

PRODUÇÃO DE ÁCIDO IN VITRO
POR *Streptococcus mutans* E CORRELAÇÃO
COM A EXPERIÊNCIA DE CÁRIE

Guilherme Dias PATTO*

Mariko UENO*

Cristiane Yumi KOGA-ITO**

Antonio Olavo Cardoso JORGE*,**

- **RESUMO:** O objetivo do presente trabalho foi comparar a produção de ácido por cepas de *Streptococcus mutans* isoladas de crianças livres de cáries e de crianças que apresentavam CPOD maior ou igual a 1,0. Coletou-se saliva de cada criança e a partir dela realizou-se a contagem de estreptococos do grupo mutans e a seguir isolamento de amostras de *S. mutans*. Em 45 amostras de *S. mutans* isoladas nas crianças dos dois grupos, verificou-se a produção de ácidos pela fermentação de sacarose, realizando-se titulação do sobrenadante do meio de cultura, após incubação pelo período de 24 horas a 37°C. Os resultados foram expressos em mM de ácido e os dados foram analisados estatisticamente pelo teste t de Student. Não foi observada diferença estatisticamente significativo ($p \leq 0.05$) para a produção de ácido pelas cepas de *Streptococcus mutans* isoladas dos dois grupos.
- **PALAVRAS-CHAVE:** Estreptococos bucais; estreptococos do grupo mutans; produção de ácido; *Streptococcus mutans*.

* Departamento de Odontologia – Faculdade de Odontologia – Universidade de Taubaté – UNITAU – 12020-270 – Taubaté – SP.

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

Introdução

Existe vasta literatura discutindo e correlacionando estreptococos do grupo mutans com a doença cárie. Segundo Saramanayake,¹⁹ as evidências do papel do *Streptococcus mutans* com cárie dentária incluem as características a seguir: 1) existência de correlação entre contagem de *S. mutans* da saliva e da placa bacteriana com a prevalência e incidência de cárie; 2) isolamento freqüente de *S. mutans* de superfícies dentárias antes do início de lesões de cárie; 3) existência de correlação entre progressão de lesões de cárie e contagem de *S. mutans* na saliva e na placa bacteriana; 4) produção de polissacarídeos extracelulares a partir da sacarose pela maioria de cepas isoladas, os quais podem atuar como reserva de carboidratos; 5) produção de lesões de cárie mais efetivamente em estudos com animais do que outros microrganismos isolados da cavidade bucal; 6) habilidade em manter o crescimento e continuar a produzir ácidos em baixos valores de pH; 7) metabolização rápida de açúcares produzindo ácido láctico e outros ácidos orgânicos; 8) habilidade de atingir valores de pH considerados críticos para desmineralização do esmalte, mais rapidamente que outras bactérias da placa bacteriana; e, 9) realizar imunização de animais com *S. mutans* reduz significativamente a incidência de cárie.

S. mutans estão associados aos processos de desmineralização do dente por apresentarem, como discutido acima, um conjunto de características de virulência que facilitam a sua permanência na placa bacteriana, podendo levar à perda de tecidos mineralizados do dente. Por outro lado, independentemente do risco à cárie, os estreptococos do grupo mutans encontram-se sempre presentes nas superfícies dentárias. Lindquist & Emilson¹³ encontraram estreptococos do grupo mutans em 40% das superfícies dentárias examinadas, em seres humanos.

Schröder & Edwardson²¹ demonstraram a importância de contagem salivar de estreptococos do grupo mutans, bem como a de lactobacilos, com relação à predisposição ou risco do paciente em apresentar cárie. Pacientes com elevadas contagens de estreptococos do grupo mutans (números maiores que 10^6 UFC/mL saliva) e lactobacilos (números maiores que 10^3 UFC/mL saliva) apresentam elevado risco à cárie. Anderson et al.¹ consideram pacientes de alto risco aqueles que apresentam mais de 10^5 UFC/mL de células de estreptococos do grupo mutans na saliva.

Diversos autores mostraram os efeitos da sacarose na proporção de *S. mutans* em seres humanos, correlacionando sempre uma maior

contagem destas bactérias em indivíduos que apresentam dieta rica em carboidratos (Gustafsson et al.⁵ Keyes¹⁰ Michalek et al.¹⁶ Makinen;¹⁵ Scherp²⁰). Os estreptococos do grupo mutans apresentam metabolismo fermentativo e produzem ácidos a partir de diversos carboidratos, principalmente a sacarose. A produção de ácido in vivo por estreptococos do grupo mutans foi demonstrada por Navia & Lopez,¹⁷ em experimento com ratos e dieta rica em sacarose.

Segundo Loesche,¹⁴ a maior parte da sacarose utilizada pelo *S. mutans* resulta na geração de ATP e ácido láctico através da via glicolítica. A produção de ácido por amostras de *S. mutans*, podem ser influenciadas por condições ambientais, como pH (Concha et al.²), temperatura e tensão de O₂. *S. mutans* produzem uma quantidade maior de formato e acetato em meio de cultura com sacarose e pH 7,0, e quando o pH do meio diminui para pH 5,5 as amostras de *S. mutans* produzem uma quantidade maior de lactato, produzindo menores concentrações de acetato e formato (Soet et al.²² Iwami et al.⁹ Dashper & Reynolds³ Harper & Loesche⁸).

Hamilton & Svensäter⁶ demonstraram que, quando se expõe uma cepa de *S. mutans* mantida a pH 7,5 ao pH 5,5, esta cepa altera sua produção protéica, produzindo 36 proteínas ácido reguladoras. Essas proteínas aumentam o potencial acidúrico do microrganismo, elevando assim a resistência aos ácidos presentes no meio.

O objetivo deste trabalho foi verificar se existem diferenças na produção de ácido por diferentes cepas de *S. mutans* isolados de crianças que apresentavam lesões de cárie e de crianças livres da doença cárie.

Material e método

Participaram do presente estudo 45 crianças, divididas em dois grupos:

Grupo I – Crianças com cárie: constituído por 25 crianças com idades entre 3 e 12 anos (média 6,36 ± 1,80), sendo 44% do sexo masculino e 56% do feminino. As crianças pertenciam a creches, instituições localizadas na cidade de São José dos Campos. Apresentavam ausência de lesões nas mucosas bucais e índice ceo-d e/ou CPOD maior ou igual a 1,0.

Grupo II – Crianças livres de cárie: constituído por vinte crianças com idades entre 3 e 12 anos (média 5,75 ± 1,37), sendo 65% do sexo masculino e 35% do feminino, com ausência de lesões bucais e índice

ceo-d e/ou CPOD igual a zero. As crianças freqüentavam o Centro de Convivência Infantil “Dente de Leite” e a E.E.E.I. “Melvin Jones”, localizadas na cidade de São José dos Campos.

Elas foram examinadas clinicamente, utilizando-se espelho clínico e explorador n.5 esterilizados, e os índices CPOD ou ceo-d foram anotados em ficha própria. Foram coletadas amostras de saliva das crianças, após estimulação com goma de mascar sem sabor, em cálices esterilizados, e a seguir as amostras foram acondicionadas em tubos de ensaio esterilizados, mantidos em gelo e processados no máximo três horas após a coleta. Os passos seguidos para identificação de *S. mutans* e produção de ácido pelas amostras isoladas estão esquematizados na Figura 1.

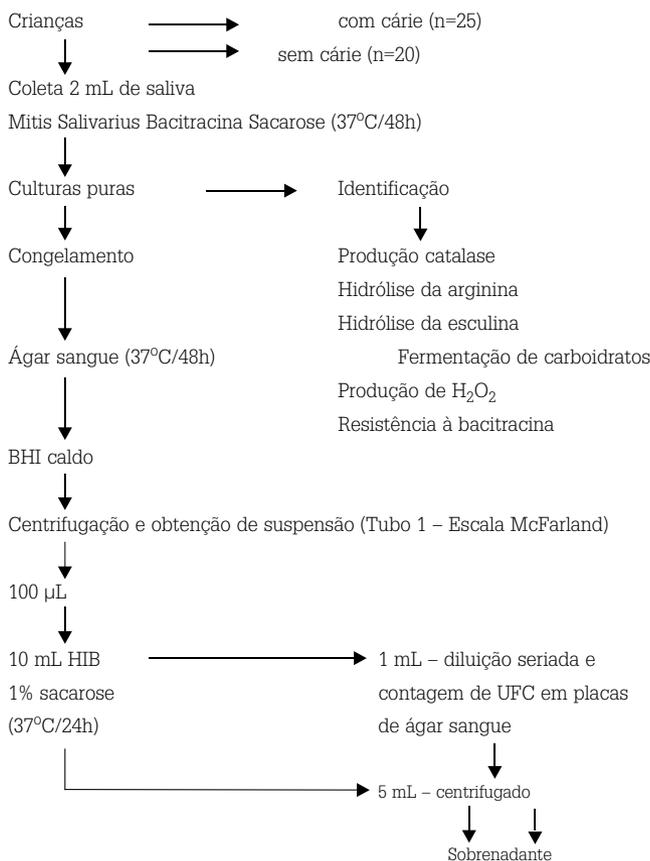


FIGURA 1 – Fluxograma dos passos laboratoriais realizados para obtenção da quantidade de UFC/mL de microrganismos e do volume de NaOH obtidos.

Contagem de estreptococos do grupo mutans da saliva

Amostras de saliva foram diluídas em solução de NaCl a 0,85% esterilizada, obtendo-se as diluições 10^{-1} , 10^{-2} e 10^{-3} . A partir da saliva pura e de cada diluição, foi semeado 0,1 mL, em duplicata, em placas de Petri contendo meio Ágar Mitis Salivarius (Difco) adicionando 0,02 UI de bacitracina (Sigma) e 15% de sacarose (Difco). Após a incubação por 72 horas a 37°C em estufa de CO₂ (5%), as colônias características de estreptococos do grupo mutans foram contadas nas placas que apresentavam de 30 a 300 colônias. A interpretação do risco de cárie foi realizada considerando-se alto risco à cárie pacientes que apresentaram contagens acima de 10⁵ unidades formadoras de colônia de estreptococos do grupo mutans por mL de saliva (UFC/mL).

Isolamento e identificação de *Streptococcus mutans*

A partir das colônias características de estreptococos do grupo mutans foram realizados esfregaços e corados pelo método de Gram e quando, na microscopia, foram observados cocos Gram positivos em cadeia, as colônias foram transferidas para caldo infusão de cérebro e coração (BHI, Difco), seguindo-se a incubação a 37°C por 24 horas sob tensão de CO₂. Após o período de incubação, 1,0 mL da cultura de 24 horas foi transferido para tubos contendo 1,0 mL de leite em pó desnatado (Molico), esterilizado e congelado (-10°C). A identificação bioquímica das culturas puras foi realizada através de produção da enzima catalase, hidrólise da esculina e arginina, fermentação de carboidratos (manitol, sorbitol, rafinose e melibiose), produção de peróxido de hidrogênio e resistência à bacitracina. A interpretação das provas foi feita baseando-se em Hardie.⁷ Para controle das reações utilizou-se cepa padrão de *Streptococcus mutans* (UFRJM 6780034) e *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923).

Foram utilizadas 45 cepas de *S. mutans*, as quais foram divididas em dois grupos, de acordo com a procedência de isolamento. Vinte amostras foram isoladas de pacientes livres de lesões de cárie e 25 de pacientes com cárie.

Produção de ácido por cepas de *S. mutans*

Para se avaliar a produção de ácidos por *S. mutans*, as cepas inicialmente isoladas foram descongeladas e repicadas em placas contendo ágar sangue e incubadas a 37°C por 48 horas em tensão de CO₂. Após o crescimento, as colônias foram repicadas em tubos contendo 5,0 mL de meio BHI caldo (Difco) e incubadas a 37°C por 24 horas em tensão de CO₂. O conteúdo desses tubos foi centrifugado (Fanem, modelo 28N) a 7.000 G por dez minutos. O sobrenadante foi desprezado e as células do precipitado foram suspensas em solução de NaCl a 0,85% esterilizada, e ajustadas ao tubo número 1 da escala de McFarland.

Dessa amostra, 100 µL foram semeados em tubos contendo 10 mL de meio HIB (Difco) acrescidos de 1% de sacarose (Difco) e solução de púrpura de bromocresol 1,6% na proporção de 0,1 mL para cada 100,0 mL do meio de cultura e as cepas de *S. mutans* foram incubadas a 37°C por 24 horas em tensão de CO₂. Após o crescimento bacteriano, as culturas foram agitadas em Vortex (Phoenix AP 56) por trinta segundos. Foi retirado 1,0 mL do meio contendo microrganismos e foi feita diluição seriada em tubos contendo 9,0 mL de solução de NaCl a 0,85% até a diluição 10⁻⁷. A seguir a semeadura foi realizada semeando-se em 0,1 mL das diluições 10⁻⁷ a 10⁻³ em placas de Petri contendo ágar sangue, em duplicata. As placas foram incubadas a 37°C por 48 horas em tensão de CO₂. Após o crescimento foi feita a contagem de UFC/mL nas placas que continham de 30 a 300 colônias.

Com o restante do crescimento bacteriano nos tubos contendo HIB (Difco) com 1% de sacarose (Difco) foi transferido 5,0 mL para tubo de centrifugação. O sobrenadante foi separado em duas alíquotas de 2,0 mL que foram tituladas com NaOH 0,01 N. A partir do volume obtido na titulação com o NaOH, a quantidade de ácido produzido pelas cepas de *S. mutans* foi calculada pelo Princípio da Equivalência de acordo com a seguinte fórmula: $e_1 = N \times V(L)$

Os resultados da quantidade de ácido foram expressos em mM de ácido para 10⁶ células.

Análise Estatística

Os dados foram analisados estatisticamente pelo teste t de Student para comparação entre médias, considerando-se diferenças significativas quando $p \leq 0,05$.

Resultados

A contagem de estreptococos do grupo mutans para o grupo de crianças que apresentavam CPOD diferente de zero está exposta na Tabela 1. Pode-se verificar nos resultados apresentados nessa tabela que a contagem de estreptococos do grupo mutans presentes na saliva dos indivíduos demonstrou 15 crianças (60%) consideradas como pacientes de alto risco à cárie. Na Tabela 2, cinco indivíduos (25%) foram classificados como pacientes de alto risco à cárie, segundo a contagem de estreptococos do grupo mutans (superiores a 10^5 UFC/mL saliva, Anderson et al.¹).

A Tabela 3 mostra a produção de ácido para as amostras isoladas do Grupo I (crianças que apresentavam cáries, n=25). As quantidades de ácido em mM produzidos por 1 milhão de células de *S. mutans* apresentaram média de $28,74 \pm 5,35$. A Tabela 4 mostra a produção de ácido para as amostras isoladas do Grupo II (crianças que não apresentavam cáries, n=20). As quantidades de ácido em mM produzidas por 1 milhão de células de *S. mutans* apresentaram média de $28,37 \pm 5,76$.

Na Tabela 5, observamos as médias e desvio-padrão dos dados obtidos com o Grupo I (crianças com cárie) e com o Grupo II (crianças livres de cárie) para a idade, o índice de CPOD e contagem do número de estreptococos do grupo mutans da saliva. Podemos observar, nessa tabela, que a quantidade de ácido total produzido considerando-se 10^3 células, assim como os resultados de mM de ácido para 10^6 células, foi semelhante para os dois grupos.

Tabela 1 – Contagem de estreptococos do grupo mutans da saliva (log UFC/mL) de crianças com CPOD diferente de zero (Grupo I, n=25)

Grupo I	Sexo	Idade	CPOD	Log UFC/mL
1	F	8	6	6,68*
2	F	6	4	4,48
3	F	5	3	4,99
4	F	5	8	6,54*
5	F	6	2	5,46*
6	F	5	2	5,76*

Continuação

Grupo I	Sexo	Idade	CPOD	Log UFC/mL
7	F	6	2	4,69
8	F	3	5	5,36*
9	M	6	10	6,42*
10	M	5	7	5,23*
11	M	5	6	3,68
12	M	8	4	5,70*
13	M	5	4	6,55*
14	M	6	4	5,19*
15	M	7	5	5,72*
16	M	6	7	4,82
17	M	5	1	4,85
18	M	10	7	5,11*
19	F	9	6	4,76
20	F	6	3	3,95
21	F	11	5	5,83*
22	F	6	4	5,20*
23	F	7	7	3,60
24	F	8	8	5,85*
25	M	5	6	4,34
Médias		6,36	5,04	4,48
Desvio Padrão		1,80	2,23	0,52

* Indivíduo com alta atividade de cárie em relação à contagem de estreptococos do grupo mutans, considerando-se como parâmetro 10^5 UFC/mL saliva

Tabela 2 – Contagem de estreptococos do grupo mutans isolados da saliva (log UFC/mL) de crianças com CPOD igual a zero (Grupo II, n=20)

Grupo II	Sexo	Idade	CPOD	Log UFC/mL
1	F	5	0	5,41*
2	F	5	0	5,31*

Continuaça

Grupo II	Sexo	Idade	CPOD	Log UFC/mL
3	F	5	0	5,65*
4	F	6	0	4,93
5	M	8	0	4,40
6	M	7	0	4,79
7	M	6	0	4,83
8	M	6	0	3,85
9	M	6	0	4,03
10	M	6	0	4,50
11	M	5	0	3,88
12	F	5	0	4,95
13	M	5	0	5,38*
14	M	5	0	4,26
15	F	6	0	4,65
16	F	4	0	3,54
17	M	5	0	3,83
18	M	4	0	4,39
19	M	10	0	4,30
20	M	6	0	5,08*
Médias		5,75	0,00	4,34
Desvio Padrão		1,37	0,00	0,44

* Indivíduo com alta atividade de cárie em relação à contagem de estreptococos do grupo mutans, considerando-se como parâmetro 10^5 UFC/mL saliva

Tabela 3 – Número de *S. mutans* (Log UFC/mL), volume de NaOH 0,01M utilizado na titulação da amostra, produção de ácido total e mM de ácido para 10^6 células (mM/ 10^6 células) para cepas isoladas de crianças com CPOD diferente de zero (n=25)

Grupo I	Log UFC/mL	NaOH (mL)	Ácido total X 10^3	MM/ 10^6 células
1	7,93	5,70	28,5	21,56

Continuação

Grupo I	Log UFC/mL	NaOH (mL)	Ácido total X10 ³	mM/10 ⁶ células
2	6,81	4,80	24,00	21,15
3	7,60	5,00	25,00	19,74
4	6,48	5,60	28,00	25,93
5	7,39	6,15	30,75	24,97
6	5,93	7,10	35,50	35,92
7	5,54	5,70	28,50	30,87
8	6,62	7,05	35,25	31,95
9	5,98	6,85	34,25	34,36
10	5,37	6,55	32,75	36,59
11	6,56	5,15	25,75	23,55
12	7,13	5,50	27,50	23,14
13	6,76	6,05	30,25	26,87
14	6,05	7,50	37,50	37,19
15	6,91	6,35	31,75	27,57
16	5,69	5,10	25,50	26,89
17	6,13	6,85	34,25	33,52
18	5,96	6,30	31,50	31,71
19	6,57	6,85	34,25	31,28
20	6,92	6,80	34,00	29,48
21	5,57	7,25	36,25	39,05
22	7,15	6,35	31,75	26,64
23	7,29	6,95	34,75	28,60
24	6,96	5,65	28,25	24,35
25	6,08	5,20	26,00	25,66
Médias	6,54	6,17	30,87	28,74
Desvio Padrão	0,69	0,79	3,96	5,35

Tabela 4 – Número de *S. mutans* (Log UFC/mL), volume de NaOH 0,01M utilizado na titulação da amostra, produção de ácido total e mM de ácido para 10⁶ células (mM/10⁶ células) para cepas isoladas de crianças livres de cárie (n=20)

Continuaça

Grupo I	Log UFC/mL	NaOH (mL)	Ácido total X10 ³	MM/10 ⁶ células
1	6,60	5,20	26,00	23,64
2	5,72	6,25	31,25	32,78
3	5,67	5,15	25,75	27,25
4	6,83	6,35	31,75	27,89
5	6,65	5,05	25,25	22,78
6	5,83	6,10	30,50	31,39
7	6,92	7,20	36,00	31,21
8	6,65	4,40	22,00	19,85
9	7,67	3,95	19,75	15,45
10	5,84	6,15	30,75	31,59
11	5,90	7,35	36,75	37,37
12	7,54	5,90	29,50	23,47
13	5,94	6,05	30,25	30,56
14	6,80	5,60	28,00	24,71
15	6,73	6,15	30,75	27,41
16	6,09	5,90	29,50	29,06
17	5,73	7,25	36,25	37,96
18	6,57	5,80	29,00	26,48
19	5,69	6,90	34,50	36,38
20	6,15	6,20	31,00	30,24
Médias	6,38	5,95	29,73	28,37
Desvio Padrão	0,61	0,89	4,46	5,76

Tabela 5 – Médias e desvio-padrão da idade, CPOD, contagem de estreptococos do grupo mutans da saliva, produção de ácido total e mM de ácido produzido por 10⁶ células das cepas de S. mutans isoladas considerando-se os dois grupos estudados

	Grupo I Crianças com cárie (n=25)	Grupo II Crianças livres de cárie (n=20)
--	---	--

Idade	6,36 ± 1,80	5,75 ± 1,37
CPOD	5,04 ± 2,23	0,00 ± 0,00
Log UFC/mL estreptococos do grupo mutans da saliva	4,48 ± 0,52	4,34 ± 0,44
Ácido total produzido (10 ³ células)	29,73 ± 4,46	30,87 ± 3,96
MM de ácido para 10 ⁶ células de <i>S. mutans</i>	28,37 ± 5,76	28,74 ± 5,35

Não foram encontradas diferenças significativas entre os grupos, exceto no índice CPOD

Discussão

Os estreptococos do grupo mutans são considerados agentes etiológicos primários da cárie (Köhler et al.,¹² Emilson et al.⁴) e a contagem desses microrganismos da saliva é utilizada como auxiliar no diagnóstico do risco de cárie do paciente. Existe comprovada correlação entre números elevados de estreptococos do grupo mutans da saliva e a alta atividade de cárie (Newbrun;¹⁸ Van Houte²³).

Os parâmetros para a avaliação do número de estreptococos do grupo mutans são bastante variáveis. Podem-se encontrar na literatura valores distintos propostos para se considerar uma elevada contagem de estreptococos do grupo mutans da saliva. Klock & Krasse¹¹ demonstraram que indivíduos com alta atividade de cárie apresentam uma contagem salivar de estreptococos do grupo mutans igual ou maior que 10⁶ células por mL de saliva. Para esses autores, indivíduos com contagens inferiores a 250.000 estreptococos do grupo mutans por mL de saliva apresentam baixo risco de desenvolver cáries. Anderson et al.¹ consideraram pacientes de alto risco aqueles que apresentam mais de 100.000 (10⁵) UFC/mL de células na saliva. Confrontando esses dados propostos por Anderson com os resultados obtidos para as contagens de estreptococos do grupo mutans da saliva dos indivíduos participantes deste estudo, pode-se encontrar um maior número de pacientes com contagens elevadas no grupo de crianças que apresentavam cáries (60%) do que no grupo de crianças livres de cáries (25%). Essa diferença faz que se observe que os dois grupos não tinham somente o índice de CPOD e/ou ceo-d como diferenças, mas também maior número de crianças con-

sideradas de alto risco à cárie, pois apresentavam mais de 10^6 UFC de estreptococos do grupo mutans por mL de saliva.

