e cárie do lactente e do pré-escolar:uma revisão crítica. Jornal de Pediatria, 2004
- 5- Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. Coordenação Nacional de Saúde Bucal. Projeto SB Brasil 2003: Condições da Saúde Bucal da População Brasileira 2002-2003 Resultados Principais. Brasília, 2004.
- 6- World Health Organization. Oral health surveys: basic methods. 4th ed. Geneva; 1997
- 7- Ribeiro AG et al. Cárie precoce na infância: prevalência e fatores de risco em pré-escolares, aos 48 meses na cidade de João Pessoa, Paraíba, Brasil. Cad. Saúde Pública, Rio de Janeiro,2005, 21(6):1695-1700, nov-dez.
- 8- Gomes D, Da Ros MA. A Etiologia da Cárie no estilo do pensamento da ciencia odontologica. 2008 Rev Ciencia e Saúde Coletiva,ano 13 vol 03.
- 9- Moreira et al. Fatores determinantes na epidemiologia e transmissibilidade da doença cárie. 2007, Revista Odonto Ciência – Fac. Odonto/PUCRS, v. 22, n. 56, abr./jun.
- 10-Kazor CE, Mitchell PM, Lee AM, Stokes LN, Loesche WJ. Dewhirst,F.E.; Paster B.J. Diversity of Bacterial Populations on the Tongue Dorsa of Patients with Halitosis and Healthy Patients .J Clin Microbiol. 2003 February; 41(2): 558–563.

- 11- Aparna M S PBD, Yadav S. Biofilms: Microbes and Disease. *The Brazilian Journal of Infectious Diseases* 2008;12(6):526-530.
- 12- Marsh PD. Dental plaque as a biofilm and a microbial community – implications for health and disease. *BMC Oral Health*. 2006; 6(Suppl 1): S14
- 13- Lascala NT. Prevenção na Clínica Odontológica: Promoção de Saúde Bucal. São Paulo: Artes Médicas, 1997.
- 14- Macdonald R F, Avery D R. Odontopediatria. 7. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001.
- 15- Peres RCR et al. Cariogeneity of Different Types of Milk: Na Experimental Study Using Animal Model. *Bras Dent J*, Piracicaba, 2002. v.1, n.13, p. 27-32.
- 16- Moreira M. Variabilidade genética de *Streptococcus mutans* em isolados intrafamiliares, por meio de marcadores rapd. 2006, Curitiba: Universidade Federal do Paraná.
- 17- Guedes-pinto CA. Odontopediatria. 6. ed. São Paulo: Editora Santos, 1997.
- 18- Frandsen EV, Pedrazzoli V, Kilian M. Ecology of viridans streptococci in the oral cavity and pharynx. *Oral Microbiol Immunol*. 1991.Jun;6(3):129-33.
- 19- Schalka M M S, Rodrigues CRMD. A importância do médico pediatra na promoção da saúde Bucal. *Revista de Saúde Pública*, São Paulo, v.30, n.2, abril. 1996.
- 20- Baratieri LN. Odontologia Restauradora. 1. ed. São Paulo: Editora Santos, 2001, p. 4.
- 21- Thylstrup A, Fejerskov O Cariologia Clínica. 3^{ed}. São Paulo: Editora Santos, 2001.
- 22- Pereira WF, Ferrari AR, Borges SP, Cruz RA. Influência Materna e os Fatores de Risco de Cárie Dentária. *Revista do CROMG*, 2002.v.8, n.1, p.33-42, jan./ ferv./ mar.
- 23- Paiva MS, Bezerra VL, Toledo OA. O pediatra e a saúde oral da criança. 1990, Porto Alegre: RGO.

