

QUANTIFICAÇÃO DE *Streptococcus mutans* EM AMOSTRAS DE SALIVA DE PACIENTES COM CAVIDADES CARIOSAS

QUANTIFICATION OF *Streptococcus mutans* IN SALIVA SAMPLES OF PATIENTS WITH CARIOUS CAVITIES

GUILHERME PEREIRA DO NASCIMENTO¹, ÉRICA VIEIRA BARBOSA², SILENO CÔRREA BRUM³, LIDIANE CASTRO SOARES^{3*}

1. Acadêmico do curso de graduação do curso de Odontologia da Universidade Severino Sombra; 2. Técnica de Laboratório da Universidade Severino Sombra; 3. Professor Doutor, Curso de Odontologia da Universidade Severino Sombra.

* Avenida Expedicionário Oswaldo Almeida Ramos 280, Vassouras, Rio de Janeiro, Brasil. CEP: 27.700-000. lidianecastrosoares@gmail.com.br

Recebido em 22/05/2017. Aceito para publicação em 09/06/2017

RESUMO

A cárie é uma doença multifatorial, vinculada a fatores do hospedeiro e relacionada à questões como dieta, higiene bucal e tempo. Observa-se ainda que a presença de certos tipos de microrganismos e as suas atividades bioquímicas na superfície dental possui grande influência para o seu desenvolvimento. Trata-se de um problema de saúde pública que atinge praticamente toda a população brasileira. *Streptococcus mutans* é uma bactéria presente na cavidade bucal que tem íntima relação com a doença cárie, colonizando a superfície dentária e com sua capacidade acidogênica e acidúrica, provoca uma descalcificação do esmalte dentário. Sabe-se que o aumento da incidência da cárie é determinado pelo aumento dos *Streptococcus* do grupo *mutans*. Desta forma, a quantificação de *Streptococcus mutans* é uma ferramenta importante na predição do risco de desenvolvimento da cárie. O presente trabalho teve como objetivo quantificar *Streptococcus mutans* a partir de amostras de saliva de pacientes com e sem cárie.

Foram coletadas 22 amostras de saliva, sendo 7 amostras de pacientes sem lesão cariosa e 15 amostras de pacientes com cárie e realizado o procedimento padrão de contagem em placas. O exame clínico evidenciou a presença de lesões cariosas em 68,18% (15/22) dos pacientes avaliados. Pacientes sem cárie apresentaram contagem de *S. mutans* inferior (10^4) aos pacientes com cárie. Em todos os indivíduos com lesão cariosa, os resultados da quantificação de *Streptococcus mutans* evidenciaram valores consideráveis deste microrganismo. Assim, os indivíduos foram classificados como pertencentes a um grupo de indivíduos *mutans* milionários, com presença de mais de 10^6 UFC/mL de saliva.

PALAVRAS-CHAVE: Cárie, saliva, *Streptococcus mutans*.

ABSTRACT

Caries is a multifactorial disease, linked to factors of the host and related to issues such as diet, oral hygiene and time. It should also be noted that the presence of certain types of microorganisms and their biochemical activities on the dental surface have a great influence on their development. This is a

public health problem that affects practically the entire Brazilian population. *Streptococcus mutans* is a bacterium present in the oral cavity that has an intimate relation with the caries disease, colonizing the dental surface and with its acidogenic and acidic capacity, it forms lactic acid that ends up causing decalcification of the dental enamel. It is known that the increase in the incidence of caries is determined by the increase of *Streptococcus mutans* group. Thus, the quantification of *Streptococcus mutans* is an important tool in predicting the risk of developing caries. The present work aimed to quantify *Streptococcus mutans* from saliva samples of patients with and without caries.

Twenty-two samples of saliva were collected, 7 samples of patients without carious lesion and 15 samples of caries patients and the standard plaque counting procedure. Clinical examination revealed the presence of carious lesions in 68.18% (15/22) of the patients evaluated. Patients without caries had a lower *S. mutans* count (10^4) in patients with caries. In all individuals with carious lesions, the results of the quantification of *Streptococcus mutans* evidenced considerable values of this microorganism. Thus, individuals were classified as belonging to a group of millionaire *mutans* individuals, with a presence of more than 10^6 CFU / mL of saliva.