Apesar de existirem diferenças entre a concentração de açúcar (principalmente a sacarose) e a qualidade (tipo do carboidrato) e quantidade de ácido produzido por estreptococos tanto in vitro como in vivo (Loesche¹⁴) o presente estudo não mostrou diferença estatisticamente significativa quando os dados foram submetidos ao teste t de Student ($p \leq 0,05$) entre as amostras de *S. mutans* dos dois grupos (crianças com e sem cáries) em uma condição de elevada concentração de açúcar (1% de sacarose) pelo período de 24 horas, indicando não ser a produção de ácido in vitro o principal parâmetro para se avaliar o risco à cárie.

Apesar de terem sido observadas variações entre amostras de um mesmo grupo, as médias para cada grupo não foram estatisticamente diferentes. Os resultados foram expressos em mM por um milhão de células (10^6) para se demonstrar a idéia dessa quantidade de células considerada como contagem indicativa de alto risco à cárie (Klock & Krasse¹¹) produzindo ácido na saliva e na placa bacteriana. Todas as amostras ao final do experimento chegaram a um valor de pH $4,0 \pm 0,12$, valor este muito próximo ao pk (3,86) do ácido láctico. Isto não significa obrigatoriamente que os indivíduos tinham microrganismos metabolicamente semelhantes, mas que nas condições em que foram realizados os experimentos deste trabalho todas as amostras atingiram um pH final semelhante, pois este pH sendo muito próximo do pk do ácido láctico é um pH tamponante.

Conclusões

Os resultados do presente trabalho permitem inferir as seguintes conclusões.

- o grupo de crianças com lesões de cárie na cavidade bucal apresentou maior número de indivíduos com contagens de estreptococos do grupo mutans indicativas de alta atividade de cárie (60%) em relação aos indivíduos livres de cáries (25%);
- em experimento in vitro com 1% de sacarose e por um período de incubação de 24 horas, as amostras de *S. mutans* isoladas de indivíduos com cáries, bem como as amostras isoladas dos indivíduos que não apresentavam cáries, apresentam um metabolismo da sacarose

semelhante, quando analisados em grupo, produzindo ácido em quantidades semelhantes;

- quando se analisam individualmente as amostras isoladas nas condições acima citadas, verifica-se uma grande variação na quantidade de ácido produzida por diferentes amostras, isoladas de indivíduos diferentes, mas do mesmo grupo.

PATTO, G. D. et al. Production of acid in vitro by *Streptococcus mutans* samples and caries risk. *Rev. Odontol. UNESP (São Paulo)*, v.28, n.2, p.329-343, 1999.

- **ABSTRACT:** The goal of the present work was to compare the production of acid by *Streptococcus mutans* samples isolated in both caries-free children (Group II) and children with at least one tooth decay (Group I). Saliva was collected from each child, mutans group streptococci counts were made and the samples were isolated for posterior identification. In 45 *Streptococcus mutans* samples it was verified the production of acid by sucrose fermentation and the culture's supernatant was titled after 24 h incubation. The results were expressed in mM of acid and the data were statistically analyzed by Student's t test ($p \leq 0,05$). It was not observed a statistically significant difference for the acid production by *Streptococcus mutans* isolated from the two groups.
- **KEYWORD:** Acid production; oral streptococci; mutans group streptococci; *Streptococcus mutans*.

Referências bibliográficas

- 1 ANDERSON, M. H., BALES, D. J., OMNELL, K. Modern management of dental caries: the cutting edge is not dental bur. *J. Dent. Am. Assoc.*, v.124, p.37-44, 1993.
- 2 CONCHA, M. L. et al. Initial pH as a determining factor of glucose consumption and lactic and acetic acid production in oral streptococci. *Microbios*, v.87, p. 207-16, 1996.
- 3 DASHPER, S. G., REYNOLDS, E. C. pH regulation by *Streptococcus mutans*. *J. Dent. Res.*, v.71, p.1159-65, 1992.
- 4 EMILSON, C. G. et al. Support for and implications of the specific plaque hypothesis. *Scand. J. Dent. Res.*, v.93, p.96-104, 1989.
- 5 GUSTAFSSON, B. E. et al. The Vipeholm dental caries study. The effect of different levels of carbohydrate intake on caries activity in 436 individuals observed for five years. *Acta Odontol. Scand.*, v.11, p.232-64, 1954.