- 24-Badet C, Thebaud ND. Ecology of lactobacilli in the oral cavity: A review of literature. 2008, Open Microbiol J., v. 2, p. 38-48.
- 25-Tanzer JM, Livingston J, Thompson AM. The microbiology of primary dental caries in humans. J Dent Educ. 2001 v. 65 n. 10, p. 1028-1037.
- 26-Van Houte J, Green D.B. Relationship between the concentration of bacteria in saliva and the colonization of teeth in humans. Infect Immun, v,9, p. 624-360, 1974.
- 27-Chaves AMB, Rosenblatt A, Colares V. A importância da dieta do desmame na saúde oral. 2003, Jornal Brasileiro de Odontopediatria e Odontologia do Bebê, Curitiba, v.6, n.30, p.158-162, mar/abr.
- 28-Kootlaw LA. Breast Feeding: A cause of dental caries in children. J. D. Children. 44:192-205, 1977 In Guedes-pinto, C. A. Odontopediatria. 6. ed. São Paulo: Editora Santos, 1997
- 29-Duarte PM, Coppi LC, Rosalem PL. Cariologia e propriedades características por diferentes tipos de leite –Revisão.2000, Arquivos Latino-Americanos de Nutrição. Caracas, v. 50, n. 2.
- 30-Ramos BC, Maia LC. Cárie tipo mamadeira e a importância da promoção de saúde bucal em crianças de 0 a 4 anos. 1999, Rev Odontol Univ São Paulo, v. 13, n. 3, p. 303-311, jul./set.
- 31-Buischi YP. Promoção de Saúde Bucal na Clínica Odontológica. Santos: Artes Médicas, 2000.
- 32-Corrêa MSN. Odontopediatria na Primeira Infância. São Paulo: Editora Santos, 2001.
- 33-Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Política de Saúde. Organização Pan Americana da Saúde. Guia Alimentar para Crianças menores de dois anos. Brasília, 2002. 152p.
- 34-Saito SK, Deccico HMU, Santos MN. Efeito da prática de alimentação infantil e de fatores associados sobre a ocorrência da cárie dental em pré-escolares de 18 a 48 meses. 1999, Rev Odontol Univ São Paulo, v. 13, n. 1, p. 05-11, jan./mar.

- 35- Nelson-Filho P, Queiroz AM, Mussolino ZM, Assed S. Avaliação dos Hábitos em Crianças Portadoras de Cárie de Mamadeira. 2001, J. Bras Odontopediatr Odontol Bebê, Curitiba, v.3, n.17, pp.30-35, jan./fev.
- 36- Walter LRF, Ferelle A, Issao M. Odontologia para Bebês. São Paulo: Artes Médicas, 1996.
- 37- Al-Dashti, A. A.; Williams, S.A.; Curzon, M.E.. Breast feeding, bottle feeding and dental caries in Kuwait, a country with low-fluoride levels in the water supply. *Community Dent Health*, v. 12, n. 1, p. 42-47, Mar. 1994
- 38- Pinkham, J. R.. Odontopediatria: Da Infância À Adolescência. 2. ed. Artes Médicas: São Paulo, 1996.
- 39- Peres, Marco Aurélio. Determinantes Sociais e Biológicos da Cárie Dentária em crianças de 6 anos de idade:Um estudo transversal aninhado numa coorte de nascidos vivos nascidos no Sul do Brasil.2003, *Revista Brasileira de Epidemiologia*.vol 6 nº 4.
- 40- Aas JA, Paster BJ, Stokes LN, Olsen I, Dewhirst FE. Defining the normal bacterial flora of the oral cavity. *J Clin Microbiol*. 2005 Nov;43(11):5721-32
- 41- Harris R, et al. Risk factors for dental caries in young children: a systematic review of the literature. *Community Dental Health*.2004: 21 (Supplement), 71–85

APÊNDICES

APÊNDICE A- Consentimento Livre e Esclarecido

CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO PARA PARTICIPAÇÃO EM PESQUISA

Título da pesquisa: AVALIAÇÃO DA INFLUÊNCIA DA VISITA DOMICILIAR SOBRE A CÁRIE E SEUS FATORES EM CRIANÇAS DE 12 A 48 MESES DO PSF LOURDES I MONTES CLAROS, MINAS GERAIS

Coordenadora: Renata Francine Rodrigues de Oliveira

Atenção: Antes de aceitar participar desta pesquisa, é importante que você leia e compreenda a seguinte explicação sobre os procedimentos propostos. Esta declaração descreve o objetivo, metodologia/procedimentos, benefícios, riscos, desconfortos e precauções do estudo. Também descreve os procedimentos alternativos que estão disponíveis a você e o seu direito de sair do estudo a qualquer momento. Nenhuma garantia ou promessa pode ser feita sobre os resultados do estudo.

- 1- Objetivo:** Produzir informações sobre as condições de saúde bucal da população de 12 a 48 meses do PSF Lourdes I e avaliar os fatores relacionados com a cárie precoce bem como o impacto que a visita domiciliar produz na população sobre esses fatores.
- 2- Metodologia/procedimentos:** Serão realizados entrevistas com mães ou responsáveis pelas crianças e exames bucais nas crianças. O exame bucal é uma observação da boca, feita com técnica segura e higiene, conforme normas da Organização Mundial da Saúde e do Ministério da Saúde, não havendo constrangimento indevido ou quaisquer malefícios com relação as crianças. Será feito coleta para exame da saliva utilizando espátula de madeira de caráter totalmente inócuo.
- 3- Justificativa:** As cáries precoce na infância é fator de risco para o seu desenvolvimento também na dentição permanente. A intervenção na população infantil permite conhecer o desenvolvimento da doença e prevenir seu acometimento futuro.