KEYWORDS: Caries, saliva, *Streptococcus*.

1. INTRODUÇÃO

Até 1970, a cárie era relatada como um processo de desmineralização simples, contínuo e de rápido desenvolvimento, e a estratégia de tratamento era realizar terapia restauradora tão logo que a lesão fosse detectada¹.

Entre 1970 e 1980 a carie passou a ser definida como um processo que alterna desmineralização e remineralização, sendo que a remineralização poderia ser estimulada através de terapia preventiva^{1,2}.

Atualmente, a cárie dentária é uma patologia oral, infecciosa, com etiologia multifatorial, que se baseia na interação de três fatores: hospedeiro, dieta e presença de bactérias^{3,4,5}. Também tem sido valorizada a importância de fatores adicionais, como a genética, o

ambiente e condição socioeconômica⁵. Associado a isso, a cárie dental é uma doença transmissível provocada por bactérias⁶.

A cavidade bucal dos seres humanos é habitada por diferentes espécies de bactérias, sendo a maioria necessária à manutenção do equilíbrio do ecossistema do ambiente bucal⁷. A microbiota bucal potencialmente cariogênica é composta de um número de bactérias acidogênicas que pode causar cáries quando as condições ambientais forem apropriadas para tal processo. Além de causar doenças orais, tais como gengivite e periodontite, podem também causar doenças sistêmicas como problemas cardiovasculares⁸ tornando-se um importante problema de saúde pública.

As principais espécies bacterianas associadas ao desenvolvimento da cárie são *Streptococcus mutans* (*S. mutans*) e *Lactobacillus spp*^{9,10}. Estas espécies estão intimamente ligadas aos índices de cárie de um indivíduo, apresentando uma associação positiva entre os seus níveis e a alta prevalência de cáries. São encontrados como habitantes normais nas superfícies dentárias^{11,12}.

O *S. mutans* é um dos microrganismos específicos da cárie e é uma das bactérias com maior poder cariogênico devido à sua grande capacidade acidogênica e de adesão ao esmalte dentário^{12,13}.

A cárie dentária tem sido descrita como uma doença crônica que progride lentamente na maior parte dos indivíduos. Na ausência de tratamento, ocorre uma progressão da lesão, que é muitas vezes representada em uma escala linear que vai desde a desmineralização até a destruição total do dente¹⁴. Além disso, a variabilidade individual do risco de cárie está relacionada, principalmente, com a dieta consumida e com o número de microrganismos cariogênicos presentes na placa bacteriana e na saliva¹⁵.

Os estreptococos e lactobacilos presentes na cavidade bucal expressam seu potencial patogênico toda vez que uma dieta rica em açúcares, em especial a sacarose, é ingerida. Na presença de carboidratos fermentáveis, estas bactérias conduzem a desmineralização do esmalte dentinário devido à produção de ácido láctico oriundo do seu metabolismo⁶.

As lesões cariosas que se desenvolvem na superfície dental sob a placa bacteriana representam o resultado de uma complexa interação entre bactérias nocivas e inócuas, espécies bacterianas antagonistas e sinérgicas, seus produtos metabólicos e a sua interação com fatores do hospedeiro, como a saliva¹⁶.

A principal propriedade da saliva na proteção dos dentes contra as cáries é a diluição de microrganismos e açúcares da dieta, além da neutralização e tamponamento dos ácidos da placa e o fornecimento de íons para remineralização. O máximo efeito protetor da saliva ocorre quando esta é estimulada após o consumo de carboidratos fermentáveis, neutralizando a produção de ácidos da placa e consequentemente, reduzindo a queda do pH bucal^{16,17}.

