

CONTAGEM DE ESTREPTOCOCOS DO GRUPO MUTANS E LACTOBACILOS EM ESPAÇOS INTERPROXIMAIS DE JOVENS ENTRE 18 e 25 ANOS DE IDADE*

Juliana CAMPOS-JUNQUEIRA**
Antonio Olavo Cardoso JORGE***

- **RESUMO:** O objetivo do presente trabalho foi comparar a quantidade de estreptococos do grupo mutans e de lactobacilos, em espaços interproximais de dentes posteriores, em jovens na faixa etária de 18 a 25 anos. Foram estudados 120 espaços interproximais, classificados em três grupos: 40 sem restaurações (Grupo 1), 40 com uma restauração de Classe II de amálgama (Grupo 2) e 40 com duas restaurações de Classe II de amálgama (Grupo 3). O material do espaço interproximal foi coletado com o auxílio de fio dental esterilizado, o qual foi colocado a seguir em solução de NaCl a 0,85% esterilizada. Após homogeneização, o material foi semeado em placas contendo meio de cultura ágar mitis salivarius, com bacitracina e sacarose, e ágar Rogosa, incubadas a 37°C por 72 horas. A contagem foi realizada observando-se colônias características. As médias do logaritmo do número de ufc/mL de lactobacilos e estreptococos do grupo mutans apresentaram-se em maior número no Grupo 3, seguidas pelas médias dos Grupos 2 e 1. Esse estudo demonstrou que os espaços que apresentam restaurações de Classe II apresentaram risco de recidiva de cárie em relação à microbiota, necessitando, portanto, de medidas preventivas efetivas.
- **PALAVRAS-CHAVE:** Streptococcus mutans; Lactobacillus; espaço interproximal; restauração de amálgama; cárie dentária.

* Trabalho financiado pela FAPESP.

** Departamento de Biopatologia e Diagnóstico – Faculdade de Odontologia de São José dos Campos – UNESP – 12245-000 – São José dos Campos – SP.

*** Departamento de Odontologia – Faculdade de Odontologia – Universidade de Taubaté – UNITAU – 12030-180 – Taubaté – SP.

Introdução

A cárie dentária é uma doença multifatorial, que requer um hospedeiro susceptível, uma microbiota cariogênica e um substrato acidogênico, que deve estar presente na boca por um determinado espaço de tempo e interagindo em condições críticas. Tanto a cárie dentária quanto a doença periodontal são consideradas de alta prevalência, causadoras de dor e desconforto, sendo seu tratamento geralmente bastante oneroso.¹³

A atividade de cárie pode ser interpretada como a velocidade com que a dentição é destruída pela cárie. O risco de cárie descreve até que ponto uma pessoa, em determinada época, corre o risco de desenvolver lesões cáries. A avaliação está baseada na história odontológica, estado atual dos dentes e exames complementares.³

A identificação dos grupos de risco²² tem sido objeto de estudo nos países desenvolvidos de várias regiões do mundo, como Estados Unidos e Europa. Esse processo implica a obtenção de informações sobre o risco de cárie, as quais, dentre outras, envolvem o uso de exames salivares e microbiológicos, que podem ser de grande valor para o diagnóstico, fornecendo informações objetivas, suplementando outros dados e indicando a técnica para o tratamento.³

Os fatores microbiológicos que têm sido estudados dizem respeito, principalmente, ao número de estreptococos do grupo mutans e lactobacilos na placa bacteriana ou na saliva.² O emprego de técnicas microbiológicas na detecção de microrganismos cariogênicos de uma dada população não somente permite o conhecimento dos níveis desses microrganismos bucais num determinado período de tempo, assim como possibilita que sejam detectadas, precocemente, populações com alto risco de cárie, tornando mais favorável a relação custo versus eficiência dos tratamentos preventivos, em termos de saúde pública.³

Streptococos do grupo mutans são as bactérias mais intimamente associadas à cárie dentária em esmalte, sendo responsáveis principalmente pela fase inicial da lesão. Lactobacilos, por não possuírem capacidade de aderência à superfície do dente, associam-se mais com o desenvolvimento subsequente da lesão.¹⁹ Os estreptococos do grupo mutans têm sido fortemente associados com um aumento no risco de cárie quando detectados em alto número na saliva.^{4, 6, 7, 12, 21} O maior número desses microrganismos é encontrado em placa bacteriana de

molares, seguido pelos pré-molares e dentes anteriores. Também, verifica-se uma maior colonização de estreptococos do grupo mutans na face vestibular dos dentes, seguida pelas faces interproximais, oclusal e lingual.¹¹ Segundo Lindquist (Lindquist & Emilson¹⁰), as faces dos dentes com restaurações apresentam-se mais colonizadas por estreptococos do grupo mutans do que as faces sadias.

A contagem de lactobacilos também é utilizada como predictivo de cárie,^{9, 15, 18} e o aumento no número desses microrganismos relaciona-se com risco de cárie e com o consumo freqüente de sacarose.¹⁷

Existe direta relação entre consumo de carboidrato, proporção de estreptococos do grupo mutans e de lactobacilos na placa bacteriana com atividade de cárie.¹⁹ Assim, a partir do exposto, o presente trabalho objetiva correlacionar o número de estreptococos do grupo mutans e de lactobacilos em três tipos de espaços interproximais: espaços sem restaurações, com uma restauração de Classe II de amálgama e com duas restaurações de Classe II de amálgama.

Material e método

Participaram do presente trabalho 29 alunos de graduação da Faculdade de Odontologia, Campus de São José dos Campos – UNESP, nos quais foram observados 120 espaços interproximais, considerando-se três grupos:

- Grupo 1: 40 espaços interproximais sem restaurações.
- Grupo 2: 40 espaços interproximais que apresentaram uma restauração de Classe II de amálgama.
- Grupo 3: 40 espaços interproximais com duas restaurações de Classe II de amálgama.

De cada espaço interproximal foi feita uma tomada radiográfica interproximal para verificação da presença ou não de lesões de cárie. Quando da presença de cárie visível radiograficamente, o espaço interproximal em questão não foi utilizado neste trabalho e o indivíduo foi encaminhado para tratamento. Quando da presença de restaurações, estas apresentavam-se clínica e radiograficamente aceitáveis, não denotando presença de cárie secundária nem excesso de restauração.

Material do espaço interproximal dos pacientes foi coletado com auxílio de fio dental esterilizado em autoclave (121°C / 15 min), previamente demarcado com caneta esferográfica (3 cm). A região delimitada no fio dental foi passada no espaço interproximal, a seguir o fio dental foi cortado com tesoura esterilizada na marca previamente realizada e foi colocado em tubo de ensaio contendo 2 ml de solução de NaCl a 0,85% esterilizada. A seguir, o tubo foi submetido à agitação por 2 minutos (Vortex), visando à obtenção de uma suspensão uniforme, da qual obtiveram-se diluições decimais de 10^{-1} , 10^{-2} e 10^{-3} . Para a semeadura de estreptococos do grupo mutans, alíquotas de 0,1 ml de cada diluição foram depositadas em duplicata em placas de Petri, contendo meio de cultura mitis salivarius (MS, Difco) adicionado de bacitracina (0,2 UI por ml de meio) e de 15% de sacarose. O material depositado foi distribuído uniformemente sobre a superfície do meio de cultura, com auxílio de um bastão de vidro. A seguir, as placas foram incubadas em teor de CO_2 (método da vela) a 37°C por 72 horas.

Para a semeadura de lactobacilos, alíquotas de 0,1 ml da solução pura e das diluições 10^{-1} e 10^{-2} foram colocadas nas placas de Petri correspondentes, a seguir o meio Rogosa, previamente fundido (40 a 45°C), foi adicionado e homogeneizado. As placas foram incubadas a 37°C durante 72 horas.

A observação e contagem das colônias características de estreptococos do grupo mutans foram realizadas sob luz refletida, com o auxílio de um microscópio estereoscópico, seguindo os padrões descritos por Krasse.⁸ A contagem de lactobacilos foi realizada observando-se colônias discóides características.

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância não paramétrica, teste de Kruskal-Wallis, considerando-se diferença significativa quando $p \leq 0,05$.¹⁴

Resultados

As médias do logaritmo do número de ufc/ml de estreptococos do grupo mutans apresentaram-se em maior número no Grupo 3 (4,53), seguidas pelas médias do Grupo 2 (4,04) e do Grupo 1 (2,65). As médias do logaritmo do número de ufc/mL de lactobacilos também apresentaram-se em maior número no Grupo 3 (1,09), seguidas pelas médias dos Grupos 2 (0,79) e 1(0,25), conforme pode ser verificado na Tabela 1.

Tabela 1 – Média e desvio padrão do logaritmo do número de ufc/mL de saliva obtidas nas contagens de estreptococos do grupo mutans e lactobacilos em espaços interproximais nos três grupos estudados (Grupo 1: sem restaurações; Grupo 2: com uma restauração de Classe II de amálgama; Grupo 3: com duas restaurações de Classe II de amálgama)

Microorganismo	Grupo 1 (n = 40)	Grupo 2 (n = 40)	Grupo 3 (n = 40)
Grupo mutans	2,65 ± 1,92*	4,04 ± 0,79	4,53 ± 0,62
Lactobacilos	0,25 ± 0,57**	0,79 ± 0,98	1,09 ± 1,12

* Diferença significativa em relação aos Grupos 2 e 3.

** Diferença significativa em relação ao Grupo 3.

O número de ufc/mL de estreptococos do grupo mutans do Grupo 1 foi menor, com diferença estatística, em relação aos Grupos 2 e 3. O número de ufc/ml de lactobacilos do Grupo 1 apresentou diferença estatística apenas em relação ao grupo 3 (Tabelas 2 e 3).

Tabela 2 – Resultado do teste de comparação múltipla de Dunn entre os Grupos 1, 2 e 3 para os valores de estreptococos do grupo mutans. (Grupo 1: sem restaurações; Grupo 2: com uma restauração de Classe II de amálgama; Grupo 3: com duas restaurações de Classe II de amálgama)

Comparação entre	Z _{calculado}	Z _{crítico} (5%)	Interpretação
Grupo 1 e Grupo 2	(40,1 – 60,7) / 7,8 = 2,6	2,4	Significante
Grupo 1 e Grupo 3	(40,1 – 80,7) / 7,8 = 5,2	2,4	Significante
Grupo 2 e Grupo 3	(60,7 – 80,7) / 7,8 = 2,5	2,4	Significante

Tabela 3 – Resultado do teste de comparação múltipla de Dunn entre os Grupos 1, 2 e 3 para os valores de lactobacilos. (Grupo 1: sem restaurações; Grupo 2: com uma restauração de Classe II de amálgama; Grupo 3: com duas restaurações de Classe II de amálgama)

Comparação entre	Z _{calculado}	Z _{crítico} (5%)	Interpretação
Grupo 1 e Grupo 2	(47,5 – 64,5) / 7,8 = 2,1	2,4	Não-significante

Grupo 1 e Grupo 3	$(47,5 - 69,5) / 7,8 = 2,8$	2,4	Significante
Grupo 2 e Grupo 3	$(64,5 - 69,5) / 7,8 = 0,6$	2,4	Não-significante

Os resultados demonstraram que existe um maior número de lactobacilos e estreptococos do grupo mutans nos espaços interproximais dos molares (molar e pré-molar ou molar e molar) em relação aos espaços interproximais entre dois pré-molares. Na Tabela 4, podemos observar que as médias do logaritmo do número de ufc/mL de estreptococos do grupo mutans apresentaram-se em maior número nos espaços interproximais entre dois molares (3,89) e entre pré-molar e molar (3,86) em relação aos espaços entre dois pré-molares (3,37). As médias do logaritmo do número de ufc/mL de lactobacilos também se apresentaram em maior número nos espaços interproximais entre dois molares (0,87) e entre pré-molar e molar (0,84) em relação aos espaços entre dois pré-molares (0,32).

Tabela 4 – Média e desvio padrão do logaritmo do número de ufc/ml de saliva obtida nas contagens de estreptococos do grupo mutans e lactobacilos em espaços interproximais: entre dois pré-molares, entre dois molares e pré-molar e molar

Microrganismo	PM e PM	PM e M	M e M
Grupo mutans	$3,37 \pm 1,81$	$3,86 \pm 1,38$	$3,89 \pm 1,25$
Lactobacilos	$0,32 \pm 0,74$	$0,84 \pm 1,02$	$0,87 \pm 1,03$

PM: pré-molar; M: molar.

Discussão

A cárie dentária é uma doença que se estabelece na boca bem antes de se manifestar clinicamente sob forma de lesões visíveis. Isso significa que é possível estimar a gravidade da doença cárie em um paciente ou população antes que as lesões de cárie visíveis se desenvolvam.¹

Os métodos microbiológicos devem ser usados para avaliação do risco de cárie em casos individuais e para seleção de grupos de alto risco de cárie. Quando o efeito das medidas preventivas é avaliado por meio de métodos microbiológicos, pode-se conseguir uma redução razoável na incidência de cárie.^{2, 22}

Os resultados deste trabalho demonstraram que os espaços que apresentam restaurações de Classe II de amálgama, possivelmente, estão mais predispostos à recidiva de cárie, pois apresentaram maior número de estreptococos do grupo mutans.

O número de lactobacilos apresentou-se quatro vezes maior nos espaços interproximais com duas restaurações de Classe II de amálgama, em relação ao grupo sem restaurações. Esse resultado é interessante, considerando-se a correlação que existe entre presença de lactobacilos e progressão de lesões de cárie.

Em vários estudos, foi encontrado um maior número de estreptococos do grupo mutans e lactobacilos nas margens das restaurações em relação às superfícies intactas.^{10, 5, 16, 22} Lindquist (Lindquist & Emilsson)¹⁰ demonstrou que a quantidade de estreptococos do grupo mutans e lactobacilos em espaços interproximais de molares é maior do que em pré-molares, resultados semelhantes aos obtidos nesse trabalho.

Este trabalho demonstrou que a presença de restaurações de amálgama (em um ou nos dois dentes) no espaço interproximal favoreceu o aumento no número de lactobacilos e estreptococos do grupo mutans. Desta maneira, o cirurgião-dentista deve proceder a medidas preventivas rigorosas nestes locais, procurando impedir a recidiva de cárie. Outro aspecto a salientar é a conscientização dos pacientes, com ensinamento de métodos adequados de escovação e uso de fio dental nos espaços interproximais, principalmente quando da presença de restaurações.

Conclusão

A partir dos resultados apresentados neste trabalho podemos concluir que:

- o número de estreptococos do grupo mutans e lactobacilos foi maior nos espaços interproximais contendo duas restaurações de Classe II de amálgama, seguidos pelos resultados obtidos nos espaços interproximais que contêm apenas uma restauração e espaços interproximais sem restaurações;

- o número de estreptococos do grupo mutans e lactobacilos em espaços interproximais formados por “molar e molar” e “molar e pré-molar” apresentaram-se semelhantes. Os valores encontrados nesses grupos foram maiores em relação aos espaços interproximais entre dois pré-molares.

Agradecimentos

À Fapesp, pelo auxílio financeiro concedido pelo processo nº 97/12849-6.

CAMPOS-JUNQUEIRA, J., JORGE, A. O. C. Streptococcus mutans and Lactobacillus counting in interproximal spaces in the age group 18 to 25 years old. Rev. Odontol. UNESP (São Paulo), v.28, n.1, p.167-176, 1999.

- **ABSTRACT:** The objective of the present work was to compare the amount of Streptococcus mutans and of Lactobacillus, in interproximal spaces of posterior teeth drawn from the general student population from 18 to 25 years old. For the research, 120 interproximal spaces were classified in three groups: 40 spaces without restorations (group 1), 40 spaces with an amalgam Class II restoration (Group 2) and 40 spaces with two amalgam Class II restorations (Group 3). Interproximal space material was collected with the aid of sterilized dental floss and was later placed in 0,85% NaCl sterilized solution. After homogenizing, the material was soaked in dishes containing mitis salivarius bacitracin Agar and Rogosa Agar culture media and incubated at 37°C for 72 hours. The counting was accomplished by recording only characteristic colonies. The mean averages of the logarithm of the number of Lactobacillus and Streptococcus mutans group ufc/mL was higher for the Group 3 followed by the averages of the Groups 2 and 1. This study demonstrated that the spaces that present Class II restorations showed a risk of recidivating tooth decay in relation to the oral microbiota, therefore, requiring effective preventive measures.
- **KEYWORDS:** Streptococcus mutans; Lactobacillus; interproximal space; amalgam restoration; dental caries.