- 4- Benefícios:** Os resultados da pesquisa ajudarão planejar melhor o processo de trabalho direcionar estratégias de intervenções. Aqueles que apresentarem necessidade de tratamento odontológico serão encaminhadas para tratamento odontológico pela equipe de saúde bucal de cada PSF.
- 5- Desconfortos e riscos:** Não representam riscos nem desconforto para quem será examinado.
- 6- Danos:** Não existem.
- 7- Metodologia/procedimentos alternativos disponíveis:** Não existem.
- 8- Confidencialidade das informações:** Os dados individuais não serão divulgados em nenhuma hipótese.
- 9- Compensação/indenização:** não se aplica.
- 10- Outras informações pertinentes:** Você não será prejudicado de qualquer forma caso sua vontade seja de não colaborar. Se quiser mais informações sobre o nosso trabalho, por favor, ligue para:

Renata Francine Rodrigues de Oliveira
Telefone: 32219154

11- Consentimento: Li e entendi as informações precedentes. Tive oportunidade de fazer perguntas e todas as minhas dúvidas foram respondidas a contento. Este formulário está sendo assinado voluntariamente por mim, indicando meu consentimento para participar nesta pesquisa, até que eu decida o contrário. Receberei uma cópia assinada deste consentimento. Em se tratando de pesquisa a ser realizada com menores de idade responsabilizarei -me pela divulgação dos dados.

| | | |
|-------------------------|----------------------------|-------------------------|
| Nome do participante | Assinatura do participante | Data ____/____/____ |
| _____ _____ _____ | | _____ _____ _____ |
| Nome da testemunha | Assinatura da testemunha | Data |
| _____ _____ _____ | | _____ _____ _____ |

Renata Francine Rodrigues de Oliveira _____

Nome do coordenador da pesquisa

Assinatura do coordenador da pesquisa

Data: Montes Claros ____/____/____

APÊNDICE B- Questionário de coleta de dados

Formulário In_____ N_____ Data_____

Entrevista com Mãe ou responsável por criança de 12 a 60 meses

Nome_____ Endereço _____ ACS _____

Gênero masculino feminino

Data de Nascimento_____ Data ____/____/____

Idade Cç 12 a 17 18 a 24 25 a 30 31 a 36 meses
 37 a 42 meses 43 a 48 meses > 48 meses**Escolaridade da mãe ou responsável**

- | | |
|--|---|
| <input type="checkbox"/> Ensino fundamental incompleto | <input type="checkbox"/> Ensino médio completo |
| <input type="checkbox"/> Ensino fundamental completo | <input type="checkbox"/> Ensino superior completo |
| <input type="checkbox"/> Ensino médio incompleto | <input type="checkbox"/> Ensino superior completo |

Renda familiar

- | | | |
|--|--------------------------|-----------------------|
| <input type="checkbox"/> Até 1 salário mínimo | Número de Filhos | |
| <input type="checkbox"/> Até 2 salários mínimos | <input type="checkbox"/> | Um único filho |
| <input type="checkbox"/> Até 3 salários mínimos | <input type="checkbox"/> | Dois filhos |
| <input type="checkbox"/> Acima de 4 salários mínimos | <input type="checkbox"/> | Três filhos |
| | <input type="checkbox"/> | Quatro filhos |
| | <input type="checkbox"/> | Acima de cinco filhos |

Estado civil

- Casada Solteira Divorciada ou viúva Outro

Tempo de amamentação exclusiva

- | | | | |
|-------------------|--------------------------|---------------------|--------------------------|
| Menor que 2 meses | <input type="checkbox"/> | Entre 2 e 4 meses | <input type="checkbox"/> |
| Até seis meses | <input type="checkbox"/> | Acima de seis meses | <input type="checkbox"/> |

Peso ao nascer_____ Períodos de desnutrição_____

Perguntas

1) Você já recebeu alguma informação sobre a saúde bucal do seu filho e de como cuida-la?

Sim Não

2) Como estas informações chegaram ate vc?

TV revistas Médico do PSF Outro
 Enfermeira do PSF
 Dentista do PSF ACD Agente comunitário

3) O seu filho recebe alguma limpeza na boca?

Sim Não Raramente Quantas vezes ao dia ____

4) Caso a resposta foi sim quem realiza ?

