

FLÁVIO DE FREITAS MATTOS

AVALIAÇÃO DAS CORRELAÇÕES EXISTENTES ENTRE EXPERIÊNCIA DE
CÁRIE, ACÚMULO DE PLACA BACTERIANA E NÍVEL DE IgA ANTI-
Streptococcus mutans NA SALIVA DE CRIANÇAS COM DENTIÇÃO MISTA



Tese apresentada à Faculdade de Odontologia de São José dos Campos, Universidade Estadual Paulista, como parte dos requisitos para a obtenção do título de DOUTOR, pelo Programa de Pós - Graduação em ODONTOLOGIA, Área de Concentração em Odontologia Restauradora

Orientadora Prof^a. Dr^a. Carmelinda Schmidt Unterkircher

São José dos Campos

2001

D691

M436a

J. 1432

Apresentação gráfica e normalização de acordo com:

BELLINI, A.B.; SILVA, E.A. **Manual para elaboração de monografias: estrutura do trabalho científico.** São José dos Campos: FOSJC/UNESP, 2000. 81p.

MATTOS, F.F. **Avaliação das correlações existentes entre experiência de cárie, acúmulo de placa bacteriana e nível de IgA anti - *Streptococcus mutans* na saliva de crianças com dentição mista.** São José dos Campos, 2000 86f. Tese (Doutorado em Odontologia, Área de Concentração em Odontologia Restauradora) – Faculdade de Odontologia de São José dos Campos, Universidade Estadual Paulista. São José dos Campos.

A meu pai

AGRADECIMENTOS

Aos Professores Doutores Henrique Duque de Miranda Chaves Filho e Ivone de Oliveira Salgado, pela oportunidade, apoio e estímulo em momentos tempestuosos.

À Professora Doutora Rosangela Almeida Ribeiro, pelo triplo papel de professora, colega de trabalho e amiga.

À Faculdade de Odontologia de São José dos Campos, UNESP, e à Faculdade de Odontologia da UFJF pela infraestrutura e apoio técnico.

À Professora Doutora Carmelinda Schmidt Unterkircher, mais do que meu agradecimento, ficam expressos, minha admiração pelo esplêndido trabalho de orientação, e meu orgulho e alegria, por poder contar com seu nome neste trabalho.

À Mariela Vieira Pereira Leão pela inestimável ajuda, sem a qual – não apenas por mera retórica - este trabalho não existiria.

Aos meus colegas de curso, pela inesquecível convivência.

À Cristina Lougon Borges de Mattos, pelo ombro muitas vezes emprestado.

Aos meus pais, na eterna tentativa de retribuir tanto esforço.

À minha mulher, pelos anos de convívio, pela mão estendida e pela paciência nas turbulências.

Aqueles cuja imagem não vejo, mas cuja presença sinto, através da energia interna que sempre rebrota em mim, dia após dia, proporcionando-me os instrumentos necessários ao infinito crescimento.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS.....	08
LISTA DE TABELAS.....	09
LISTA DE QUADROS.....	10
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS.....	11
RESUMO.....	12
1 INTRODUÇÃO.....	13
2 REVISÃO DA LITERATURA.....	17
2.1 Etiologia da cárie.....	17
2.2 Características dos estreptococos do grupo mutans.....	22
2.3 Fatores salivares de proteção contra a cárie.....	25
2.3.1 Interação entre imunoglobulinas, SM e cárie dentária.....	27
2.3.2 Imunização contra a cárie dentária.....	42
3 PROPOSIÇÃO.....	49
4 MATERIAL E MÉTODO.....	50
5 RESULTADOS.....	54
5.1 Descrição da amostra.....	54

5.2 Análise estatística.....	58
5.2.1 Comparação das variáveis entre os grupos.....	58
5.2.2 Correlações.....	59
6 DISCUSSÃO.....	64
7 CONCLUSÃO.....	74
8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	75
ANEXOS.....	85
<i>ABSTRACT</i>	86

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1- Distribuição dos indivíduos em grupos quanto à experiência de cárie. CA (grupo com experiência de cárie e lesões não tratadas); CT (grupo com experiência de cárie e sem lesões não tratadas); SC (grupo sem experiência de cárie).....55
- Figura 2- Valores médios das variáveis idade, índices de cárie e IHOS.....57
- Figura 3- Correlações entre as variáveis DO, IHOS e índices de cárie (Pearson).....61
- Figura 4- Correlações entre as variáveis DO, IHOS e índices de cárie (Spearman).....63

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Distribuição das variáveis idade, índices de cárie e índice de higiene oral.....	56
Tabela 2- Distribuição por sexo das variáveis idade, índices de cárie e índice de higiene oral.....	56
Tabela 3- Distribuição e comparação dos índices de cárie entre grupos (valores médios).....	58
Tabela 4- Comparação do IHOS entre grupos.....	59
Tabela 5- Comparação das densidades óticas entre grupos.....	59
Tabela 6- Correlações entre as variáveis DO, IHOS e índices de cárie, total e por grupos (Pearson).....	60
Tabela 7- Correlações entre as variáveis DO, IHOS e índices de cárie, total e por grupos (Spearman).....	62

LISTA DE QUADROS

- Quadro 1- Possíveis explicações para altos ou baixos níveis de estreptococos do grupo mutans e cárie dental em relação à IgA salivar.....39
- Quadro 2- Distribuição dos indivíduos em grupos quanto à experiência de cárie.....54

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CA = Grupo de crianças com lesões de cárie não tratadas

ceod = Número de dentes decíduos cariados, por extrair ou obturados

ceos = Número de superfícies dentárias decíduas cariadas, por extrair
ou obturadas

CT = Grupo de crianças com lesões de cárie tratadas

CPOD = Número de dentes permanentes cariados, perdidos ou
obturados

CPOS = Número de superfícies dentárias permanentes cariadas,
perdidas ou obturadas

cpoos = Número de superfícies dentárias decíduas cariadas, perdidas ou
obturadas

DO = Densidade ótica

IgA = Imunoglobulina A

IgG = Imunoglobulina G

IgM = Imunoglobulina M

IHOS = Índice de higiene oral simplificado

SC = Grupo de crianças sem experiência de cárie

MATTOS, F.F. **Avaliação das correlações existentes entre experiência de cárie, acúmulo de placa bacteriana e nível de IgA anti – *Streptococcus mutans* na saliva de crianças com dentição mista.** 2001 83f. Tese (Doutorado em Odontologia Restauradora) – Faculdade de Odontologia de São José dos Campos, Universidade Estadual Paulista. São José dos Campos.

RESUMO

Neste estudo, objetivou-se avaliar as correlações existentes entre experiência de cárie, acúmulo de placa bacteriana e nível de IgA anti – *Streptococcus mutans* na saliva de crianças de 8 a 12 anos de idade, com dentição mista. Foram examinadas 110 crianças, divididas em três grupos: sem experiência de cárie (SC), com lesões de cárie tratadas (CT) e com lesões de cárie não tratadas (CA), utilizando-se os índices IHOS, ceod, ceos, CPOD e CPOS. Foram também coletadas amostras de saliva não estimulada. A concentração de IgA específica foi quantificada, por ELISA para células inteiras de *S. mutans*. Não houve correlação significativa entre o acúmulo de placa bacteriana e a concentração de IgA salivar específica. Houve correlação negativa entre o nível de IgA salivar específica e a experiência de cárie na dentição decídua das crianças com lesões de cárie não tratadas, indicando papel protetor. Houve porém, correlação positiva entre o nível de IgA e a experiência de cárie na dentição permanente das crianças com lesões de cárie tratadas. A IgA salivar específica anti-mutans não impede o acúmulo de placa bacteriana, tendo papel protetor sobre a dentição decídua e não sobre a dentição permanente.

PALAVRAS-CHAVE: Cárie; placa bacteriana; dentição mista; imunoglobulinas; IgA; *Streptococcus mutans*.

1 INTRODUÇÃO

A cárie dentária pode ser definida como o resultado de uma série de fenômenos físico-químicos em que ácidos produzidos pelas bactérias presentes na placa bacteriana causam a desmineralização dos tecidos duros. Este é um processo biológico complexo, dinâmico e contínuo. Apesar de ser uma doença de caráter multifatorial, quatro fatores básicos estão envolvidos na etiologia do processo. São eles, a microbiota bucal (presente na placa dentária), tecidos dentários suscetíveis, dieta (em especial, os carboidratos) e tempo (Johnson¹⁹, 1991).

Sendo uma doença infecciosa semelhante a qualquer outra causada pelo ataque de microrganismo patogênico a um hospedeiro suscetível ou não, a cárie dentária possui particularidades. Nela, a doença não é desencadeada pela presença de um certo microrganismo patogênico e sim pela formação da placa bacteriana, seu volume e composição. Ao se analisar a resistência do hospedeiro ao seu desenvolvimento, a cárie torna-se ainda mais peculiar. Neste caso, não interferem apenas fatores antimicrobianos específicos e inespecíficos, mas também a capacidade tampão do meio bucal e as propriedades físico-químicas do esmalte (Kilian & Brathall²¹, 1988).

A placa bacteriana forma-se sobre os elementos dentários a partir da película adquirida. Esta consiste de uma camada de aminoácidos e carboidratos presentes na saliva que depositam-se sobre o esmalte dentário após segundos de exposição. Sobre a película

adquirida, progressivamente, aderem-se os microrganismos, inicialmente cocos e coco-bacilos. Após estes, aderem-se bactérias filamentosas. Formada a placa bacteriana, há um processo contínuo de maturação, com a produção de matriz intercelular polissacarídea. Após seis a sete dias de maturação nota-se uma queda pronunciada de pH na placa bacteriana exposta à sacarose, tornando-a potencialmente cariogênica (Nyvad & Fejerskov³³, 1988).

Desde que a cárie começou a ser vista como uma doença, há aproximadamente 110 anos, três teorias básicas sobre sua etiologia foram desenvolvidas (Maxwell et al.²⁸, 1993). Miller*, 1890, citado por Newbrun³², 1988, desenvolveu a primeira das teorias, chamada químico - parasitária. Segundo esta teoria, a placa é odontopática em sua totalidade. Isto é, independente da predominância de uma ou outra espécie bacteriana, todo indivíduo é suscetível à cárie, uma vez que todos desenvolvem a placa bacteriana. A única forma de combater a doença é remover mecanicamente a placa.

Outra teoria surgiu nos anos 70 a partir da identificação de microrganismos específicos presentes na placa bacteriana que levariam ao aparecimento dos sinais clínicos da doença (Maxwell et al.²⁸, 1993). Uma das trezentas espécies bacterianas presentes na placa, o *Streptococcus mutans* - hoje reconhecido como um grupo de bactérias - foi implicado como principal responsável no desenvolvimento da cárie dentária. Uma segunda espécie, presente na placa bacteriana e com papel secundário no desenvolvimento da doença, é o *Lactobacillus*. Este não tem participação na formação

* Miller, W. D. 1890. *The Micro-organisms of the Human Mouth*. Basel: S. Karger, 1973

inicial de lesões cariosas, mas uma vez instalado o processo cariioso, o ambiente criado favorece sua proliferação (Maxwell et al.²⁸, 1993).

Uma terceira teoria sobre a etiologia da cárie dentária, chamada de ecológica, sustenta que a doença cárie resulta de mudanças no equilíbrio da microbiota residente na placa bacteriana (Marsh²⁷, 1994). A placa forma-se naturalmente sobre os dentes e beneficia o hospedeiro por inibir a colonização por espécies patogênicas exógenas. A composição da placa permanece constante apesar de exposições regulares a alterações ambientais de pouca intensidade. Esta homeostase microbiana deve-se em parte a um equilíbrio das interações de caráter sinérgico ou antagonista. Entretanto, alterações ambientais de grande porte, tal como a freqüente exposição a baixos níveis de pH, poderiam inibir as espécies ácido - sensíveis e selecionar aquelas de caráter acidúrico, em particular os estreptococos do grupo mutans e os lactobacilos, tornando a placa patogênica (Marsh²⁷, 1994).

No sistema de defesa da cavidade bucal, atuam tanto os fatores imunes específicos quanto os inespecíficos, ambos com a função de impedir a penetração de substâncias nocivas ou a colonização microbiana dos tecidos duros e moles. Dentre os fatores inespecíficos pode-se citar a lisozima, o sistema lactoperoxidase e a lactoferrina. Como fatores específicos, dependentes de memória imunológica, temos as imunoglobulinas, ou anticorpos. Na cavidade bucal, em condições normais, a única imunoglobulina predominante é a IgA, secretada na saliva à semelhança do que ocorre com outras secreções externas como leite, lágrima, bile e outras (Killian & Brathall²¹, 1988).

Embora também presente no soro, a IgA encontrada na saliva, ou secretora, tem estrutura molecular diferente. A IgA secretora (S-IgA) é dimérica, enquanto a IgA sérica é monomérica, além de estar associada a um componente secretor, uma glicoproteína. Cabe a S-IgA um importante papel na defesa do hospedeiro contra agressões às superfícies mucosas. Quanto à cárie, estudos tem sido conduzidos para avaliar se sua presença ou ausência pode estar correlacionada aos níveis totais de IgA, na saliva ou se a porção de IgA salivar especificamente capaz de agir contra os estreptococos do grupo mutans (*Streptococcus mutans* e *Streptococcus sobrinus*), estaria significativamente correlacionada ao padrão de saúde bucal. Os resultados tem sido contraditórios (Fernandes et al.¹³, 1995; Childers et al.¹¹, 1996; Bratthall et al.⁶, 1997; Marcotte & Lavoie²⁶, 1998).