Referências bibliográficas

- 1 BRATHALL, C., CARLSSON, J. Estado atual dos testes de atividade de cárie. In: THYLSTRUP, A., FEJERSKOV, O. Tratado de cariologia. Rio de Janeiro: Cultura Médica, 1988. p.239-55.
- 2 CROSSNER, C. G. Salivary lactobacillus counts in the prediction of caries activity. *Community Dent. Oral. Epidemiol.*, v.9, p.182, 1981.
- 3 HÖFLING, J. F. Contagens de microorganismos cariogênicos na saliva de escolares da região de Piracicaba. *Rev. Assoc. Paul. Cir. Dent.*, v.46, p.749-52, 1992.
- 4 JORGE, A. O. C. Microbiologia bucal. 2.ed. São Paulo: Ed. Santos, 1998. p.122.
- 5 KIDD, E. A., BEIGHTON, D. Prediction of secondary caries around tooth colored restorations: a clinical and microbiological study. *J. Dent. Res.*, v.75, p.1942-6, 1996.
- 6 KLOCK, B., KRASSE, B. A comparison between different methods for prediction of caries activity. *Scand J. Dent. Res.*, v.87, p.129-39, 1979.
- 7 KOHLER, B., PETERSSON, B. M., BRATTHALL, D. Streptococcus mutans in plaque and saliva and development of caries. *Scand J. Dent. Res.*, v.89, p.19-25, 1981.
- 8 KRASSE, B. Human streptococci and experimental caries in hamsters. *Arch. Oral Biol.*, v.11, p.429-36, 1966.
- 9 _____. Biological factors as indicators of future caries. *Int. Dent. J.*, v.38, p.219-25, 1988.
- 10 LINDQUIST, B., EMILSON, C. G. Distribution and prevalence of streptococci in the human dentition. *J. Dent. Res.*, v.69, p.1160-6, 1990.
- 11 LINDQUIST, B. et al. Relationship between mutans streptococci in saliva and their colonization of the tooth surfaces. *Oral Microbiol. Imunol.*, v.4, p.71-6, 1989.
- 12 LOESHE, W. J., STRAFFON, L. Longitudinal investigation of the role of Streptococcus mutans in human fissure decay. *Infect. Immunn.*, v.26, p.498-507, 1979.
- 13 MALTZ, M. Prevenção de cárie e doença periodontal. In: TOLEDO, O. A. Odontopediatria: fundamentos para a prática clínica. São Paulo: Panamericana, 1986. cap.7 , p.111-30.
- 14 NOETHER, G. E. Introdução à estatística: uma abordagem não-paramétrica. 2.ed. Rio de Janeiro: Guanabara, 1983. p.156-8.
- 15 OLILA, P. et al. Risk factors for colonization of salivary lactobacilli and candida in children. *Acta Odontol. Scand.*, v.55, p.9-13, 1997.
- 16 PETTI, S., et al. Restoration related salivary Streptococcus mutans level a dental caries risk factor? *J. Dent.*, v.25, p.257-62, 1997.

- 17 PIENIHAKKINEN, K., SCHEININ, A., BANOCZY, J. Screening of caries in children through salivary lactobacilli and yeasts. *Scand. J. Dent. Res.*, v.95, p.397-404, 1987.
- 18 STECKSÉN-BLICKS, C. Salivary counts of lactobacilli and *Streptococcus mutans* in caries prediction. *Scand. J. Res.*, v.93, p.204-12, 1985.
- 19 VAN HOUTE, J. Role of micro-organisms in caries etiology. *J. Dent. Res.*, v.73, p.672-81, 1994.
- 20 WALLMAN, C., KRASSE, B. A simple method for monitoring mutans streptococci in margins of restorations. *J. Dent.*, v.21, p.216-9, 1993.
- 21 ZICKERT, I., EMLSON, C. G., KRASSE, B. O. Effect of caries preventive measures in children highly infected with the bacterium *Streptococcus mutans*. *Arch. Oral Biol.*, v.27, p.861-8, 1982.
- 22 _____. Correlation of level and duration of *S. mutans* infection. *Infect. Immun.*, v.39, p.982, 1983.