Mãe Pai A própria criança A criança e um adulto
 outro

5) Você utiliza creme dental na escovação do seu filho? Que tipo?

Sim Não Infantil Adulto outro

6) O que é utilizado na limpeza da boca da criança?

Escova

Fralda úmida outro

Cotonete

Dedeira

7) Quantas vezes ela é realizada?

3vezes ao dia

2vezes ao dia

1 única vez

Não escova

8) Que tipo de leite seu filho consome?

Leite materno

Leite materno e de vaca

Leite de vaca

Leite de cabra Leite de soja

Outro

9) Você adiciona açúcar ou outra coisa no preparo do leite?

Sim Não

10) Quantas vezes ao dia seu filho consome leite?

Uma vez

Duas a três vezes

Acima de 4 vezes ao dia

11) O seu filho toma leite ou consome algum alimento depois de ter dormido

Sim Não

12) Quantas vezes?

Uma

Duas Três ou mais

13) Você modificou a forma com que cuida da alimentação ou da higiene do seu filho no ultimo ano?

Ficha de Exame

Informações Gerais

Idade _____ meses sexo ____ Número do Exame _____

Nome _____

CÁRIE DENTÁRIA E NECESSIDADE DE TRATAMENTO

Todos os grupos etários. Condicão de Raiz, somente de 35 a 44 e 65 a 74 anos

CÁRIE DENTÁRIA E NECESSIDADE DE TRATAMENTO

Todos os grupos etários. Condição de Raiz, somente de 35 a 44 e 65 a 74 anos

| CÓDIGO | | | CONDIÇÃO/ESTADO | CÓDIGO | | | | | | | | TRATAMENTO | | | | | | | | | | | |
|-----------------|--------------------|------|------------------------------------|--------|---|---|---|---|---|---|---|------------|---|---|--------------------------------------|---|---|---|---|---|---|---|---|
| DENTES DECÍDUOS | DENTES PERMANENTES | | | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 |
| Coroa | Coroa | Raiz | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | HÍGIDO | | | | | | | | | | | 0 | NENHUM | | | | | | | | |
| A | 0 | 0 | CARIADO | | | | | | | | | | | 1 | RESTAURAÇÃO DE 1 SUPERFÍCIE | | | | | | | | |
| B | 1 | 1 | RESTAURADO MAS COM CÁRIE | | | | | | | | | | | 2 | RESTAURAÇÃO DE 2 OU MAIS SUPERFÍCIES | | | | | | | | |
| C | 2 | 2 | RESTAURADO E SEM CÁRIE | | | | | | | | | | | 3 | COROA POR QUALQUER RAZÃO | | | | | | | | |
| D | 3 | 3 | PERDIDO DEVIDO À CÁRIE | | | | | | | | | | | 4 | FACETA ESTÉTICA | | | | | | | | |
| E | 4 | N/A | PERDIDO POR OUTRAS RAZÕES | | | | | | | | | | | 5 | PULPAR + RESTAURAÇÃO | | | | | | | | |
| F | 5 | N/A | APRESENTA SELANTE | | | | | | | | | | | 6 | EXTRAÇÃO | | | | | | | | |
| G | 6 | N/A | APOIO DE PONTE OU COROA | | | | | | | | | | | 7 | REMINERALIZAÇÃO DE MANCHA BRANCA | | | | | | | | |
| H | 7 | 7 | NÃO ERUPCIONADO - RAIZ NÃO EXPOSTA | | | | | | | | | | | 8 | SELANTE | | | | | | | | |
| K | 8 | 8 | TRAUMA (FRATURA) | | | | | | | | | | | 9 | SEM INFORMAÇÃO | | | | | | | | |
| T | T | N/A | DENTE EXCLUÍDO | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| L | 9 | 9 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |



| TIPO DE DISTURBIO | CÓDIGO |
|---|--------|
| Esmalte Normal | 0 |
| Opacidades Demarcadas | |
| Brancas/Bege | 1 |
| Amarelas/Castanhas | 2 |
| Opacidades Difusas | |
| Lineares | 3 |
| Maculares | 4 |
| Confluentes | 5 |
| Máculas confluentes + Pigmentações + Perda de esmalte | 6 |
| Hipoplasias | |
| Pontos | 7 |
| Perda de esmalte | 8 |
| Outros distúrbios | 9 |
| Combinações | |
| Demarcados e Difusas | A |
| Demarcadas e Hipoplasias | B |
| Difusas e Hipoplasias | C |
| Todos os três distúrbios | D |

Figura 1 - Índice DDE modificado

Índice DDE _____

Análise do pH

Observações: