

ADSORÇÃO DE *Streptococcus mutans* PELA CENOURA – OBSERVAÇÕES EXPERIMENTAIS EM RATOS

Antonio Olavo Cardoso JORGE*
Neide Querido ALMEIDA*
Vera FANTINATO*
Mario Tsunezi SHIMIZU*

RESUMO: Os autores procuraram verificar a influência da cenoura (*Daucus carrota*), quando adicionada à dieta cariogênica para ratos, em relação ao número de *S. mutans* e a quantidade de placa bacteriana. Ratos com 20 dias de idade, divididos em três grupos, foram alimentados durante 90 dias com as seguintes dietas: os controles receberam ração triturada; o segundo grupo, dieta cariogênica; e o terceiro, dieta cariogênica contendo 18% de cenoura. A avaliação quantitativa revelou aumento de *S. mutans* nos animais alimentados com dieta cariogênica e dieta cariogênica contendo cenoura, em relação aos controles. Contudo, o aumento de *S. mutans* nos ratos alimentados com dieta cariogênica em relação à dieta cariogênica contendo cenoura não foi significativo. Apesar disso, a formação de placa bacteriana nos animais submetidos à dieta cariogênica foi mais intensa do que nos animais cuja dieta foi a cariogênica adicionada de cenoura.

UNITERMOS: *Streptococcus mutans*; placa bacteriana; dieta cariogênica.

INTRODUÇÃO

Grande ênfase tem sido atribuída à importância do *Streptococcus mutans* na patogênese da placa bacteriana e desenvolvimento da cárie dentária. Vários estudos de microbiota bucal, tanto em animais como em humanos, têm demonstrado que elevado número de *S. mutans* na placa e na saliva predispõe a um aumento significativo na atividade de cárie^{2, 7, 8, 16, 27}. O *S. mutans* induz ou aumenta a atividade de cárie em estudos experimentais com roedores ou primatas^{3, 5, 6, 9, 17, 22}.

Por outro lado, também está bem determinado que a dieta pode modificar tanto a composição quanto a quantidade de placa formada. Em relação à composição da dieta, a maior cariogenicidade é imputada à presença de carboidratos, principalmente a

* Departamento de Patologia – Faculdade de Odontologia – UNESP – 12245 – São José dos Campos – SP.

sacarose^{4, 14, 15, 21, 23}, apesar de que a consistência dos alimentos também é um fator de importância^{12, 13, 26}. Glicoproteínas salivares e alguns outros receptores protéicos específicos, encontrados em alguns alimentos e vegetais, parecem participar do complexo processo de formação da placa bacteriana.

Segundo BRATTHALL¹, a cenoura (*Daucu carrota*) contém uma substância que possui a característica de aglutinar determinados estreptococos orais, e ainda de absorvê-los seletivamente *in vitro*. Tal substância, uma lectina, possui receptores protéicos específicos para determinadas bactérias, levando a fenômenos de aglutinação semelhantes aos que ocorrem com determinadas proteínas salivares. Substâncias semelhantes à lectina são largamente distribuídas entre as plantas e sementes, sendo que as mesmas possivelmente possam vir a ser utilizadas em extratos, para aglutinar diferentes tipos de bactérias orais. Segundo esse autor, extratos de cenoura induzem aglutinação e adsorção da maioria de sorotipos de *S. mutans*, mas não de *S. salivarius* e *S. mitis*. RAMSTORP et al²⁰ também relataram a presença de uma substância na cenoura, capaz de aglutinar células de *S. mutans in vitro*. A literatura não registra dados relativos à ação da cenoura quando adicionada experimentalmente à dieta. Nossa proposição é estudar as alterações da microbiota bucal de ratos em relação ao *S. mutans* e a quantidade de placa bacteriana, quando esses animais são alimentados com dieta cariogênica adicionada de cenoura.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados 28 ratos (*Rattus norvegicus*, Wistar) de 22 dias de idade, de ambos os sexos, aos quais foram administrados, durante 90 dias, água e as seguintes dietas *ad libitum*:

- Dieta-controle: ração para ratos Probiotério G (Produtos, Moinho Primor S.A.) triturada.
- Dieta Cariogênica: baseada em QUERIDO *et al.*¹⁸, constituída de 56% de açúcar refinado (União), 28% de ração triturada e 16% de leite em pó desnatado (Molico, Nestlé).
- Dieta Cariogênica + Cenoura: constituída de 56% de açúcar, 18% de cenoura (*Daucus carrota*) triturada, 10% de ração triturada e 16% de leite em pó desnatado.