A complexidade do desenvolvimento da cárie dentária, o papel ainda não totalmente definido dos mecanismos naturais de defesa humanos e em particular, a existência de dúvidas cruciais quanto à importância dos mecanismos imunológicos neste processo, motivaram-nos à condução deste estudo.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Etiologia da cárie

Em um estudo de revisão da literatura, Van Houte⁵⁰ (1994), considerou que o desenvolvimento da cárie envolve três fatores indispensáveis: bactérias (placa bacteriana), carboidratos (dieta) e dentes suscetíveis (hospedeiro), aos quais deve somar-se a saliva. A microbiota da placa bacteriana consiste de uma coleção de microrganismos acidogênicos e não acidogênicos, variando sua composição de acordo com a localização na dentição. Hoje, alguns poucos organismos específicos são considerados como fundamentais no desenvolvimento da cárie coronária. Na cárie radicular, a variedade de microrganismos implicada parece ser maior (Van Houte⁵⁰, 1994).

Os primeiros microrganismos implicados na etiologia da cárie foram os lactobacilos acidogênicos. Estes apresentam alta tolerância ao meio ácido e alta capacidade acidogênica. Entretanto, em regiões de fissuras, interdentais e superfícies linguais e vestibulares das coroas dentárias, os lactobacilos constituem uma parte negligenciável da microbiota. O mesmo ocorrendo no interior de placas sob as quais ocorre o desenvolvimento de lesões cariosas. Em contraste, a contagem de lactobacilos é maior em lesões de cárie mais avançadas já cavidadas (Van Houte⁵⁰, 1994).

Os estreptococos do grupo mutans (SM), um grupo de espécies relativamente bem definidas, estão mais fortemente associados à etiologia da cárie. Dentre os SM, os predominantes em populações ocidentais são os *Streptococcus mutans* e em menor proporção, *Streptococcus sobrinus*. Os SM tem alta tolerância ao meio ácido e grande potencial acidogênico. Além disso, podem produzir glucanos extracelulares a partir da sacarose. Os glucanos aumentam a massa da placa bacteriana, promovem a aderência dos SM aos dentes e alteram as propriedades de difusão da matriz, tornando-os mais virulentos. A matriz rica em glucanos funciona como barreira à difusão do ácido produzido no interior da placa para o meio externo (Van Houte⁵⁰, 1994).

Outros grupos bacterianos menos numerosos, mas também envolvidos na etiologia da cárie, por possuírem potencial acidogênico, incluem: *Streptococcus* não *mutans*, *Actinomyces*, *Veillonella*, *Neisseria*, *Bacteroides*, *Bifidobacterium*, *Clostridium*, *Eubacterium*, *Propionibacterium* e *Rothia*. Estes grupos bacterianos ainda não foram satisfatoriamente identificados (Van Houte⁵⁰, 1994).

Quanto à dieta, Van Houte⁵⁰ (1994) afirma que o consumo de carboidratos, em particular sacarose, está positivamente correlacionado com os níveis de atividade de cárie devido à produção de glucanos pelo SM e à formação de meio seletivo à proliferação de SM e lactobacilos.

A saliva age sobre a placa a curto e longo prazos. A curto prazo, age como tampão e como meio de remoção dos ácidos e dos carboidratos ingeridos. A longo prazo, em áreas intensamente

banhadas por saliva, há menor proliferação das espécies bacterianas acidogênicas (Van Houte⁵⁰, 1994).

As tentativas de controle da cárie, baseiam-se hoje no combate aos SM. Entretanto, para haver maior sucesso nesta redução, podem ser necessários estudos mais aprofundados sobre a etiologia da doença e o papel de outros grupos de estreptococos, tais como *S. sanguis* e *S. mitis*, na etiologia da doença (Van Houte⁵⁰, 1994).

Roeters et al.³⁶ (1995) afirmaram que a aquisição de microrganismos cariogênicos por crianças não era totalmente compreendida do ponto de vista ecológico. Em vista disso, conduziram um estudo objetivando: a) descrever a aquisição de SM e lactobacilos em um grupo de crianças ao longo do tempo, entre as idades de dois e cinco anos; b) correlacionar a detecção destes microrganismos nas crianças com sua frequência nas respectivas mães e com a frequência de ingestão de açúcar; c) relacionar os SM e lactobacilos ao desenvolvimento de cáries pelas crianças. Foram acompanhadas 252 crianças desde os dois até os cinco anos de idade. Nestas, semestralmente, foram realizados exames clínicos visuais quanto ao número de superfícies cariadas. Coletada a saliva, placa bacteriana e determinada a dieta num período anterior de 24h. As variáveis examinadas foram estatisticamente comparadas através do teste de correlação de Spearman. No primeiro exame, 43% das crianças apresentavam SM e 11,5% lactobacilos. No decorrer dos três anos, houve grande variabilidade individual entre as crianças quanto aos números de SM e lactobacilos. As correlações entre os números de SM e lactobacilos de mães e filhos foram sempre muito baixas, bem

como as correlações entre estes mesmos números e a frequência de ingestão de açúcar. Foram encontradas correlações positivas significantes entre a prevalência da cárie e as contagens de SM (0,24 – 0,46) e lactobacilos (0,31 – 0,62) em placa e saliva das crianças acima de 2,5 anos (Roeters et al.³⁶, 1995).

Thibodeau & O'Sullivan⁴⁸ (1995) encontraram resultados conflitantes na literatura quanto à validade ou não da contagem de SM salivares na predição do risco de cárie na dentição decídua. Em vista disto, elaboraram um estudo para examinar a eficácia do uso de contagens semi - quantitativas de SM, na previsão da incidência de cárie, em crianças entre dois e cinco anos de idade, por um período de dois anos. Um total de 148 crianças foi examinado uma primeira vez e outras duas vezes, anualmente, quanto à prevalência da cárie, seguindo-se então uma coleta de saliva não estimulada. De acordo com o número de unidades formadoras de colônias de SM as crianças foram agrupadas em baixa, média e alta contagem. O número médio de superfícies cariadas, perdidas e obturadas (cpo) das crianças do grupo de alta contagem cresceu 79% no primeiro e 30% no segundo ano. Nos segundo ano do estudo, 50% das crianças do grupo de baixa e 47% do grupo de média contagem estavam livres de cárie, contra apenas 11% do grupo de alta contagem. A incidência de cáries durante os dois anos de estudo no grupo de baixa contagem foi 1,44, no de média contagem, 3,36 e no de alta contagem, 10,07. Foi concluído que há uma associação entre níveis de SM, prevalência e incidência de cárie na dentição decídua, sendo aquele um bom fator de previsão de risco (Thibodeau & O'Sullivan⁴⁸, 1995).

Buscando avaliar a transmissibilidade dos SM entre pares mãe - filho, Azevedo et al.⁴ (1998) estudaram amostras de saliva, não estimulada, de cinquenta crianças entre tr e 12 anos de idade e suas mães. Foram coletadas amostras de saliva de 2,0ml a partir das quais fez-se semeadura e contagem das unidades formadoras de colônias de SM e provas bioquímicas para identificação das espécies (manitol, sorbitol, rafinose, melibiose, resistência à bacitracina, hidrólise de esculina, produção de peróxido de hidrogênio e hidrólise da arginina). Foram encontrados SM em 94% das crianças e 100% das mães. Analisando-se os pares, mãe – filho, 62% apresentavam as mesmas espécies bacterianas, sendo que 24% apresentavam *S. mutans* e 38% *S. sobrinus*. Ainda entre os pares mãe – filho, 46% apresentavam o mesmo nível de SM, sendo que nos demais, as mães apresentavam maiores números de unidades formadoras de colônia. Entre a mães, 52% e entre os filhos, 58% estavam colonizados exclusivamente por *S. mutans* e 6% dos filhos estavam colonizados exclusivamente por *S. sobrinus*. Ainda que, devido à idade das crianças incluídas neste estudo, as mães não possam ser vistas como a única fonte de contaminação dos filhos, as análises quantitativas e qualitativas dos SM, podem servir como critério para selecionar medidas de prevenção (Azevedo et al.⁴, 1998).

Rossoni et al.³⁸ (2000), correlacionaram os níveis de SM à experiência de cárie de 132 crianças (12 a 72 meses de idade) de Porto Alegre, determinando ainda a janela de infectividade. A partir dos 12 meses de vida, todas as crianças foram microbiologicamente examinadas a cada três meses, até que a infecção por SM fosse

detectada. Entre as crianças consideradas portadoras, a maioria apresentou *S. mutans* antes dos 18 meses de vida. Houve associação significativa entre níveis elevados de SM na saliva (mais de 50 unidades formadoras de colônia por 1,5 cm²) e a experiência de cárie (Rossoni et al.³⁸, 2000).

2.2 Características dos estreptococos do grupo mutans

Em 1998, Whiley & Beighton⁵² revisaram a literatura sobre a taxonomia dos estreptococos da cavidade bucal. Segundo os autores, os chamados estreptococos bucais são um agrupamento das espécies do gênero *Streptococcus* que habitam a cavidade bucal e o trato respiratório superior humano, podendo às vezes serem isolados em outras partes do corpo. Estes integram a microbiota normal da cavidade bucal como comensais, podendo causar infecções oportunistas. Os estreptococos bucais podem pertencer a quatro diferentes grupos de espécies, totalizando 18 espécies. Os grupos e espécies são: a) grupo Salivarius (*S. salivarius*, *S. vestibularis*), b) grupo Mutans (*S. mutans*, *S. rattus*, *S. sobrinus*, *S. cricetus*, *S. downei*, *S. macacae*, *S. ferus*). C) grupo Anginosus (*S. anginosus*, *S. constellatus*, *S. intermedius*), d) grupo Mitis (*S. mitis*, *S. oralis*, *S. sanguis*, *S. gordonii*, *S. parasanguis*, *S. cristae*). Todos os grupos são capazes de produzir ácidos a partir de carboidratos. Os do grupo Mutans, produzem polissacarídeos extra celulares, tais como o

glucano. Entretanto, os autores salientam que esta taxonomia dos estreptococos bucais não esgota o assunto, pois ainda durante o processo de publicação do trabalho, duas novas espécies pertencentes ao grupo Mitis foram encontradas na orofaringe e na superfície dentária de crianças japonesas. Estas espécies foram denominadas *S. peroris* e *S. infantis* (Whiley & Beighton⁵², 1998).

Sendo considerados os principais agentes etiológicos da cárie dentária, os SM, apresentam polimorfismo genético, ou seja, cada indivíduo carrega um tipo geneticamente distinto de microrganismo. Entretanto, em caso de transmissão entre indivíduos, podem ser encontradas espécies geneticamente iguais. A variedade genética gera também uma variedade de virulência. Dentre os fatores de virulência dos SM, o principal é a capacidade de aderirem-se firmemente à estrutura dentária, uma propriedade gerada pela ação de enzimas glucosiltransferases (GTFs) produzindo glucanos. *S. mutans* produz três, e *S. sobrinus* produz quatro tipos de GTFs. Baseados nestes dados, Alaluusua et al.² (1997) realizaram estudo para: a) analisar diferenças na produção de três GTFs isoladas de indivíduos com sorotipos *c* e *e* de *S. mutans*; b) avaliar se a produção de GTFs pelo *S. mutans* maternos estava relacionada à colonização das crianças pelo mesmos; c) verificar se havia diferenças quanto à produção de GTFs entre espécies de *S. mutans* encontradas em crianças cárie ativas e livres de cáries. Foram estudadas 12 crianças finlandesas entre 1,5 e 3 anos de idade e suas respectivas mães. Dentre as crianças, seis apresentavam cárie de mamadeira com cpos variando entre 17 e 63 e seis estavam livre de cáries. Após procedimentos laboratoriais de

sorotipagem e ribotipagem, nove ribotipos foram encontrados em pares mãe – filho, sugerindo transmissão vertical. Não foi encontrada variação na produção de GTFs entre os diferentes ribotipos de *S. sobrinus*, havendo tal variação entre os ribotipos de *S. mutans*. Apesar disso, não foi possível distinguir uma superioridade quanto à colonização ou promoção de cáries em virtude da variabilidade na produção de GTFs entre diferentes ribotipos de *S. mutans* (Alaluusua et al.², 1997).

Ainda tratando da capacidade de aderência dos *S. mutans* à estrutura dentária, Russell & Mansson-Rahemtulla³⁹ (1989) avaliaram se três proeminentes antígenos, já identificados no microrganismo (Ag I, Ag II e Ag III), funcionariam como adesinas, permitindo, ainda que fracamente, a aderência dos microrganismos à superfície dentária coberta pela película adquirida. Em sendo verdade tal afirmativa, os Ag I, II e III deveriam ser capazes de interagir com componentes salivares, particularmente aqueles aderidos à hidroxiapatita encontrada na superfície dentária. De fato, a adesividade dos antígenos Ag I e II à hidroxiapatita foi aumentada quando esta foi previamente banhada por saliva. Por outro lado, o mesmo tratamento com saliva impediu a aderência do Ag III. Diversas proteínas salivares capazes de aderirem-se aos Ag I e II foram encontradas. Todas apresentavam altas proporções de prolina, glicina e ácido glutâmico (Russell e Mansson-Rahemtulla³⁹, 1989).

Russel et al.⁴⁰ (1980) detectaram quatro antígenos encontrados nos sobrenadantes de culturas do *S. mutans*, sorotipo c. Eram eles: Ag I, II, III, e IV. Aparentemente, em experimentos com macacos, os

anticorpos produzidos contra os Ag I e II estavam relacionados à proteção contra a cárie. A resposta imunológica contra os Ag I e II de *S. mutans* sorotipo *c*, foi induzida em coelhos brancos da Nova Zelândia. Com soros de animais contendo anticorpos específicos contra os Ag I e II, pesquisou-se a presença destes mesmos antígenos em outros sorotipos de *S. mutans*. Foram encontrados determinantes do Ag I e II nos sorotipos *e* e *f*, além de determinantes de Ag I nos sorotipos *a*, *d* e *g* (Russel et al.⁴⁰, 1980).

2.3 Fatores salivares de proteção contra a cárie

Cowman et al.¹² (1982), relataram o isolamento de proteínas da saliva de dois indivíduos com ação anti - bacteriana contra *S. mutans* e *S. sanguis*. Saliva estimulada foi coletada de dois indivíduos de 17 anos, com níveis de *S. mutans* consistentemente baixos ou nulos. Neles foi detectada a presença de quatro proteínas aniônicas que não reagiram com IgA, IgG ou IgM, nem pareciam funcionalmente relacionadas a outras proteínas salivares, tais como, peroxidases, lactoferrina ou lisosima. A atividade inibitória diante dos microrganismos foi atribuída a estas proteínas, até então não relatadas (Cowman et al.¹², 1982).

Os fatores salivares de proteção contra a cárie foram extensamente descritos na revisão da literatura de Tenovuo⁴⁵ (1998). Entre estes fatores incluem-se lisosima, peroxidase salivar e

hipotiocianato (gerado a partir da peroxidase). Estes podem ser encontrados em recém – nascidos nas mesmas concentrações vistas em adultos. Outros fatores como lactoferrina e mieloperoxidase só atingirão concentrações semelhantes às de adultos nos primeiros anos da adolescência. Todos os fatores não imunes permanecem em altas concentrações, mesmo em idades avançadas, podendo ocorrer aumento nos casos de infecções bucais. A extração de um número significativo de dentes pode reduzir as concentrações de todos os fatores não imunes (Tenovuo⁴⁵, 1998).

Anticorpos contra patógenos da cavidade bucal são produzidos pelo tecido linfóide associado às mucosas. Nestes tecidos são encontradas as células B produtoras de IgA. Imunoglobulinas salivares contra alguns microrganismos bucais (*Escherichia coli*, *Streptococcus mitis*, *Streptococcus salivarius*) podem ser encontradas nas primeiras semanas de vida, atingindo níveis adultos entre um e dois anos de vida. A maior parte das crianças apresenta, aos três anos, anticorpos IgA reativos contra células inteiras ou antígenos de *S. mutans*. A concentração total de IgA cresce com a idade, mas a resposta a alguns antígenos específicos, tais como glucosiltransferases de *S. mutans* atingem níveis máximos entre os trinta e 65 anos. Um dos isotipos de IgA, a IgA1 é mais prevalente em crianças do que em adultos (Tenovuo⁴⁵, 1998).

São encontrados também na cavidade bucal anticorpos séricos, IgG, contra *S. mutans*, provenientes do fluido gengival. Virtualmente todas as crianças desenvolvem IgG anti - mutans em idade pré – escolar. O mecanismo de formação de IgG anti- mutans ainda não está

totalmente esclarecido, mas teoriza-se que em bebês ainda edêntulos, *S. mutans* originados da mãe são engolidos (Tenovuo⁴⁵, 1998). Ao chegarem ao trato intestinal, os microrganismos encontram uma estrutura epitelial ainda incompleta e penetram a mucosa, gerando a resposta imune sérica. A IgG anti - mutans encontrada na cavidade bucal parece ter importante papel protetor contra cáries. Entretanto, parece que os anticorpos contra *S. mutans*, naturalmente formados, não têm capacidade de por si só influenciarem o desenvolvimento de cáries ou doença periodontal em adultos. Os fatores de proteção não imunes podem ser eficazes neste aspecto, desde que haja um fluxo salivar adequado (Tenovuo⁴⁵, 1998).

Ainda que nenhum fator salivar de proteção contra a cárie possa ser considerado mais importante isoladamente, as reações sinérgicas aditivas entre eles, observadas *in vitro*, são significativas. São exemplos de interações as que ocorrem entre: IgA e peroxidase, lactoferrina e peroxidase, lactoferrina e lisosima e, entre lisosima e histatinas (Tenovuo⁴⁵, 1998).

2.3.1 Interação entre imunoglobulinas, SM e cárie dentária

Orstavik & Brandtzaeg³⁴ (1975) analisaram a secreção de IgA a partir das glândulas parótidas em relação à inflamação gengival e à experiência de cárie. Os autores salientaram que em estudos com saliva, o processo de coleta poder ser fonte de erro e que por isto,

apesar de sua menor representatividade, optaram pela coleta de saliva das parótidas pela maior possibilidade de padronização. Foram examinados 27 homens (20 a 33 anos) em boas condições de saúde. Neles foram feitos levantamentos de CPOD, índice periodontal e coletas de saliva de ambas parótidas. A partir das amostras de saliva foram avaliados o fluxo salivar, o grau de secreção e a concentração de IgA. Foram encontradas variações entre indivíduos quanto ao grau de secreção de IgA. Tais variações não estavam relacionadas entretanto, às variações no fluxo salivar. Uma correlação estatística negativa e significativa existiu entre o índice CPOD e o grau de secreção de IgA. De maneira oposta, o índice periodontal exibiu correlação positiva com o grau de secreção de IgA. Os autores concluíram que na presença simultânea de cárie e inflamação periodontal, a análise da relação de cada um destes problemas, individualmente, com a produção de IgA pode ser mascarada pelo outro problema (Orstavik & Brandtzaeg³⁴, 1975).

Buscando demonstrar a presença de IgM anti – *S. mutans* compensatória na saliva de indivíduos com deficiência de IgA, Arnold et al.³ (1977), avaliaram 25 pacientes (idades não especificadas) nestas condições, além de um grupo controle. Levantaram-se os índices COD e COS e foram coletadas amostras de saliva parotídea, além de amostras de sangue para a quantificação de anticorpos específicos contra cinco sorotipos de *S. mutans*. Entre os 25 pacientes, oito tinham níveis significativos de IgM salivar. O levantamento dos índices de cárie sugeriu que pacientes com pouca ou nenhuma imunoglobulina funcional em suas salivas tinham maior incidência de cárie, enquanto

aqueles com IgM salivar compensatória tinham níveis de cárie comparáveis aos do grupo de controle. Quatro pacientes com deficiência de IgA não tinham nenhuma experiência de cárie e apresentavam IgM salivar. Concluiu-se que IgM encontrada na saliva tem atividade biológica semelhante à IgA salivar. Portanto, estudos relacionando cárie dental e deficiência de IgA devem considerar a possibilidade da existência de mecanismos compensatórios, como a hipersecreção e atividade funcional de outras classes de imunoglobulinas (Arnold et al.³, 1977).

Outra avaliação sobre a presença de anticorpos anti - *S. mutans* e anti - *S. sanguis* na saliva e no soro de 96 pacientes saudáveis (18 a 24 anos) foi feita por Challacombe⁷ (1980). Os pacientes foram divididos em dois grupos: com baixa e alta experiência de cárie, de acordo com a evolução do índice CPOD num intervalo de nove meses, compreendido entre dois exames clínicos. Pacientes com baixa experiência de cárie estavam associados a maiores concentrações de IgG e IgM séricas anti - *S. mutans* e menores concentrações de IgA salivar anti- *S. mutans*, enquanto o oposto foi encontrado em pacientes com maior experiência de cárie. Pacientes com lesões de cárie ativas tinham maiores concentrações de IgG sérica anti - *S. mutans* e menores concentrações de IgA salivar do que pacientes com alta experiência de cárie, porém sem lesões ativas. Não foram constatadas diferenças nas concentrações de anticorpos contra *S. sanguis*. O tratamento clínico das lesões de cárie ativas levou à redução dos níveis séricos de IgG e IgM anti - *S. mutans* e ao aumento dos níveis de IgA salivar. Os autores concluíram que *S. mutans* está intimamente

associado à cárie, diferentemente de *S. sanguis*. Anticorpos IgG séricos estariam associados à proteção contra a cárie, o que não ocorreria com anticorpos IgA salivares. Portanto, existiria uma correlação negativa entre os níveis de IgG sérica e de IgA salivar anti – *S. mutans* e anti – *S. sanguis* (Challacombe⁷, 1980).

Twetman et al.⁴⁹ (1981), selecionaram quarenta crianças de ambos os sexos (três a seis anos de idade), dividiram-nas em dois grupos (com cárie rampante e ao menos oito lesões não tratadas e sem experiência de cárie). Determinaram e compararam os níveis de lisozima e IgA encontrados em amostras de saliva total, além da presença ou não de *S. mutans* e lactobacilos. Houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos quanto à concentração de lisozima. A concentração de IgA foi maior no grupo livre de cáries, porém sem significância estatística. Lactobacilos estavam presentes na placa bacteriana de 65% daquelas livres de cáries, e em 95% do grupo com cáries. *S. mutans* estava presente em 25% dos livres de cáries e em 70% das crianças com cáries. Houve diferença estatisticamente significativa quanto ao índice de higiene oral simplificado quando os grupos foram comparados. As crianças com cárie apresentaram maior acúmulo de placa (Twetman et al.⁴⁹, 1981).

Estudando 108 indivíduos (18 a 25 anos) saudáveis, Challacombe et al.⁸ (1984) examinaram os anticorpos séricos e salivares contra células inteiras de *S. mutans*. Analisaram a especificidade e a concentração de cada classe de imunoglobulina. A classe IgG constituiu cerca de 70% do total de anticorpos específicos encontrados no soro. A concentração de IgG específica no soro dos

indivíduos estudados representava 0,7% da IgG sérica total. Da IgM presente no soro dos indivíduos estudados, 0,8% era específica para *S. mutans*, representando 8% do total de anticorpos contra o microrganismo. A classe IgA participou com cerca de 22% do total de anticorpos específicos encontrados no soro. Da concentração total de IgA no soro dos indivíduos estudados, 1% era específica para *S. mutans*. Quanto à especificidade, a maior parte dos anticorpos encontrados estava direcionada à glucosiltransferase e ao antígeno de superfície I/II (Challacombe et al.⁸, 1984).

A imunização oral com células inteiras de *S. mutans* resulta em aumento da concentração de IgA salivar e diminuição da concentração dos microrganismos na placa bacteriana. Em ratos, a inoculação de preparados ribossômicos de *S. mutans* resultou na redução do número de lesões de cárie, do número de *S. mutans* aderentes à placa e em maiores níveis salivares de IgA específica. Baseados nestes fatos, Gregory et al.¹⁵ (1986) avaliaram 44 voluntários (18 a 60 anos) divididos em três grupos: livres de cárie, baixa e alta suscetibilidade à cárie. Neles foram avaliados os níveis de anticorpos salivares e séricos reativos contra preparados ribossômicos de *S. mutans*, buscando estabelecer uma correlação entre tais anticorpos e a severidade da cárie. Dados obtidos por ELISA revelaram que indivíduos livres de cárie ou com baixa suscetibilidade à doença estavam correlacionados a maiores níveis de IgA salivar e IgG, IgM e IgA séricas (Gregory et al.¹⁵, 1986).

Tenovuo et al.⁴⁷ (1987) avaliaram os níveis de alguns agentes salivares antimicrobianos encontrados em três grupos de indivíduos

saudáveis: crianças edêntulas (dois, entre dois e seis meses de vida), crianças com dentes (16, entre um e 3,8 anos) e jovens adultos (50, entre 19 e 21 anos). Crianças edêntulas apresentaram menores concentrações salivares de peroxidase e IgG do que crianças com dentes. Entre os mesmos grupos, não foram encontradas diferenças significantes quanto às concentrações de IgA, IgM, mieloperoxidase, lactoferrina, lisozima e hipotiocianato. As concentrações de lisozima, peroxidase e hipotiocianato não diferiram entre crianças e adultos. As concentrações de IgG, IgA, IgM, lactoferrina, peroxidase e tiocianato eram significativamente menores em crianças do que em adultos (Tenovuo et al.⁴⁷, 1987).

Em outro estudo, Tenovuo et al.⁴⁶ (1987), estudaram 31 crianças entre 0,8 e 3,8 anos de idade quanto à cárie dentária, presença de *Streptococcus mutans* na placa bacteriana e concentração e função de anticorpos específicos séricos e salivares contra *S. mutans*, sorotipo c. Doze crianças apresentaram *S. mutans* em sua placa, sendo que quatro destas apresentavam lesões de cárie. Não houve diferenças quanto à concentração de IgA salivar ou IgG e IgM séricas, medidas por ELISA, comparando-se crianças com ou sem *S. mutans*. Anticorpos IgG séricos apresentaram-se em maior concentração em crianças livres de *S. mutans*. A presença de IgA específica na saliva de 26% das crianças não pôde ser correlacionada à presença de microrganismos na placa. Os autores concluíram que IgG sérica protege a superfície dos dentes decíduos contra a colonização de *S. mutans* em crianças, na primeira infância (Tenovuo et al.⁴⁶, 1987).

As funções dos anticorpos anti - *S. mutans* foram investigadas por Gregory et al.¹⁶ (1990). O objetivo do estudo, foi identificar o papel da IgA salivar e da IgG sérica em pacientes resistentes à cárie dentária. A habilidade dos anticorpos de aderirem-se a diversos antígenos de *S. mutans* foi determinada por ELISA, assim como a capacidade da saliva e do soro de neutralizar a virulência dos microrganismos. No total, 131 pacientes (entre 16 e 44 anos) foram incluídos, sendo 72 resistentes à cárie (CPOD < 3) e 59 suscetíveis à doença (CPOD > 10 e com lesões extensas de superfície lisa não restauradas). Pacientes que viviam em áreas com água fluoretada ou recebiam aplicações profissionais de flúor foram ainda separados daqueles sem exposição rotineira ao flúor. Os antígenos de *S. mutans* utilizados para a quantificação dos anticorpos foram células inteiras do microrganismo. Pacientes resistentes à cárie tinham níveis significativamente menores de estreptococos na saliva. Não houve diferenças significantes quanto ao fluxo salivar. Os níveis de IgA salivar e IgG sérica foram maiores nos indivíduos resistentes à cárie. Esta diferença deveu-se à maior concentração de IgA2, pois as concentrações de IgA1 foram semelhantes. Outros testes laboratoriais verificaram que saliva parotídea e soro de pacientes resistentes à cárie inibiram o crescimento, aderência, produção de ácidos e as atividades da glucosiltransferase e da glicosefosfotransferase dos *S. mutans*, em maior intensidade do que saliva e soro de pacientes suscetíveis à doença. Foi concluído que a capacidade inibitória da saliva e do soro sobre a virulência de *S. mutans* e sobre suas enzimas, pode ser a



responsável pelo menor número de lesões em pacientes resistentes às cáries (Gregory et al.¹⁶, 1990).

A atividade da IgA salivar também foi testada contra antígenos de parede de SM (Widerström et al.⁵³, 1992). Os antígenos foram extraídos de *S. mutans*, *S. sobrinus*, *S. salivarius* e *S. mitis*. Amostras de saliva total foram coletadas, bem como amostras de saliva das glândulas parótidas, submandibulares e sublinguais de 11 adultos e uma criança sem lesões aparentes de cárie. As concentrações totais de IgA salivar foram medidas por ELISA. Concentrações significativamente maiores de IgA foram encontradas nas amostras de saliva total e concentrações menores nas amostras de saliva submandibular. No Western Blot, detectou-se reatividade de IgA contra os antígenos dos microrganismos. Mais de 80% das amostras de saliva apresentaram reatividade, sendo que, num mesmo indivíduo, as diferentes variedades de saliva coletadas apresentaram comportamento semelhante, com poucas exceções. Houve um maior número de bandas com IgA das amostras de saliva e antígenos de *S. mutans* do que com antígenos de *S. sobrinus* (Widerström et al.⁵³, 1992).

Hocini et al.¹⁸ (1993) compararam a reatividade de IgA salivar de indivíduos resistentes e suscetíveis à carie para antígenos de *S. sobrinus* e *S. sanguis* (Ag I/II e carboidratos de parede). Amostras de saliva total foram coletadas de 22 indivíduos (22 a 64 anos) resistentes a cárie e 21 suscetíveis à cárie (vinte a 63 anos). IgA foi quantificada por ELISA e as proporções de IgA1 e IgA2 determinadas nas amostras de saliva. Testes Western Blot avaliaram a especificidade

das reações contra os dois microrganismos. Não houve diferenças quanto ao fluxo salivar, concentração de IgA1 e IgA2, e especificidade das reações para células inteiras de ambos microrganismos. A especificidade das reações para antígenos de *S. sobrinus* foi surpreendentemente maior nos indivíduos suscetíveis à cárie. Em ambos os grupos, as concentrações de IgM e IgG nunca ultrapassaram 5% da concentração de IgA. Os níveis de IgA2 (resistente a protease) foram semelhantes entre os grupos, bem como a avidéz dos anticorpos pelo antígenos I/II e carboidratos de parede. Os anticorpos produzidos naturalmente contra *S. sanguis*, *S. sobrinus* e seus antígenos, não foram suficientes para inibir o desenvolvimento de cáries (Hocini et al.¹⁸, 1993).

Outra comparação da ação de IgA anti – *S. mutans* entre indivíduos resistentes e suscetíveis à cárie foi feita por Rose et al.³⁷ (1994). Os autores compararam os níveis de anticorpos IgA total, IgA1 e IgA2 encontrados em amostras de saliva parotídea e total, por ELISA. Um total de 41 crianças (sete a 11 anos) saudáveis, com dentição mista, foi incluído no estudo, divididas em dois grupos. As crianças suscetíveis à cárie apresentaram níveis mais elevados de *S. mutans*, tanto em números absolutos, quanto em proporção da quantidade total de estreptococos bucais. A saliva total, porém não a saliva parotídea, das crianças resistentes à cárie apresentou níveis mais elevados de IgA total anti – *S. mutans*. Foi concluído que os anticorpos IgA salivares anti – *S. mutans* podem ter relevância na proteção natural contra a cárie. A origem da maior concentração de anticorpos das crianças resistentes à doença pode estar em glândulas

salivares menores ou ainda, nas glândulas submandibulares ou sublinguais (Rose et al.³⁷, 1994).

Grupos de crianças edêntulas (44; 4 meses de vida em média), com dentes (29; 1,5 anos de vida em média) e adultos (28; 29,5 anos em média) foram comparados quanto às concentrações de IgA e de suas subclasses em amostras de saliva total, analisadas por testes ELISA (Tappuni & Challacombe⁴³, 1994). Crianças edêntulas apresentaram menores concentrações médias de IgA e suas subclasses do que crianças com dentes. Entretanto, significância estatística só foi obtida em relação aos níveis de IgA2. Adultos apresentaram concentrações médias de imunoglobulinas significativamente maiores do que ambos os grupos de crianças. A razão IgA1:IgA2 foi semelhante nos três grupos, 58:42. Não houve diferenças entre crianças amamentadas no seio ou com mamadeiras. Foi concluído que a concentração das subclasses de IgA salivar de crianças sem ou com dentes é a mesma, sendo que os níveis apresentados na idade adulta, só serão atingidos após os dois anos de vida (Tappuni & Challacombe⁴³, 1994).

Widerström et al.⁵⁴ (1994) compararam as características e a reatividade de IgA humana para cepas de *S. mutans* e *S. sobrinus* cultivadas em laboratório, com as de outros microrganismos dos mesmos sorotipos, recentemente isolados. Para *S. mutans*, as cepas de laboratório e recentemente coletadas apresentaram padrões protéicos e reatividade contra IgA humana semelhantes. Para *S. sobrinus*, houve maior discrepância entre os resultados. Os autores concluíram ser necessário certo cuidado quando do uso de cepas de microrganismos

cultivadas em laboratório para testar a atividade de anticorpos, em particular *S. sobrinus* (Widerström et al.⁵⁴, 1994).

Num estudo realizado em São Paulo, 12 crianças (cinco a 12 anos) com deficiência congênita de IgA (nove com deficiência total e três com deficiência parcial) foram comparadas a controles normais. Apesar da ausência de IgA salivar no grupo teste, tais crianças não apresentaram números maiores de *S. mutans* ou lactobacilos, maior acúmulo de placa bacteriana, ou maior prevalência de cárie. Testes ELISA com células de *S. mutans* demonstraram maior concentração de IgM salivar entre as crianças deficientes em IgA. A associação dos fatores salivares de proteção não imunológicos ao mecanismo compensatório de maior produção de IgM, gerou uma barreira importante contra a cárie dentária (Fernandes et al.¹³, 1995).

O modo como a escavação de lesões cariosas afeta a contagem de IgA salivar anti – *S. mutans* foi avaliado por Kugler et al.²³ (1996). Um total de 15 pacientes (vinte a quarenta anos) tiveram uma lesão cariosa escavada sem anestesia e amostras de saliva coletadas antes, durante, imediatamente após e 30 minutos após a escavação. Uma semana depois, os pacientes foram novamente examinados e novas amostras de saliva coletadas nos mesmos intervalos das primeiras. Quedas notáveis nos níveis totais de IgA salivar foram observadas durante e imediatamente após a escavação da lesão cariosa, retornando aqueles aos níveis iniciais 30 minutos após. Não houve variações no fluxo salivar (Kugler et al.²³, 1996).

Em trabalho de 1997, Percival et al.³⁵ identificaram as mudanças relacionadas à idade nas concentrações e velocidade de

secreção de anticorpos em amostras de saliva total e de parótida, junto a um grupo de 116 indivíduos com diferentes faixas etárias (vinte a 39 anos, quarenta a 59 anos, sessenta a 79 anos e oitenta ou mais anos). As concentrações de anticorpos IgA, IgG e IgM, específicos para *S. mutans*, *Actinomyces viscosus* e *Escherichia coli*, foram medidas por ELISA. Os níveis de IgA contra os três microrganismos cresceram com a idade em ambos os tipos de saliva. De maneira oposta, os níveis de IgG e IgM anti- *S. mutans* diminuíram com a idade, em ambos os tipos de saliva. A velocidade de secreção de IgA não se alterou com a idade, enquanto para IgG e IgM, a mesma velocidade diminuiu (Percival et al.³⁵, 1997).

O objetivo do estudo conduzido por Bratthall et al.⁶ (1997), foi avaliar se um perfil particular de IgA salivar anti – estreptococos bucais estaria relacionado à presença ou ausência de cáries. Indivíduos com 12 anos de idade num total de 19 foram examinados quanto à prevalência de cárie, contagem de *S. mutans* e determinação da concentração de IgA salivar contra estreptococos bucais, por ELISA e Western Blot. Todos foram examinados no início do estudo e após dois anos. Os resultados mostraram que indivíduos com pouca experiência de cárie apresentavam maior atividade de IgA anti - *S. mutans* e *S. sobrinus* do que indivíduos com maior experiência de cárie. Em conclusão, os autores afirmaram que a relação entre cárie dentária e IgA salivar é extremamente complexa e propuseram algumas explicações que podem ser vistas no Quadro 1.

Quadro 1- Possíveis explicações para altos ou baixos níveis de estreptococos do grupo mutans e cárie dental em relação à IgA salivar

Possíveis explicações	Aspectos relacionados à IgA salivar
Altos níveis de estreptococcus do grupo mutans	
Transmissão e colonização precoces ou eficazes	Durante a transmissão, a IgA presente na saliva dos receptores não reage com as bactérias invasoras, apesar de ser possível alguma reação devido a antígenos de reação cruzada. Moléculas de IgA aderidas à superfície dentária podem auxiliar à aderência das bactérias
A dieta ou outros fatores induzem à proliferação de estreptococcus do grupo mutans	A IgA salivar não consegue desalojar e/ou eliminar com eficácia as bactérias Por outro lado, níveis bacterianos crescentes podem potencializar os níveis de IgA. Anticorpos contra antígenos de <i>S. mutans</i> podem ocorrer
Baixos níveis de estreptococos do grupo mutans	
Sem transmissão ou colonização	A reação da IgA salivar é irrelevante
A transmissão ocorre mas não há colonização	Durante a infecção, a IgA dos receptores pode combater e eliminar as bactérias da cavidade bucal Os baixos níveis bacterianos tem influência limitada na potencialização de uma reação da IgA
Experiência e atividade de cárie altas	
Altas contagens de estreptococos do grupo mutans	A IgA presente na saliva dos receptores não pode bloquear a atividade desmineralizadora das bactérias. Os altos níveis de <i>S. mutans</i> podem ou não potencializar a resposta da IgA
O nível de cárie é dependente de uma combinação desfavorável de fatores, tais como alto consumo de açúcar, presença de outras bactéria associadas à cárie, baixa utilização de flúor, baixa capacidade tampão da saliva, pouca secreção salivar	Mesmo que a IgA ocorra em níveis ótimos, ela pode ter importância limitada nesta situação
Experiência e atividade de cárie baixas	
Baixas contagens de estreptococos do grupo mutans	IgA da saliva dos receptores pode bloquear as atividades desmineralizadoras das bactérias
O nível de cárie é dependente de uma combinação favorável de fatores, tais como baixo consumo de açúcar, baixa presença de outras bactéria associadas à cárie, boa utilização de flúor, boa capacidade tampão da saliva, bom nível de secreção salivar	IgA pode ter importância limitada nesta situação

A quantificação da IgA secretora e sua correlação com os níveis salivares de *Streptococcus mutans* e *Lactobacillus sp* em quarenta crianças de sete e oito anos de idade foram feitas por Akioishi et al.¹ (1998). Foram comparados grupos de crianças com e sem experiência de cárie. Cem por cento das crianças apresentaram *S. mutans* na saliva, e 42,5% Lactobacilos. Entre os grupos, 85% daquelas com

experiência de cárie apresentaram contagens de unidades formadoras de colônias de *S. mutans* maiores do que 10^6 , contra 25% no grupo sem experiência de cárie. Não houve diferenças estatisticamente significantes entre os grupos quanto à concentração total de IgA secretora, havendo uma correlação positiva e significativa entre os níveis de *S. mutans*, lactobacilos e a concentração de IgA, avaliando-se os dois grupos simultaneamente (Akiohi et al.¹, 1998).

Kirstila et al.²² (1998), conduziram um estudo longitudinal sobre as possíveis associações entre os fatores antimicrobianos salivares o incremento de cáries e bactérias cariogênicas. Durante dois anos, 63 indivíduos, inicialmente com 12 anos de idade, foram examinados quanto à cárie e tiveram amostras de saliva estimulada por parafina, coletadas semestralmente. Houve aumento estatisticamente significativo no fluxo salivar, na concentração de tiocianato, velocidade de aglutinação, IgA específica anti-mutans, lactobacilos e microrganismos anaeróbios. Houve queda estatisticamente significativa nas concentrações de lisozima, lactoferrina e de anticorpos IgG específicos e não específicos para *S. mutans*. Houve correlação positiva entre a concentração de IgG anti-mutans e o incremento de cáries. Entretanto, foi concluído que nenhum dos fatores analisados tem significância diagnóstica *in vivo*, quanto à futuras lesões de cárie (Kirstila et al.²², 1998).

Ainda em 1998, Smith et al.⁴² exploraram a relação entre a infecção por *S. mutans* e o desenvolvimento de anticorpos IgA salivar durante o começo da colonização. O estudo constatou que entre 33 crianças, 45% foram infectadas entre as idades de 13 e 36 meses. Por

outro lado, 18 crianças acompanhadas até os 81 meses de vida não foram contaminadas. A resposta imunológica com IgA salivar ocorreu, na maior parte das crianças, dentro do período em que a maioria das infecções foi detectada. A produção de IgA foi demonstrada mesmo naquelas não infectadas. Foi concluído que a infecção inicial por *S. mutans* é condição suficiente para uma resposta robusta de IgA salivar contra seus antígenos, ainda no período de infectividade (Smith et al.⁴², 1998).

Naspitz et al.³¹ (1999), avaliaram a relação entre o sistema secretor imune e a cárie dentária. Um total de 53 crianças entre 3 e 5 anos de idade foram divididas em três grupos: livres de cárie (1), cáries em uma ou duas superfícies (2) e cárie rampante (3). Havia menor concentração de *S. mutans* no grupo 1 do que nos outros grupos, sem diferenças nas concentrações de anticorpos. Foi notada a ausência de anticorpos específicos para o antígeno I/II de *S. mutans*, sugerindo imaturidade imunológica (Naspitz et al.³¹, 1999).

Outra avaliação do papel da IgA salivar anti – *S. mutans* foi conduzida por Yazaki et al.⁵⁶ (1999). Testes ELISA quantificaram a concentração de IgA específica, sendo sua correlação com as variáveis acúmulo de placa bacteriana (índice de higiene oral simplificado) e contagem de unidades formadoras de colônia de *S. mutans* estabelecida em 52 crianças (três a dez anos), divididas em dois grupos: cárie zero e cárie ativo. Não houve correlação significativa entre IgA específica e os níveis de *S. mutans* na saliva. A única correlação significativa observada foi entre o acúmulo de placa e a

concentração de IgA específica no grupo cárie ativo (Yazaki et al.⁵⁶, 1999).

O propósito do estudo feito por Benderli et al.⁵ (2000), foi avaliar o efeito de drogas imunossupressoras sobre o nível de IgA salivar em pacientes que receberam transplantes de rim e a relação entre os níveis de IgA salivar e a incidência de cárie. Vinte e oito pacientes (18 a 54 anos) foram divididos em três grupos de acordo com o tempo pós – cirúrgico e comparados a um grupo controle. Os níveis de IgA salivar foram significativamente menores entre os pacientes transplantados do que entre os do grupo controle. Até o período de 12 meses após a cirurgia, a incidência de cárie dos três grupos de estudo não foi diferente da do grupo controle. Diferenças significantes quanto à incidência de cárie foram observadas para o grupo de pacientes transplantados há mais de 12 meses. Baixos níveis de IgA salivar induzidos por imunossupressão só puderam ser correlacionados ou associados com maior incidência de cárie após 12 meses de uso contínuo de imunossupressores (Benderli et al.⁵, 2000).

2.3.2 Imunização contra a cárie dentária

A descoberta que o *S. mutans* é o principal responsável pela cárie desencadeou a busca por meios eficazes para induzir a produção de anticorpos salivares contra componentes de superfície destas bactérias (Morisake et al.³⁰, 1983). Células inteiras de *S. mutans*, bem

como alguns de seus antígenos foram administrados a ratos gnotobióticos. Respostas imunes acentuadas, tanto na saliva quanto no soro, foram obtidas em animais que receberam as bactérias ou seus antígenos por tubo gástrico. Naqueles animais em que a administração foi realizada por via oral, infecção por cepa virulenta da bactéria induziu menor acúmulo de placa, números menores de *S. mutans* viáveis na placa e índices reduzidos de cárie, em comparação com animais controle (Morisake et al.³⁰, 1983).

Testando outra técnica de imunização, Katz et al.²⁰ (1993), inocularam ratos, intranasalmente, com um conjugado composto de antígenos I/II de *S. mutans* e subunidades B da toxina do cólera. Após a inoculação, alguns animais foram infectados com uma cepa virulenta de bactéria. Todos os animais, tanto vacinados e infectados quanto não vacinados e infectados exibiram elevados níveis de produção de IgA salivar e de IgG sérica, específicas contra *S. mutans*. Os ratos imunizados e infectados apresentaram níveis significativamente menores de cárie e de *S. mutans* na composição da placa do que os animais infectados, porém não imunizados. A técnica de imunização testada foi eficaz em reduzir a colonização por *S. mutans*, bem como os níveis de cárie (Katz et al.²⁰, 1993).

Em outro teste de imunização contra *S. mutans*, Childers et al.⁹ (1994), ofereceram cápsulas contendo glucosiltransferases produzidas pelo microrganismo, além de lipossomos desidratados, a sete voluntários humanos adultos. Estes, ingeriram as cápsulas por três dias consecutivos no início do estudo e novamente, após decorridos 28 dias. Houve aumento significativo nos níveis de IgA1 e IgA2

específicas contra o antígeno ingerido em cinco dos sete voluntários. Não foram observadas respostas de IgG e IgM salivar. Houve respostas baixas de IgG, IgM e IgA séricas. Esta foi a primeira experiência, em humanos, com uma vacina oral, desidratada, associando lipossomos e proteína (Childers et al.⁹, 1994).

Utilizando-se de técnicas de manipulação genética, Ma et al.²⁵ (1995), conseguiram gerar uma variedade de *Nicotiana tabacum*, produtora de proteínas, que associadas, formaram uma imunoglobulina secretora capaz de reconhecer antígenos I/II de *S. mutans*. Desta forma, foi demonstrado que plantas transgênicas podem ser utilizadas para a produção, em larga escala, de uma imunoglobulina A secretora recombinante para imunoterapia passiva de mucosa.

Três variedades de vacinas de lipossomos contendo glucosiltransferase de *S. mutans* foram testadas quanto à capacidade de proteção contra a cárie em ratos. Os animais receberam quatro doses de vacinas por tubo gástrico, foram infectados por *S. mutans* e receberam dieta cariogênica. Comparações foram feitas com animais de um grupo controle. Todos os ratos que receberam qualquer uma das variedades de vacinas apresentaram números significativamente menores de cáries (Childers et al.¹¹, 1996).

Novamente, uma vacina de lipossomos contendo preparos de glucosiltransferases de *S. mutans* foi administrada em voluntários humanos (cinco mulheres adultas). A vacina foi administrada intranasalmente, duas vezes, num intervalo de sete dias. Houve aumento na concentração de IgA1, específica contra a

glucosiltransferase na secreção nasal dos indivíduos e de IgA1 e IgA2, também específicas, na saliva (em menor escala). IgA e IgM séricas, específicas, também foram produzidas. A administração intranasal da vacina foi aparentemente eficaz na indução de resposta de IgA secretora, particularmente da subclasse IgA1 (Childers et al.¹⁰, 1997).

Van Raamsdonk et al.⁵¹ (1997) realizaram testes *in vitro* sobre o mecanismo de ação de anticorpos monoclonais e policlonais sobre o comprimento de cadeia e o crescimento de *Streptococcus sobrinus*. Colônias do microrganismo foram cultivadas em meio de cultura e em discos de hidroxiapatita. Sobre a hidroxiapatita também foram semeados *S. oralis* e *Actinomyces viscosus*. Nenhum dos tipos de anticorpos interferiu sobre a contagem total de nenhum dos microrganismos cultivados na hidroxiapatita. Os anticorpos interferiram sobre a adesividade das bactérias. Anticorpos policlonais influenciaram o comprimento de cadeia dos *S. sobrinus* em ambas as formas de cultura e a morfologia das colônias sobre hidroxiapatita (Van Raamsdonk et al.⁵¹, 1997). Anticorpos monoclonais atuaram sobre a morfologia das colônias de *S. sobrinus* sobre discos de hidroxiapatita.

Montgomery & Rafferty²⁹ (1998) imunizaram ratos com micropartículas bioadesivas de amido degradável, usadas para a inoculação de antígeno dinitrofenil, associado a citoquinas promotoras da resposta de imunoglobulina A. Os animais foram inoculados topicamente na mucosa oral, por injeção no epitélio sublingual da cavidade bucal e por tubo gástrico. Com as três vias de inoculação,

foram obtidas respostas imunológicas de longa duração com produção de IgA salivar específica e IgG sérica, também específica.

A possibilidade de prevenir a cárie dentária induzindo síntese de IgA secretora contra os agentes bacterianos mais importantes na etiologia da doença, foi percebida no começo dos anos 70. Os primeiros estudos em humanos utilizaram células inteiras de SM (Hajishengallis & Michalek¹⁷, 1999). Entretanto, considerações quanto à segurança da técnica levaram ao desenvolvimento de vacinas contendo subunidades dos microrganismos. A dificuldade então concentrou-se na descoberta de subunidades, realmente relevantes, na proteção. Outra importante questão refere-se à escolha da melhor via de administração para a vacina. Foram testadas, administrações tópicas, em diferentes áreas da mucosa bucal, administrações intranasais, injeções intramucosas, além da ingestão de cápsulas. Quanto à melhor época para a vacinação de humanos, parece ser mais apropriado que as crianças tenham suas respostas imunes induzidas antes mesmo da infecção pelo SM, que geralmente acontece entre 19 e 31 meses de vida. Desta forma, os SM seriam prejudicados em sua capacidade de colonização. Do ponto de vista da saúde coletiva, a vacina contra a cárie parece ser mais indicada para populações sob maior risco de cárie. Para populações com pouco risco para doença, a educação em saúde e o uso de flúor são suficientes para uma prevenção eficaz (Hajishengallis & Michalek¹⁷, 1999).

Partindo do princípio de que o grupo de enzimas chamadas de glucosiltransferases e o glucano por elas sintetizado são os constituintes mais importantes no processo de acumulação de SM na

superfície dentária, Taubman et al.⁴⁴ (2000), realizaram um estudo sobre a imunização em ratos. Dois peptídeos componentes das enzimas glucosiltransferases foram injetados, separadamente e em conjunto, subcutaneamente, na região próxima às glândulas salivares de 12 animais. Aqueles imunizados simultaneamente com ambos peptídeos, apresentaram níveis significativamente mais elevados de IgG sérica específica e IgA salivar específica. O mesmo grupo de animais apresentou níveis menores de cárie dentária após a infecção por *S. sobrinus*.

Leão et al.²⁴ (2000) verificaram, em camundongos, que a imunização com antígenos de *S. mutans* poderia aumentar a reatividade para antígenos cardíacos, causando lesões no miocárdio. Os resultados dos testes realizados em 14 animais e analisados por ELISA revelaram níveis aumentados de IgG anticorção e antimiosina. Histologicamente, foi também constatada degeneração celular dos tipos hidrópica e hialina no endocárdio e pericárdio de animais cuja imunização foi reestimulada por antígenos de superfície de *S. mutans*. Curiosamente, as lesões estavam presentes no grupo de camundongos com menores níveis de anticorpos anticorção, sugerindo um mecanismo de lesão do tipo celular.

Recentemente, Saito et al.⁴¹ (2001), avaliaram a capacidade protetora de uma vacina nasal contra antígeno de superfície de *S. mutans*, associada a uma mutação da toxina do cólera, em ratos. Houve respostas positivas com anticorpos encontrados em glândulas salivares e nódulos linfáticos cervicais. Houve ainda, redução na

colonização da cavidade bucal dos animais pelo microrganismos. A vacina foi avaliada como potencialmente efetiva (Saito et al.⁴¹, 2001).

3 PROPOSIÇÃO

Verificar a existência de correlações entre os níveis de IgA salivar anti - *Streptococcus mutans*, o acúmulo de placa bacteriana e a experiência de cárie em crianças com dentição mista.

4 MATERIAL E MÉTODO

A população estudada foi composta de crianças na faixa etária de oito a 12 anos do município de Juiz de Fora, Minas Gerais. Foram incluídas 118 crianças matriculadas na Escola Municipal Amélia Mascarenhas. Após solicitação de aprovação pelo Comitê de Ética do Hospital Universitário da UFJF, foram examinadas as crianças cujos pais ou responsáveis deram o consentimento informado, totalizando 110.

A partir daí, o estudo foi composto de uma fase clínica e outra laboratorial. Na fase clínica, as crianças, inicialmente em um único grupo, foram submetidas a alguns procedimentos e a partir de então, divididas em três grupos. Os procedimentos da fase clínica foram:

- a) levantamento dos índices CPOD (número de dentes permanentes cariados, perdidos e obturados), CPOS (número de superfícies dentárias permanentes cariadas, perdidas e obturadas), ceod (número de dentes decíduos cariados, com extração indicada e obturados) e ceos (número de superfícies dentárias decíduas cariadas, com extração indicada e obturadas). Os critérios de diagnóstico foram os propostos pela Organização Mundial de Saúde, World Health Organization⁵⁵, 1987 e os exames conduzidos

em consultório odontológico, com o uso de luz artificial e seringa triplice. Dentes molares e pré-molares foram contabilizados como cinco superfícies e incisivos e caninos como quatro superfícies. Após o exame, as crianças foram divididas em três grupos: 1) com lesões de cárie não tratadas (CA), 2) com lesões de cárie tratadas (CT) e 3) sem experiência de cárie (SC);

- b) coleta de saliva não estimulada de todas as crianças, em cálice esterilizado, num total de 1ml. À cada amostra de saliva foram imediatamente acrescentados 20µl de fluoreto de fenilmetilsulfonil 0,5 M (PMSF – SIGMA) e 20µl de azida sódica a 5%. As amostras foram então resfriadas e congeladas a -20 °C até seu uso;
- c) levantamento do componente relativo à placa bacteriana do Índice de Higiene Oral Simplificado (IHOS), Greene & Vermillion¹⁴, 1964, após a evidenciação da placa com solução de fucsina a 2%.

A fase laboratorial foi conduzida no Laboratório de Microbiologia e Imunologia do Departamento de Biociências e Diagnóstico Bucal da Faculdade de Odontologia de São José dos Campos – UNESP. Nela foi efetuada a quantificação da IgA salivar anti – *Streptococcus mutans* pelo teste ELISA (Yazaki et al.⁵⁶, 1999). Seguiram-se as seguintes etapas:

- a) cultivo da cepa GS5 (ATCC) de *Streptococcus mutans* em Tryptic Soy Broth (TSB – DIFCO) durante 48 horas a 37°C, em microaerofilia;
- b) interrupção do crescimento da cepa com adição de formaldeído a 0,080% e armazenamento da cultura em geladeira até o dia seguinte;
- c) coleta das células por centrifugação durante 20 minutos, a 7000 rpm, em temperatura ambiente e lavagem com solução salina tamponada com fosfato (PBS);
- d) padronização da suspensão por diluição até se atingir a densidade ótica (DO) de 0,400 a 595 nm;

A aplicação da técnica ELISA para a quantificação da IgA anti - *Streptococcus mutans* seguiu as seguintes etapas:

- a) sensibilização das placas de poliestireno com a suspensão de *Streptococcus mutans* em PBS, acrescida de tampão carbonato - bicarbonato de forma a obter-se uma concentração final de 0,1 M de carbonato – bicarbonato. Distribuição da suspensão nas placas e incubação por 2h, a 37 °C e por 18h a 4 °C;
- b) no momento do teste as placas foram lavadas três vezes com PBS e os sítios livres do poliestireno saturados com PBS – gelatina a 0,5%, por uma hora, a 37 °C;
- c) após, as placas foram lavadas mais duas vezes e as amostras de saliva, diluídas na razão 1/20, em PBS contendo Tween 20 0,1% e gelatina, adicionadas aos orifícios em

quaduplicata. Seguiu-se uma incubação por duas horas a 37 °C;

- d) após nova etapa de lavagem, seguiu-se adição de 50µl do conjugado anti – IgA humano específico para cadeia alfa, marcado com peroxidase, na concentração de 1µg/ml;
- e) a atividade da peroxidase foi revelada com o substrato Ortofenilenodiamino, 6 mg em 12 ml de tampão citrato/ácido cítrico, 0,1M, pH 5,5 e H₂O₂ a 0,03%. O substrato reagiu durante 30 minutos, à temperatura ambiente, sendo a reação bloqueada pela adição de 50µl de ácido sulfúrico 2,5N;
- f) a leitura das densidades óticas (DO) foi feita a 490nm em leitor ELISA, marca BIO RAD, modelo 3550.

As correlações existentes entre os títulos de anticorpos, índices de placa bacteriana, títulos de anticorpos e índices de cárie foram estatisticamente avaliadas por Análise de Variância, teste Mann-Whitney, coeficiente de correlação linear de Pearson e coeficiente de correlação ordinal de Spearman.

5 RESULTADOS

Neste capítulo serão apresentados os resultados obtidos através do experimento descrito no capítulo anterior. Os dados serão quantitativamente descritos e estatisticamente avaliados quanto à existência ou não de diferenças entre os grupos e de correlações ou não entre algumas variáveis.

5.1 Descrição da amostra

Tomaram parte neste estudo, 110 crianças entre oito e 12 anos de idade. A partir do levantamento dos índices de cárie ceod, ceos, CPOD e CPOS, foram criados três grupos: grupo de crianças sem experiência de cárie (SC), grupo com experiência de cárie, porém sem a presença de lesões não tratadas (CT) e grupo de crianças com experiência de cárie e presença de lesões não tratadas (CA). O grupo SC totalizou 43 indivíduos, o grupo CT 24 e o grupo CA contou com 43 crianças. A distribuição das crianças examinadas entre os grupos e por sexo, pode ser vista no Quadro 2 e na Figura 1.

Quadro 2- Distribuição dos indivíduos em grupos quanto à experiência de cárie

	feminino	masculino	total
CA	21	22	43
CT	13	11	24
SC	19	24	43
Total	53	57	110

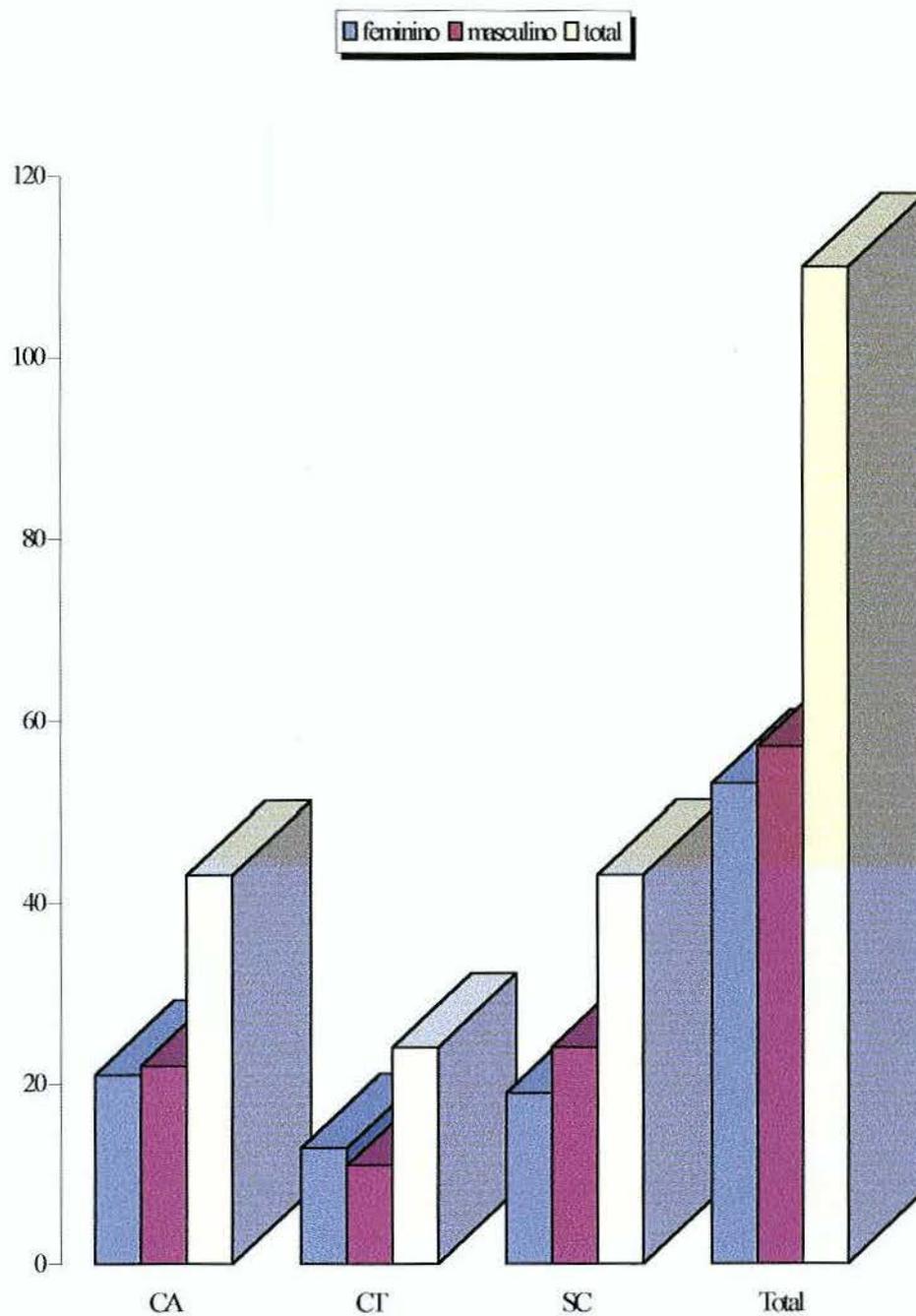


FIGURA 1- Distribuição dos indivíduos em grupos quanto à experiência de cárie. CA (grupo com experiência de cárie e lesões não tratadas); CT (grupo com experiência de cárie e sem lesões não tratadas); SC (grupo sem experiência de cárie)

A idade média das crianças examinadas foi de 9,2 anos. As médias dos índices ceod, ceos, CPOD e CPOS na amostra total foram respectivamente: 1,4; 2,9; 0,7 e 0,9. Para o IHOS, a média encontrada foi 1,5. Estes valores, bem como a distribuição dos resultados das mesmas variáveis por sexo, podem ser vistos nas Tabelas 1 e 2 e na Figura 2.

Tabela 1- Distribuição das variáveis idade, índices de cárie e índice de higiene oral

	mínimo.	máximo	média	desvio padrão
idade	8	12	9,1	1,12
ceod	0	8	1,4	1,9
ceos	0	20	2,9	4,3
CPOD	0	4	0,7	1,2
CPOS	0	10	0,9	1,8
IHOS	0,5	3	1,5	0,5

Tabela 2- Distribuição por sexo das variáveis idade, índices de cárie e índice de higiene oral

	masculino				femi nino			
	Mín.	Máx.	média	desvio padrão	Mín.	Máx.	média	desvio padrão
idade	8	12	9,1	1	8	12	9,2	1,2
ceod	0	5	1,1	1,5	0	8	1,8	2,3
ceos	0	20	2,7	4,3	0	19	3	4,4
CPOD	0	4	0,6	1	0	4	0,8	1,3
CPOS	0	10	0,9	1,8	0	9	1	1,7
IHOS	0,5	3	1,5	0,5	0,6	3	1,6	1,6

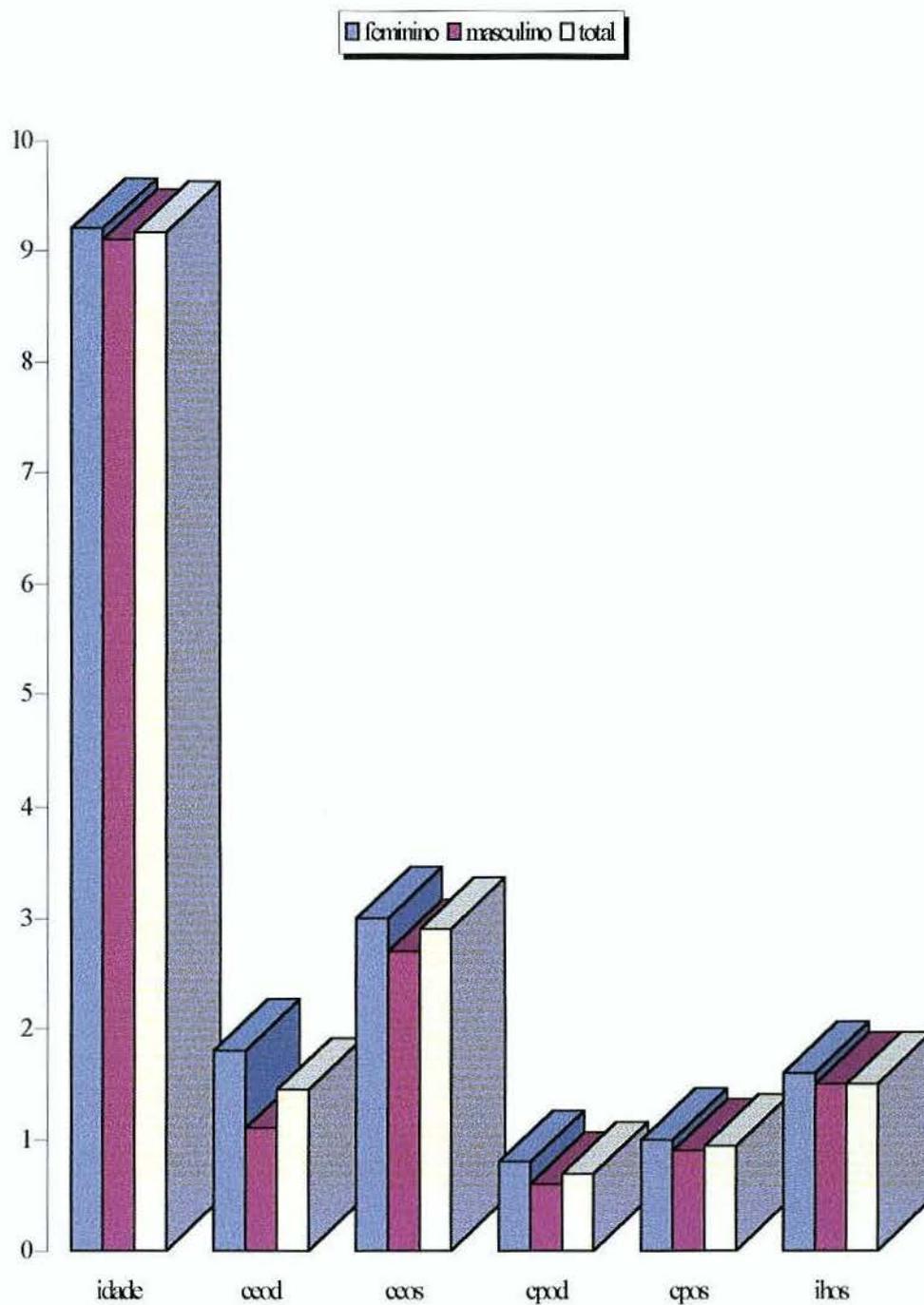


FIGURA 2- Valores médios das variáveis idade, índices de cárie e IHOS

5.2 Análise estatística

5.2.1 Comparação das variáveis entre os grupos

Foi efetuada a comparação estatística das variáveis ceod, ceos, CPOD, CPOS, IHOS encontradas para os grupos SC, CT e CA. A distribuição e comparação dos índices de cárie entre os grupos CT e CA estão expressas na Tabela 3. O índice ceos foi significativamente maior para o grupo CA do que para o grupo CT. Ainda que sem significância estatística, o índice ceod também foi maior para o grupo CA, ao contrário dos índices CPOD e CPOS, que foram maiores para o grupo CT.

Tabela 3– Distribuição e comparação dos índices de cárie entre grupos (valores médios)

	ceod	ceos	CPOD	CPOS
CT	1,8	2,5	1,4	2
CA	2,7	6*	1	1,2

*p= 0,002

O IHOS dos três grupos de crianças também foi estatisticamente comparado (Tabela 4). Os resultados para todos os grupos foram muito semelhantes, sem diferenças significantes.

Tabela 4- Comparação do IHOS entre grupos

	N	média	desvio padrão
SC	43	1,6	0,6
CT	24	1,5	0,5
CA	43	1,6	0,5

O nível de anticorpos IgA específicos para *S. mutans* foi expresso através de densidade ótica (DO). Densidades óticas mais elevadas indicaram maiores níveis de IgA. O grupo CA apresentou menores níveis de IgA, enquanto SC apresentou nível intermediário e CT, nível mais elevado. Entretanto, tais diferenças não foram estatisticamente significantes (Tabela 5).

Tabela 5- Comparação das densidades óticas entre grupos

	N	média	25%	75%
SC	43	0,163	0,062	0,342
CT	24	0,224	0,114	0,447
CA	43	0,146	0,080	0,302

5.2.2 Correlações

As correlações existentes entre as variáveis DO, índices de cárie e IHOS foram avaliadas através dos testes de Pearson e de Spearman. Usando-se o teste de Pearson, DO teve correlação negativa com IHOS para a amostra total, bem como para os diferentes grupos de indivíduos, exceto para o grupo CT, onde foi positiva. Para a amostra como um todo, as correlações entre DO e os índices de cárie na

dentição decídua foram negativas, enquanto a correlação com os índices de cárie na dentição permanente foi positiva. Tal padrão repetiu-se nas correlações dos grupos CA e CT+CA. Entretanto, para o grupo CT separadamente, foi encontrado padrão oposto, com a DO correlacionando-se positivamente com ceod e ceos e negativamente com CPOD e CPOS. Significância estatística foi observada nas correlações DO/ceod, DO/ceos e DO/CPOD para o grupo CA, DO/ceos para o grupo CT+CA e DO/CPOD para a amostra como um todo. Tais resultados podem ser vistos na Tabela 6 e na Figura 3.

Tabela 6- Correlações entre as variáveis DO, IHOS e índices de cárie, total e por grupos (Pearson)

	DO/IHOS	DO/ceod	DO/ceos	DO/CPOD	DO/CPOS
SC	-0,146				
CT	0,136	0,152	0,132	-0,131	-0,06
CA	-0,116	*-0,364	** -0,362	***0,392	0,191
CT+CA	-0,034	-0,223	***-0,249	0,224	0,113
Total	-0,068	-0,1	-0,132	*****0,221	0,132

*p=0.016

**p=0.033

***p=0.009

****p=0.042

*****p=0.020

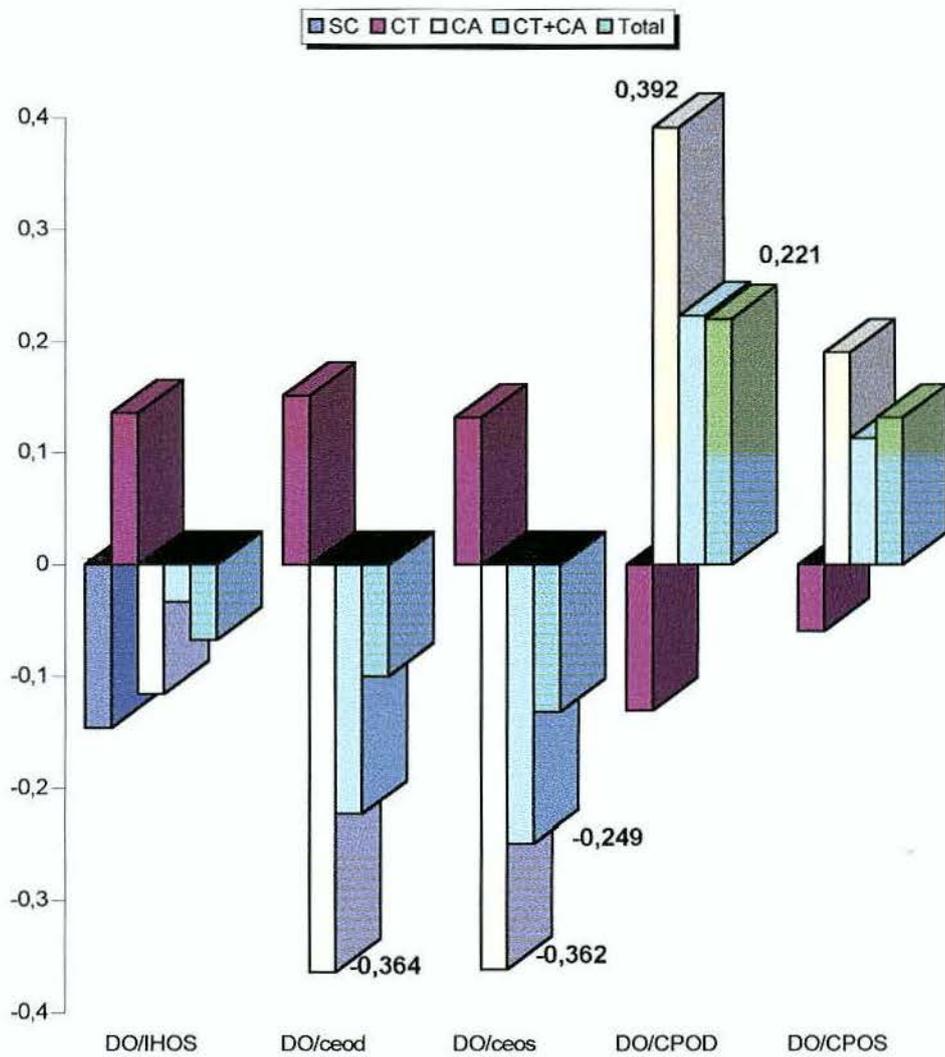


FIGURA 3- Correlações entre as variáveis DO, IHOS e índices de cárie (Pearson)

Aplicando-se o teste de Spearman, DO teve correlação negativa com IHOS para a amostra total, bem como para os diferentes grupos de indivíduos, exceto para o grupo CT, onde foi positiva. Para a amostra como um todo, as correlações entre DO e os índices de cárie na dentição decídua foram negativas, enquanto a correlação com os índices de cárie na dentição permanente foi positiva. Tal padrão repetiu-se nas correlações dos grupos CA e CT+CA. Entretanto, para o grupo CT separadamente, foi encontrado padrão oposto, com DO correlacionando-se positivamente com ceod e ceos e negativamente com CPOD e CPOS. Significância estatística foi observada nas correlações DO/ceod para o grupo CA e DO/ceos também para o grupo CA. Tais resultados podem ser vistos na Tabela 7 e na Figura 4.

Tabela 7- Correlações entre as variáveis DO, IHOS e índices de cárie, total e por grupos (Spearman)

	DO/IHOS	DO/ceod	DO/ceos	DO/CPOD	DO/CPOS
SC	-0,0785				
CT	0,0287	0,332	0,257	-0,209	-0,252
CA	-0,211	*-0,448	** -0,366	0,254	0,212
CT+CA	-0,139	-0,193	-0,212	0,126	0,062
Total	-0,114	-0,052	-0,06	0,107	0,08

*p=0.002

**p=0.016

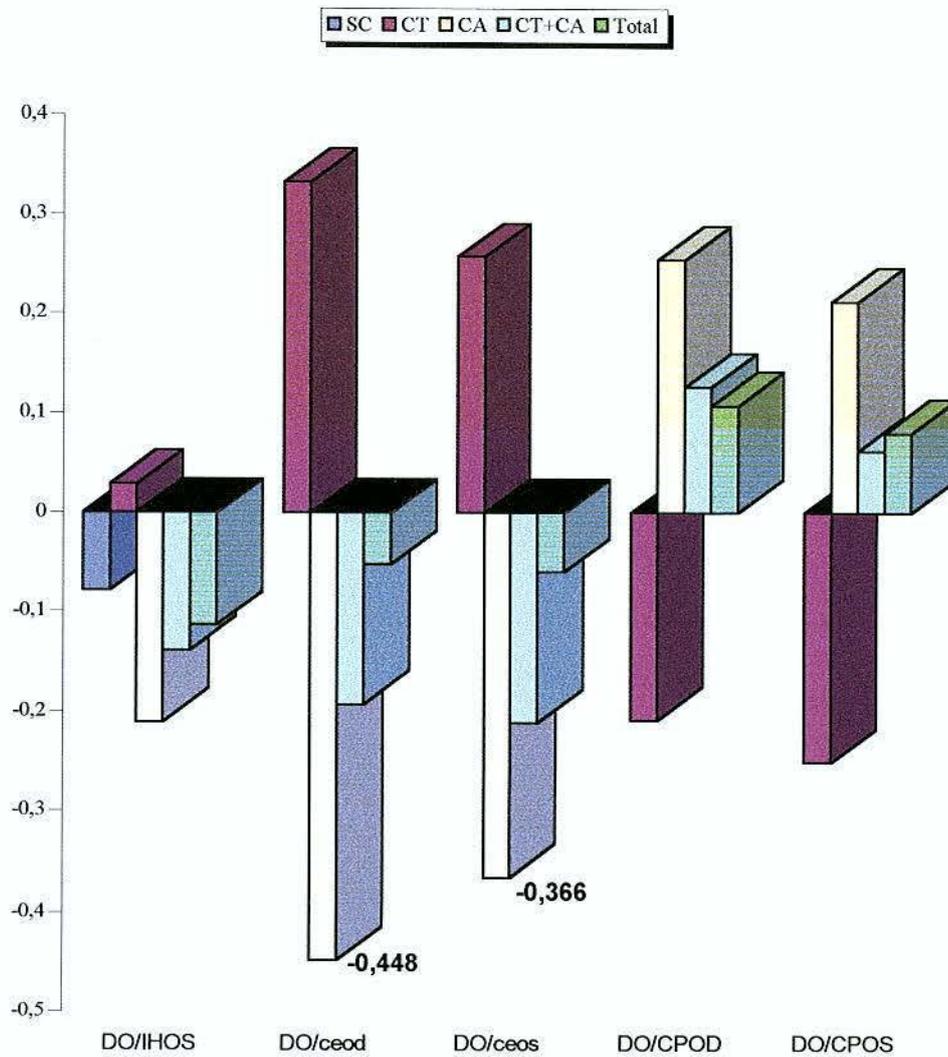


FIGURA 4- Correlações entre as variáveis DO, IHOS e índices de cárie (Spearman)

6 DISCUSSÃO

A natureza infecciosa da cárie dentária já foi reconhecida e é hoje amplamente aceita. Entretanto, ainda que sejam microrganismos e, mais especificamente, bactérias as principais responsáveis pelo desenvolvimento da doença, a natureza multifatorial da cárie a torna singular entre as doenças causadas pelo ataque de microrganismos a um hospedeiro suscetível (Killian & Brathall²¹, 1988; Johnson¹⁹, 1991).

O principal diferencial da cárie dentária ante as demais doenças infecciosas é o fato de não haver um agente etiológico específico, mas sim, um agregado de bactérias, a placa bacteriana. Nela, os microrganismos estão imersos em matriz polissacarídica que sabe-se hoje, ter papel fundamental na iniciação das lesões dos tecidos duros dos dentes (Nyvad & Fejerskov³³, 1988).

Ao longo do tempo, três teorias básicas sobre o desenvolvimento da cárie foram elaboradas. Inicialmente, criou-se a teoria químico – parasitária (Newbrun³², 1988). Com o desenvolvimento da Microbiologia, foi elaborada a teoria específica, que atribui a algumas espécies bacterianas, o papel de iniciar a doença. Os primeiros microrganismos a serem identificados como patogênicos foram os lactobacilos, devido a seu alto potencial acidúrico e acidogênico (Van Houte⁵⁰, 1994). Hoje, a etiologia da cárie está associada a outra espécie bacteriana, o *Streptococcus mutans*, na

verdade, um grupo de espécies, os SM (Maxwell et al.²⁸, 1993). Neste grupo, em populações ocidentais, predominam os *Streptococcus mutans* e *Streptococcus sobrinus*. Outros microrganismos também com papel acidogênico são *Streptococcus não mutans*, *Actinomices*, *Veilonela*, *Neisseria*, *Bacteroides*, *Bifidobacterium*, *Clostridium*, *Eubacterium*, *Propionibacterium* e *Rothia* (Van Houte⁵⁰, 1994).