- 6 HAMILTON, I. R., SVENSÅTER, G. Acid-regulated proteins induced by *Streptococcus mutans* and other oral bacteria during acid shock. *Oral Microbiol. Immunol.*, v.13, p.292-300, 1998.
- 7 HARDIE, J. M. Genus *Streptococcus*. Rosenbach 1984. In: *Bergey's manual of systematic bacteriology*. Baltimore, Williams & Wilkins, 1986. v.2, p.1266-76.
- 8 HARPER, D. S., LOESCHE, W. J. Effect of pH upon sucrose and glucose catabolism by the various genogroups of *Streptococcus mutans*. *J. Dent. Res.*, v.6, p.526-31, 1993.
- 9 IWAMI, Y. et al. Acid production by streptococci growing at low pH chemostat under anaerobic conditions. *Oral Microbiol. Immunol.*, v.7, p.304-8, 1992.
- 10 KEYES, P. Research in dental caries. *J. Am. Dent. Assoc.*, v.63, p.1357-73, 1968.
- 11 KLOCK, B., KRASSE, B. Effect of caries-preventive measures in children with high numbers of *S. mutans* and *Lactobacilli*. *Scand J. Dent. Res.*, v.86, p.221-30, 1978.
- 12 KÖHLER, B., ANDRÉEN, I., JONSON, B. The earlier colonization by *mutans streptococci*: the higher the caries prevalence at 4 years of age. *Oral Microbiol. Immunol.*, v.3, p.14-7, 1988.
- 13 LINDQUIST, B., EMILSON, C. G. Distribution and prevalence of *mutans streptococci* in human dentition. *J. Dent. Res.*, v.69, p.1160-6, 1990.
- 14 LOESCHE, W. J. Metabolismo dos carboidratos pelos microrganismos da placa. In: *Cárie Dentária: uma infecção tratável*. Rio de Janeiro: Cultura Médica, 1993. cap.9.
- 15 MAKINEN, K. K. The role of sucrose and other sugars in the development of dental caries: a review. *Int. Dent. J.*, v.22, p.363-86, 1972.
- 16 MICHALEK, S. M., MCGHEE, J. R., SHIOTA, T., DEVENYNS, D. Low sucrose levels promote extensive *Streptococcus mutans*-induced dental caries. *Infect. Immunol.*, v.16, p.712-14, 1977.
- 17 NAVIA, J. M., LOPEZ, H. Rat Caries Assay of Reference Foods and Sugar-containing Snacks. *J. Dent. Res.*, v.62, p.893-98, 1983.
- 18 NEWBRUN, E. Preventing dental caries: breaking the chain of transmission. *J. Am. Dent. Assoc.*, v.123, p.55-9, 1992.
- 19 SARAMANAYAKE, L.P. Microbiology of dental caries. In: *Essential microbiology for dentistry*. New York: Churchill Livingstone, 1996. p.275-81.
- 20 SCHERP, H. W. Dental caries: prospects for prevention. *Science*, v.173, p.1199-205, 1971.
- 21 SCHRÖDER, U., EDWARDSON, S. Dietary habits, gingival status and occurrence of *Streptococcus mutans* and *lactobacilli* as predictors of caries in 3-years-old in Sweden. *Community Dent. Oral Epidemiol.*, v.15, p.320-24, 1987.

- 22 SOET, J. J. et al. Acidogenesis by oral streptococci at different pH values. *Caries Res.*, v.23, p.14-7, 1989.
- 23 VAN HOUTE, J. Role of microorganisms in caries etiology. *J. Dent. Res.*, v.73, p.672-81, 1994.