Para o preparo das dietas, a ração foi triturada em pilão e passada em peneira fina. Na dieta cariogênica foram misturados o açúcar e o leite em pó desnatado nas proporções acima. O preparo da dieta cariogênica + cenoura foi feito no aparelho “Walita Master”, processando-se a ração triturada com a cenoura preparada segundo BRATTHALL¹ durante 2 minutos, adicionando-se a seguir o açúcar (30 segundos) e finalmente o leite em pó desnatado (30 segundos).

Os ratos foram pesados antes do início e a 30, 60 e 90 dias do experimento. Concomitantemente, foram realizadas coletas da boca dos animais com um mini-swab esterilizado para contagem de *S. mutans*. Imediatamente após a coleta, o mini-swab foi colocado em tubo de ensaio contendo 0,9 ml solução salina, considerando-se essa di-

lução como 10^{-1} . A seguir foram feitas diluições decimais até 10^{-5} em solução salina, das quais foi semeado 0,1 ml em placas de Agar Mitis Salivarius Bacitracina em duplicata. A incubação foi a 37°C em tensão de CO_2 durante 48 horas. A contagem do número de colônias foi feita escolhendo-se as placas contendo 30 a 300 colônias. Após 90 dias da administração das dietas, os animais foram sacrificados, e as mandíbulas e os maxilares retirados e fixados em formol a 10% por 48 horas.

A quantificação da placa bacteriana foi realizada em microscópio estereoscópico com aumento de 15 vezes, baseando-se no índice de placa proposto por QUIGLEY, HEIN¹⁹ modificado, atribuindo-se valores de 0 a 5 de acordo com a extensão do acúmulo de placa, nas faces vestibular e lingual dos molares dos ratos.

Os resultados foram analisados estatisticamente pelo teste t de Student.

RESULTADOS

As médias e o desvio padrão do peso inicial dos animais e 30, 60 e 90 dias após a administração das dietas estão expressos na Tabela 1. Os resultados das contagens de *S. mutans* durante o experimento encontram-se na Tabela 2. A presença maior de placa bacteriana pode ser observada nos animais alimentados com dieta cariogênica (Fig. 1) em relação aos animais do grupo-controle (Fig. 2). As médias de quantificação da placa nos grupos de animais podem ser observadas na Tabela 3.

DISCUSSÃO

Os animais aceitaram bem a dieta cariogênica e a dieta cariogênica contendo cenoura, e apresentaram desenvolvimento semelhante ao grupo-controle, conforme pode ser observado na Tabela 1.

O número de *S. mutans* manteve-se relativamente constante no grupo-controle durante o experimento, enquanto que nos grupos dieta cariogênica e dieta cariogênica + cenoura as contagens de *S. mutans* apresentaram aumento significativo já após 30 dias, o qual se intensificou após 90 dias (Tabela 2). Tais resultados já eram esperados para a dieta cariogênica, desde que a sacarose propicia acentuado desenvolvimento de *S. mutans*^{7, 10, 11, 18, 21, 23, 24, 25}. Embora pequena diferença tenha sido observada entre os grupos dieta cariogênica e dieta cariogênica + cenoura, tais resultados não se apresentaram significativos.

A quantificação de placa bacteriana (Tabela 3) demonstrou presença bem menor de placa nos animais que receberam dieta-controle do que nos grupos que receberam dieta cariogênica e dieta cariogênica + cenoura, o que pode ser interpretado como em decorrência da presença de sacarose nessas dietas, a qual predispõe a um aumento de microbiota placogênica, incluindo o *S. mutans*, com conseqüente formação de polímeros extracelulares pelos microorganismos e maior formação e acúmulo de placa bacteriana. Resultados semelhantes demonstrando maior quantidade de placa em animais que receberam dietas cariogênicas é descrito na literatura por diversos autores^{3, 4, 10, 12, 17, 21}. Por outro lado, o aumento de *S. mutans* na saliva e na placa pre-