Sabe-se que o aumento da incidência da cárie é determinado pelo aumento dos *Streptococcus* do grupo

mutans e/ou por alterações na homeostasia salivar. Por conta disso, testes bacteriológicos têm sido utilizados em odontologia com o objetivo de detectar e quantificar *Streptococcus mutans* em amostras de saliva. Desta forma, o presente trabalho teve como objetivo quantificar *Streptococcus mutans* a partir de amostras de saliva coletadas de pacientes com cárie e sem cárie.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Participaram deste estudo 22 pacientes adultos, de ambos os sexos, com idade entre dezoito e cinquenta anos, residentes na cidade de Vassouras/RJ.

O projeto de pesquisa foi aprovado previamente pelo Comitê de Ética sob número do CAAE 64887717.0.0000.5290, e cada participante foi convidado a assinar o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE), com todas as informações referentes ao processo realizado.

Após a assinatura do TCLE, foram coletadas de forma randômica 22 amostras de saliva. Após a coleta, os pacientes foram avaliados por um cirurgião-dentista, onde foram submetidos ao exame clínico para detecção de lesões cariosas.

Das 22 amostras de saliva coletada, 7 amostras foram de pacientes sem cárie e 15 amostras de pacientes com cavidade cariada.

Para o cultivo de *Streptococcus* do grupo *mutans*, as amostras de saliva foram diluídas em solução salina 0,85% até 10⁻⁶. Alíquotas de 100 µl de cada diluição foram inoculadas em Ágar Mitis Salivarius acrescido de bacitracina, em triplicata, e incubadas a 37°C por 48 horas. Posteriormente, foi observado as características macroscópicas da colônia e a contagem das Unidades Formadoras de Colônia/ml (UFC). Somente foram contadas as placas contendo entre 30-300 colônias (KÖHLER & BRATTHALL 1979)¹⁸.

3. RESULTADOS

O exame clínico evidenciou a presença de lesões cariosas em 68,18% (15/22) dos pacientes avaliados.

Em todos os indivíduos com lesão cariada, os resultados da quantificação bacteriana salivar de *Streptococcus mutans* evidenciaram valores consideráveis deste microrganismo. Assim, os indivíduos foram classificados como pertencentes a um grupo de indivíduos *mutans* milionários, com presença de mais de 10⁶ UFC/mL de saliva. Nestes pacientes foi observado contagens entre 1,3 x10⁶ e 3,2 x10⁶UFC/mL.

De forma geral, foi observado redução em duas casas decimal na contagem de UFC de pacientes sem cárie, ficando os valores compreendidos entre 1,5 x10⁴ a 2,3 x10⁴ UFC/mL.

Na Tabela 1, estão expressos os resultados obtidos das médias aritméticas para as UFC/ml de *Streptococcus* do grupo *mutans*.

Tabela 1. Médias aritméticas da contagem de UFC/mL de *Streptococcus mutans* a partir da saliva de pacientes com e sem cárie.

Contagem UFC/ml de pacientes com cárie (n=15)	Contagem UFC/ml de pacientes sem cárie (n=7)
1,8x10 ⁶	2,3x10 ⁴
3,5x10 ⁶	2,1 x10 ⁴
3,7 x10 ⁶	1,8 x10 ⁴
2,6 x10 ⁶	1,5 x10 ⁴
3,2 x10 ⁶	1,7 x10 ⁴
1,5 x10 ⁶	1,6 x10 ⁴
1,3 x10 ⁶	.*
2,3 x10 ⁶	-
1,8 x10 ⁶	-
1,9 x10 ⁶	-
1,6 x10 ⁶	-
2,3 x10 ⁶	-
1,8 x10 ⁶	-
1,9 x10 ⁶	-
1,7 x10 ⁶	-

Legenda: .*: Não se aplica.

4. DISCUSSÃO

A cárie é uma doença que se instala na cavidade bucal antes do aparecimento das lesões cariosas. Essa doença multifatorial envolve três fatores primários que devem interagir em condições críticas para que a doença se manifeste: presença de microrganismos cariogênicos, dieta cariogênica consumida frequentemente e hospedeiro susceptível¹⁷.

Do ponto de vista da doença cárie, a saliva desempenha importantes papéis na cavidade bucal, sobretudo pela participação na formação da película adquirida, na lavagem e neutralização de ácidos bacterianos, sendo o fluxo salivar o fator mais relevante na análise salivar¹⁹. O fluxo salivar é responsável pela limpeza das superfícies orais e pelo transporte de microrganismos e restos alimentares que serão deglutidos²⁰.

Sabe-se que o aumento da incidência da cárie é determinado pelo aumento dos *Streptococcus* do grupo *mutans* e/ou por alterações na homeostasia salivar. Desta forma, a quantificação de *Streptococcus mutans* é uma ferramenta importante na predição do risco de desenvolvimento da cárie²¹.

Estudos demonstram que o *Streptococcus mutans* está associado com a cárie dental em humanos, existindo uma correlação entre o risco ao desenvolvimento da doença e o número dessa bactéria na saliva. Além disso, pacientes com cárie apresentam elevadas contagens de *Streptococcus mutans* por UFC/mL. A presença deste microrganismo na cavidade bucal varia de acordo com diversos fatores endógenos do hospedeiro como fluxo e capacidade tampão da saliva, presença de imunoglobulinas salivares; apresentando uma concentração desde não detectável até 10⁷ UFC/ mL²².

Como a quantificação de *S. mutans* pode estar

diretamente relacionado com o aumento do desenvolvimento de lesões cariosas, vários testes microbiológicos com este fim têm sido propostos, buscando alcançar a praticidade e o baixo custo necessário para o uso clínico^{21,22}.

A leitura da quantificação bacteriana demonstra que os indivíduos com cárie podem ser classificados como *mutans* milionário, indicando a abertura precoce da janela de infectividade, com altos níveis de *Streptococcus mutans* na saliva (Intra *et al.*, 2006). Segundo a literatura há correlação de elevadas contagens de UFC com um maior risco de desenvolvimento da cárie dentária e com a presença da cárie já estabelecida. Os valores acima de 10⁵ UFC/mL vem sendo considerados de alto risco bacteriológico de cárie (MEIRELE *et al.*, 2016). De igual modo, indivíduos com cárie, apresentam contagem de UFC/mL acima de 10⁵. No presente trabalho foi observado que indivíduos com cárie apresentaram contagens superiores a 10⁶ UFC/ml, enquanto que indivíduos sem cárie apresentaram contagem de 10⁴ UFC/ml.

Segundo De Lorenzo (2016)²⁴ os níveis salivares de *Streptococcus mutans* relacionam-se com o número de superfícies dentais colonizadas pelo organismo. Pacientes que obtiveram contagem de mais de um bilhão de UFC/ml de saliva apresentaram 7,5 novas lesões cariosas num período de três anos, enquanto aqueles com níveis entre 100 mil e um milhão exibiram 4,7 e os com níveis menores que 100 mil, 3,5 novas lesões, no mesmo período²⁵.

5. CONCLUSÃO

Foi detectado alta frequência de bactérias cariogênicas em pacientes com lesões cariosas.

A alta contagem de bactérias cariogênicas na saliva é considerado um fator de risco para o surgimento de cárie dentária.

A prevenção desta patologia dá-se por meio de uma boa higiene bucal com profilaxia mecânica, envolvendo escovação e uso de fio dental, uma dieta equilibrada, com restrição a sacarose.

REFERÊNCIAS

- [01] Lopes MF. Lesões cariosas proximais. Seção Santa Catarina, 2001.
- [02] Hintze H, *et al.* Behavior of approximal carious lesions assessed by clinical examination after too the parathion and radiography: a 2.5 year longitudinal study in young adults. Caries Res, 1999; 33: 415-422.
- [03] Selwitz RH, Ismail AI, Pitts NB. Dental caries Lancet. 2007;369 (9555):51-59.
- [04] Pereira AG. *et al.* Imunologia da Cárie Dentária. Acta MedPortLisboa. 2010;663-668.
- [05] Kidd E. The implications of the new paradigm of dental caries. Journal of dentistry. 201-39 (2):53-89.
- [06] Rosa RT, Gonçalves RB, Rosa EAR. Cariogenic streptococci transmissibility a conceptual update. Rev. de