TABELA 1 – Médias e desvio padrão do peso inicial dos animais em gramas e 30, 60 e 90 dias após o início da administração das dietas nos diferentes grupos observados

GRUPOS	INICIAL	30 DIAS	60 DIAS	90 DIAS
DIETA-CONTROLE:				
– machos (n = 6)	63,6 ± 6,1	184,3 + 13,9	274,3 + 16,4	315,1 + 28,7
DIETA CARIOGÊNICA:				
– machos (n = 5)	70,5 ± 9,8	192,4 + 8,9	275,7 + 13,5	316,4 + 31,4
– fêmeas (n = 6)	67,5 ± 10,7	137,8 + 18,1	182,2 + 16,4	205,5 + 19,4
DIETA CARIOGÊNICA + CENOURA:				
– machos (n = 5)	62,8 ± 12,6	150,8 + 11,3	234,3 + 11,2	286,5 + 12,6
– fêmeas (n = 6)	63,0 ± 11,5	148,6 + 8,3	200,6 + 13,5	222,6 + 6,7

TABELA 2 – Médias das contagens iniciais de *S. mutans* e 30, 60 e 90 dias após a administração de dieta cariogênica e dieta cariogênica adicionada de cenoura. Resultados em 10⁴ u.f.c./ml

DIETAS	INICIAL	30 DIAS	60 DIAS	90 DIAS
CONTROLE (n = 6)	0,6	0,5	0,5	1,0
CARIOGÊNICA (n = 11)	1,7	7,6*	4,2	12,5*
CARIOGÊNICA + CENOURA (n = 11)	1,4	5,8*	3,4*	11,6*

* Diferença estatisticamente significativa ao nível de 5% em relação ao grupo dieta-controle.

TABELA 3 – Médias e desvio padrão da quantificação de placa bacteriana segundo índice de QUIGLEY, HEIN¹⁹ modificado, em ratos alimentados com dieta-controle, dieta cariogênica e dieta cariogênica + cenoura

DIETA	QUANTIFICAÇÃO DE PLACA BACTERIANA
CONTROLE (n = 6)	1,16 + 0,396*
CARIOGÊNICA (n = 11)	2,65 + 0,667*
CARIOGÊNICA + CENOURA (n = 11)	2,09 + 0,390*

Obs.: O índice de QUIGLEY e HEIN possui parâmetros de 0 a 5.

* Diferença estatisticamente significativa ao nível de 5%.

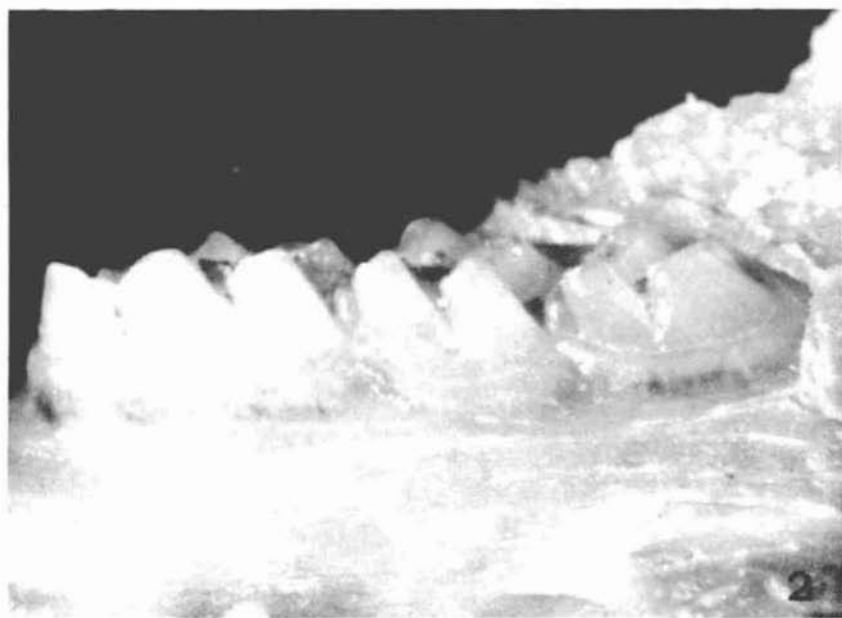


FIG. 1 – Dentes molares de ratos alimentados com dieta cariogênica durante 90 dias. Pode-se observar presença acentuada de placa bacteriana (setas).

FIG. 2 – Dentes molares de ratos alimentados com dieta-controle durante 90 dias.

dispõe a um aumento na quantidade de cárie conforme demonstrado por GEHRING et al⁷, HAMADA, SLADE⁸, MC GHEE et al¹⁶.

Apesar de extratos de cenoura terem a capacidade de aglutinar *S. mutans in vitro*^{1, 20}, nossos resultados demonstraram *in vivo* que contagens de *S. mutans* apresentaram-se diminuídas nos animais em que a cenoura foi adicionada à dieta, porém essa diferença não foi estatisticamente significativa. Esses resultados sugerem que outros fatores intrínsecos da cavidade bucal ou da microbiota devem ter interferido na aglutinação do *S. mutans* pela cenoura. BRATTHALL¹ salienta que uma película da saliva envolvendo os microorganismos podem reduzir, mas não impedir totalmente, a aglutinação do *S. mutans* pela cenoura. Por outro lado, a quantificação de placa bacteriana apresentou-se menor e estatisticamente diferente nos animais que receberam dieta cariogênica + cenoura em relação àqueles que receberam somente dieta cariogênica, independentemente da quantidade de *S. mutans*, o que nos leva a supor que outros microorganismos ou fatores da cavidade bucal possam também estar envolvidos.

CONCLUSÕES

1 – O número de *S. mutans* e a quantidade de placa bacteriana apresentaram aumento significativo nos ratos alimentados com dieta cariogênica e dieta cariogênica contendo cenoura, em relação aos controles.

2 – Não ocorreram alterações significativas nas contagens de *S. mutans* entre os grupos de ratos alimentados com dieta cariogênica e dieta cariogênica contendo cenoura.

3 – A quantidade de placa bacteriana acumulada no grupo alimentado com dieta cariogênica foi maior e significativa em relação aos animais alimentados com dieta cariogênica contendo cenoura.

JORGE, A. O. C. et al. Carrots adsorption of *Streptococcus mutans* – Experimental studies in rats. **Rev. Odont. UNESP**, São Paulo, v. 20, p. 67-74, 1991.

ABSTRACT: The influence of carrot, added to a cariogenic diet, in the amount of dental plaque and number of *S. mutans* was studied in the molar teeth of the rat. Twenty days old rats were divided into three groups and fed with normal powdered diet, cariogenic diet and cariogenic diet containing 18% of carrot. The groups treated with cariogenic diet had a similar increase in the number of *S. mutans* in relation to the control group, independently of containing or not carrot. Animals fed with cariogenic diet containing carrot had more plaque than the controls, nevertheless the plaque index was significantly lower than that found in rats fed with cariogenic diet alone.