- Clin. Pesq. Odonto. 2005 abri –jun; 4, (1).
- [07] Marsh PD. Microbial ecology of dental plaque and its significance in health and disease. Adv. Dent. Res. Washington, DC. 2010; 8, (2): 263-271.
- [08] Kleinberg A. Mixed-bacteria ecological approach to understanding the role of the oral bacteria in dental caries causation: an alternative to *Streptococcus mutans* and the specific-plaque hypothesis. Crit. Rev Oral Biol Med, 2002; 13:108 -125.
- [09] Kuramitsu BY, Wang, HK. Virulence properties of cariogenic bacteria. BMC Oral Health, (6) 2006; 1-4.
- [10] Nishikawara F, Nomura Y, Imai S, Senda, A, Hanada N. Evaluation of Cariogenic Bacteria. Eur J Dent, 1 2007;31-39.
- [11] Llana-Puy, M.C Montañana-Llorens C, Forner-Navarro L. Cariogenic oral flora and its relation to dental caries. ASDC J Dent Child. 2000; 67: 42-46.
- [12] Galvão J, Proença L, Barroso H. Prevalência da cárie dentária e presença de bactérias cariogênicas no dorso lingual. Rev. Portes tomato med dente cir maxi lofac. 2012; (53) 1:11-16.
- [13] Beig, D, Brailsford S, Samaranayake LP, Brown JP, Ping FX, Grant-Mills DA. Multi-country comparison of caries-associated microflora in demographically diverse children. C Dent Health, 2004(21): 96-101.
- [14] Fejerskov O, Nyvad B, Kidd EAM. Pathology of dental caries. In: Fejerskov. O. Dental Caries. The Disease and Its Clinical Management. 2008; 2: 19-48.
- [15] Pinelli C, Loffredo LCM, Serra MC. Reprodutibilidade de um teste microbiológico para estreptococos do grupo *mutans*. Pesq Odont Bras. 2000: jan-marc; 14(1): 13-18.
- [16] Axelsson P. Diagnosis and Risk Prediction of Dental Caries. Chicago: Quintessence. 2000; 308.
- [17] Vicente VA, Polleto MM, Neiva IF, Braga MM, Lavoranti OJ. Relação entre a prevalência da doença cárie e risco microbiológico. Dental Science 2008; 11(2).
- [18] Köhler B, Bratthall D. Practical method to facilitate estimation of *Streptococcus mutans* levels in saliva. J. Clin. Microbiol.. v. 9, p. 584-588, 1979.
- [19] Carvalho VA, Espindula, MG, Valentino TA, Turssi CP. Abordagens utilizadas na avaliação do risco de cárie. RFO, Passo Fundo, 2016; jan-abri 16 (1.) 105-109.
- [20] Garcia LB, Bulla JR, Kotaka CR, Tognim MCB, Cardoso OCL. Testes salivares e bacteriológicos para avaliação do risco de cárie. RBAC. 2009. 1(41): 69-76.
- [21] Spolidorio DMP, Spolidorio LC, Barbeiro RH, Höfling JF, Bernardo WLC, Pavan S. Avaliação quantitativa de *Streptococcus* do grupo *mutans* e *Candida* sp e fatores salivares na cavidade bucal de pacientes submetidos à radioterapia. Pesqui Odontol Brasil 2001 out-dez; 15(4): 354-548.
- [22] Napimoga MH, Höfling JF, Klein MI, Kamiya RU, Gonçalves RB. Transmission, diversity and virulence factors of *Streptococcus mutans* genotypes. J Oral Sci. 2005; (47):59-64.
- [23] Intra JBG, Casoti CA, Roldi A, Harari SG, Almeida TJS, Baldotto JH, Silva AG, Bento AC. Interconnection between DMFT index and mothers/children saliva *Streptococcus mutans* levels. RFO UPF 2006; 11(2):16-20.
- [24] Souza FM. Micro-organismos exógenos em salivas de pacientes com AIDS-HIV. Rio Grande do Norte. 2016.
- [25] De Lorenzo JL. Microbiologia para o estudante de odontologia. São Paulo: Atheneu, 2004.