KEYWORDS: *Streptococcus mutans*; dental plaque; cariogenic diet.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BRATTHALL, B. *Daucus carota* (carrot) – A selective bacteriosorbent. *Adv. Exp. med. Biol.*, v. 107, p. 327-33, 1978.
2. BRATTHALL, D., KOHLER, B. – *S. mutans* serotypes: some aspects of their identification, distribution, antigenic shifts and relationships to caries. *J. dent. Res.*, v. 55, p. 15-21, 1976.
3. BURNETT, G.M., SCHERP, H.W., SCHUSTER, G.S. *Microbiologia oral e doenças infecciosas*. 4. ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1976, p. 254-56.
4. CARLSSON, J., EGELBERG, J. Effect of diet on early plaque formation in man. *Odont. Rev.*, v. 16, p. 112-25, 1965.
5. FITZGERALD, R.J. Dental caries research in gnotobiotic animals. *Caries Res.*, v. 2, p. 139-46, 1968.
6. FITZGERALD, R.L., KEYES, P.H. Demonstration of the etiologic role of streptococci in experimental caries in the hamster. *J. am. dent. Ass.*, v. 61, p. 9-19, 1960.
7. GEHRING, F., MAKINEN, K.K., LARMAS, M., SHEININ, A. Turku sugar studies. IV. An intermediate report on the differentiation of polysaccharide-forming streptococci (*S. mutans*). *Acta odont. Scand.*, v. 32, p. 435-44, 1974.
8. HAMADA, S., SLADE, H. Biology, immunology and cariogenicity of *S. mutans*. *Microbiol. Rev.*, v. 44, p. 331, 1980.
9. KRASSE, B., CARLSSON, J. Various types of streptococci and experimental caries in hamsters. *Arch. oral Biol.*, v. 15, p. 25, 1970.
10. KRASSE, B. *Risco de cáries – guia prática para controle e assessoramento*. São Paulo: Quintessence, 1986, 113 p.
11. LIMA, J.O., LIMA, M.G.G. *Nos domínios da microbiologia oral*. Salvador: Gráfica Universitária da UFBA, 1981, p. 115-41.
12. LINDLE, J. *Tratado de periodontologia clínica*. Rio de Janeiro: Interamericana, 1985, p. 41-54.
13. LINDLE, J., WICEN, P.O. Effects on the gingiva of chewing fibrous foods. *J. period. Res.*, v. 4, p. 193-201, 1969.
14. LOESCH, W.J., ROWAN, J., STRAFFON, L.H. Association of *S. mutans* with human dental decay. *Infect. Immun.*, v. 11, p. 1252, 1975.
15. LOESCH, W.J., STRAFFON, L.H. Longitudinal investigation of the role of *S. mutans* in human fissure decay. *Infect. Immun.*, v. 26, p. 498, 1979.
16. MC GHEE, J.R., MICHALEK, S.M., CASSEL, G.H. *Dental microbiology*. Philadelphia: Harper e Row, 1982, p. 679-713.
17. MENAKER, L., MORHART, R.E., NAVIA, J.M. *Cáries dentárias – bases biológicas*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1984, p. 262-92.
18. QUERIDO, N.B.G., TELLES, J.C.B., CARVALHO, L.E., ARAÚJO, W.C. Doença periodontal em hamster alimentados com dieta natural M 70. *Rev. bras. Pesq. méd. biol.*, v. 4, p. 5-11, 1971.

19. QUIGLEY, G.A., HEIN, J.W. Comparative cleansing efficiency of manual and power brushing. *J. am. dent. Ass.*, v. 26, p. 26-9, 1962.
20. RAMSTORP, M., CARLSSON, P., BRATTHALL, D., MATIASSON, B. Isolation and partial characterization of a substance from carrots. *Daucus carrota*, with ability to agglutinate cells of *Streptococcus mutans*. *Caries Res.*, v. 16, p. 423-27, 1982.
21. RATEITSCHAK-PLUSS, E.M., GUGGENHEIM, B. Effects of carbohydrate-free diet and sugar substitutes on dental plaque accumulation. *J. clin. Periodontol.*, v. 46, p. 239-51, 1982.
22. SCHAMSCHULA, R.G., KEYES, P.H., HORRABROOK, R.W. Root surface caries in Lufa, New Guinea. I. Clinical observations. *J. am. dent. Ass.*, v. 85, p. 603, 1972.
23. SHEININ, A., MAKINEN, K.K. The effect of various sugars on the formation and chemical composition of dental plaque. *Int. dent. J.*, v. 21, p. 302-21, 1971.
24. SCHROEDER, U., EDWARDSSON, S. Dietary habits, gingival status an occurrence of *Streptococcus mutans* and lactobacilli as predictors of caries in 3-years-old in Sweden. *Community dent. oral Epidemiol.*, v. 15, p. 320-4, 1987.
25. VAN HAUTE, J., UPESLACIS, V.N., JORDAN, H.V., SKOBE, Z., GREEN, D.B. Role of sucrose in colonization of *Streptococcus mutans* in convencional Sprague Drawley rats. *J. dent. Res.*, v. 55, p. 202-15, 1975.
26. WADE, A.B. Effect on dental plaque of chewing apples. *Dent. Pract.*, v. 21, p. 194-6, 1971.
27. ZICKERT, I., EMILSON, C.G., KRASSE, B. *Streptococcus mutans* lactobacilli and dental health in 13-14 years-old Swedish children. *Community dent. oral Epidemiol.*, v. 10, p. 77-81, 1982.

Recebido para publicação em 1/6/1990.