Mais recentemente, levando-se em conta o importante papel da dieta sobre o desenvolvimento de lesões de cárie dentária, foi criada a teoria ecológica. Segundo ela, a placa bacteriana é benéfica ao homem, pois o principal grupo de microrganismos implicados na etiologia da cárie, os estreptococos, habitam a cavidade bucal e o trato respiratório superior humano, podendo às vezes serem isolados em outras partes do corpo, integrando a microbiota normal da cavidade bucal, como comensais (Whiley & Beighton⁵², 1998). Sua patogenia estabelece-se a partir de desequilíbrios ambientais, atribuídos principalmente à ingestão de sacarose, que levam à preponderância das espécies acidúricas e acidogênicas (Marsh²⁷, 1994). Além disso, a presença da sacarose leva os SM a produzirem glucanos extra – celulares, que impedem a difusão para o meio externo, dos ácidos produzidos no interior da placa (Van Houte⁵⁰, 1994).

Os estreptococos bucais podem pertencer a quatro diferentes grupos de espécies, totalizando 18 espécies. Os grupos e espécies são: a) grupo Salivarius (*S. salivarius*, *S. vestibularis*), b) grupo Mutans (*S. mutans*, *S. rattus*, *S. sobrinus*, *S. cricetus*, *S. downei*, *S. macacae*, *S. ferus*). c) grupo Anginosus (*S. anginosus*, *S. constellatus*, *S. intermedius*), d) grupo Mitis (*S. mitis*, *S. oralis*, *S. sanguis*, *S. gordonii*,

S. parasanguis, *S. crista*). Todos os grupos são capazes de produzir ácidos a partir de carboidratos. Os do grupo mutans, produzem polissacarídeos extra celulares, tais como o glucano (Whiley & Beighton⁵², 1998).

Os SM apresentam polimorfismo genético, com indivíduos diferentes carregando tipos geneticamente distintos de microrganismos. No caso de transmissão entre indivíduos, encontram-se espécies geneticamente iguais em indivíduos diferentes. A variabilidade genética dos SM, implica em diferentes padrões de virulência (Whiley & Beighton⁵², 1998).

O principal fator de virulência dos SM é sua capacidade de adesão à superfície dentária, proporcionada pela ação de enzimas glucosiltransferases, produzindo glucanos (Alaluusua et al.², 1997). Quatro antígenos de *S. mutans*, Ag I, Ag II, Ag III e Ag IV já foram detectados. Os Ag I e II, tem papéis distintos. Funcionam como adesinas, possibilitando a aderência do microrganismo à superfície dentária, além de estimularem a resposta imunológica (Russel et al.⁴⁰, 1980; Russel & Mansson – Rahemtulla³⁹, 1989).

Sendo adquiridos ainda na infância, antes dos 18 meses de vida (Rossoni et al.³⁸, 2000), a contagem das unidades formadoras de colônias de SM (UFC/ml) é um bom fator de predição do risco de cárie na dentição decídua (Thibodeau & O'Sullivan⁴⁸, 1995; Rossoni et al.³⁸, 2000), particularmente em crianças acima de 2,5 anos de idade (Roeters et al.³⁶, 1995). Entretanto, a aquisição de microrganismos cariogênicos por crianças ainda não está totalmente elucidada do ponto de vista ecológico. Roeters et al.³⁶ (1995) não puderam

correlacionar as contagens de SM entre pares mãe – filho, enquanto Azevedo et al.⁴, (1998), encontraram as mesmas espécies bacterianas em pares mãe – filho em 62% do total de cinquenta pares. A partir deste estudo, foi concluído que, ainda que as mães não sejam a única fonte de contaminação das crianças, as contagens de SM destes pares podem servir como critério para selecionar medidas de prevenção. Alaluusua et al.², 1997, também encontraram transmissão vertical mãe – filho, em um grupo de crianças com cárie de mamadeira.

Entre os fatores salivares de proteção contra a cárie, incluem-se lisosima, peroxidase salivar e hipotiocianato (gerado a partir da peroxidase). Estes podem ser encontrados em recém – nascidos nas mesmas concentrações vistas em adultos. Outros fatores como lactoferrina e mieloperoxidase só atingirão concentrações semelhantes às de adultos nos primeiros anos da adolescência. Todos estes fatores permanecem em altas concentrações, mesmo em idades avançadas, podendo ocorrer aumento nos casos de infecções bucais. A extração de um número significativo de dentes pode reduzir as concentrações destes fatores na boca, alterando os mecanismos de defesa locais (Tenovuo⁴⁵, 1998).

Dentre os fatores imunes salivares, de proteção contra a cárie, encontram-se IgA, IgG e IgM. A IgA anti – mutans, já pode ser encontrada em crianças a partir dos três anos, atingindo níveis adultos entre um e dois anos de vida. A IgG anti – mutans, desenvolve-se em idade pré – escolar (Arnold et al.³, 1977; Tenovuo et al.⁴⁶, 1987; Tenovuo,⁴⁵ 1998).

Uma das grandes questões no campo da imunologia da cárie, refere-se ao papel desempenhado pelas imunoglobulinas encontradas na saliva, especialmente daquelas específicas para *S. mutans*. Em pacientes adultos, correlação negativa entre nível de cárie e nível de IgA salivar foi encontrada por Orstavik & Brandtzaeg³⁴ (1975), Gregory et al.¹⁵ (1986), Gregory et al.¹⁶ (1990), Bratthall et al.⁶ (1997), enquanto Challacombe⁷ (1980) encontrou correlação positiva entre as mesmas variáveis, em indivíduos com lesões de cárie ativas. Hocini et al.¹⁸ (1993) não puderam determinar a existência de qualquer relação entre os níveis de IgA salivar e de cárie.

Estudando o papel da IgA salivar anti – mutans, em crianças e sua relação com o nível de cárie e infecção pelo microrganismo, Twetman et al.⁴⁹ (1981), encontraram maior concentração destas imunoglobulinas entre crianças livres de cárie, comparando-as a crianças com experiência de cárie, porém sem significância estatística.

Tenovuo et al.⁴⁶ (1987) não puderam correlacionar a concentração de IgA salivar à presença de *S. mutans* na placa bacteriana. Kirstila et al.²² (1998), não puderam atribuir significância à concentração da mesma classe de anticorpos como fator de predição de risco de cáries e Yazaki et al.⁵⁶ (1999) não encontraram correlação entre IgA salivar específica e níveis de *S. mutans* na saliva.

Rose et al.³⁷ (1994) afirmaram que a IgA salivar anti – mutans pode ter papel relevante na proteção contra a cárie. Conclusão semelhante foi expressa por Bratthall et al.⁶ (1997), que encontraram maior atividade de IgA anti – mutans entre crianças com pouca experiência de cárie, do que entre crianças com muita experiência de

cárie. Akioishi et al.¹ (1998), encontraram correlação positiva entre a concentração total de IgA salivar e a contagem de *S. mutans* na saliva.

Outras classes de imunoglobulinas podem guardar relação importante com os níveis de cárie dentária. A IgM encontrada na saliva pode agir, por mecanismo compensatório, à semelhança da IgA secretora, protegendo contra a cárie, em casos de deficiência desta (Arnold et al.³, 1977). As IgG e IgM séricas também estão associadas à proteção contra lesões de cárie, em adultos (Challacombe⁷, 1980; Gregory et al.¹⁵, 1986; Gregory et al.¹⁶, 1990) e a IgG sérica pode proteger crianças contra a doença (Tenovuo et al.⁴⁶, 1987). Fernandes et al.¹³ (1995) atribuíram papel protetor a IgM salivar em crianças com deficiência de IgA.

Ainda que, na literatura, o papel protetor das imunoglobulinas, salivares ou não, ainda não esteja totalmente esclarecido em relação à cárie dentária, a Imunologia tem buscado o desenvolvimento de vacinas que estimulem o organismo humano a produzir imunoglobulinas específicas contra *S. mutans*. Estudos em animais (Morisake et al.³⁰, 1983; Katz et al.²⁰, 1993; Childers et al.¹¹, 1996; Montgomery & Rafferty²⁹, 1998, Taubman et al.⁴⁴, 2000; Leão²⁴, 2000; Saito et al.⁴¹, 2001), induziram a produção de anticorpos séricos e salivares específicos contra *S. mutans* com redução no acúmulo de placa bacteriana e redução no número de novas lesões de cárie.

Em humanos, a busca por uma vacina contra *S. mutans*, resultou na obtenção de anticorpos específicos, séricos e salivares, particularmente de IgA secretora (Childers et al.⁹, 1994; Childers et al.¹⁰, 1997).

Na amostra examinada neste trabalho, não houve preponderância de nenhum dos sexos, sendo que os índices utilizados para quantificar a experiência de cárie dos indivíduos geraram resultados bastante semelhantes para meninos e meninas. A mesma semelhança entre os sexos, repetiu-se quanto ao acúmulo de placa bacteriana, medido pelo IHOS e idade.

Quando os indivíduos foram divididos em três grupos, houve uma quantidade menor de crianças no grupo CT, quando comparado aos grupos SC e CA. Tratando-se de uma amostra selecionada em escola pública, este fato pode refletir a dificuldade encontrada por aqueles que apresentam lesões de cárie, no acesso ao tratamento odontológico.

Comparando-se a experiência de cárie entre os três grupos, a única diferença estatisticamente significativa foi quanto ao índice ceos médio, que foi maior para o grupo CA do que para o grupo CT. Ainda que sem significância estatística, o índice ceod médio também foi maior no grupo CA, enquanto os índices CPOD e CPOS médios foram maiores no grupo CT. Levando-se em conta o fato de que a maior experiência de cárie na dentição decídua reflete a idade dos indivíduos examinados, pode-se considerar que a maior necessidade de tratamento odontológico na dentição decídua do grupo CA, indique menor acesso ao tratamento da mesma, seja pelo não oferecimento do serviço, ou pela falta de interesse por parte dos responsáveis pelas crianças.

Quanto ao acúmulo de placa bacteriana e a concentração salivar de IgA anti – mutans, ainda que diferenças numéricas entre os grupos

SC, CT e CA tenham sido encontradas, a ausência de significância estatística para as mesmas, não nos permite discutir estes dados.

De maneira geral, a correlação entre as variáveis acúmulo de placa bacteriana e concentração de IgA salivar anti – mutans foi negativa, porém baixa e sem significância estatística. Tal ausência de significância sinaliza a ineficiência dos anticorpos na limitação do volume da placa bacteriana. Estes resultados diferem daqueles encontrados por Yazaki et al.⁵⁶ (1999). Em seu estudo, os autores descreveram uma correlação positiva e significativa entre crianças com experiência de cárie.

No grupo CT, o comportamento das correlações entre a concentração de IgA e os índices de cárie, foi bastante diferente daquele do grupo CA. No primeiro grupo as correlações não foram significantes, positivas para a cárie na dentição decídua e negativas para a cárie na dentição permanente, enquanto no segundo, as mesmas correlações foram significantes (exceto para CPOS), negativas para a dentição decídua e positivas para a dentição permanente. Dentre os estudos encontrados na literatura, Orstavik & Brandtzaeg³⁴ (1975); Gregory et al.¹⁵ (1986), examinando adultos, encontraram correlação negativa entre o índice CPOD e o grau de secreção de IgA. Entretanto, além de não tratarem da faixa etária aqui incluída, nenhum dos dois estudos dividiu a amostra entre indivíduos com lesões de cárie tratadas e não tratadas.

Segundo os dados coletados, a IgA salivar anti – mutans tem papel protetor contra a cárie na dentição decídua de indivíduos com lesões ativas, não tratadas. De maneira oposta, os mesmos anticorpos

não tem papel protetor contra lesões de cárie na dentição permanente, tanto entre indivíduos com, quanto sem cáries ativas.

Observando-se as considerações feitas por Bratthall et al.⁶ (1997), quanto às possíveis interações entre IgA salivar e cárie dentária, pode-se notar: a possibilidade de que as moléculas de IgA aderidas à superfície dentária facilitem a adesão bacteriana, a organização da placa e a conseqüente formação de lesões cariosas e ainda, a possível ineficiência da IgA em desalojar e/ou eliminar as bactérias. Isto pode ser aplicado aos achados deste estudo. Num primeiro momento, quando da erupção dos dentes decíduos, a imaturidade do sistema imune (Naspitz et al.³¹, 1999), aliada a uma intensa e eficaz invasão bacteriana possibilitariam a formação de lesões cariosas. A partir daí, com a maturação do sistema imune e a prolongada exposição aos antígenos, a IgA salivar passaria a ser eficaz no combate aos microrganismos e à cárie. Porém, um aumento significativo na concentração dos anticorpos, particularmente daqueles aderidos à superfície dentária, facilitaria a adesão dos patógenos ao substrato dentário, promovendo maior formação de placa bacteriana e cáries, quando da erupção dos dentes permanentes.

O caráter multifatorial da cárie dentária ainda introduz outras variáveis importantes nesta evolução. A má higiene ou freqüente ingestão de carboidratos, poderia permitir aos microrganismos da placa bacteriana, sobrepujar quaisquer mecanismos imunológicos de defesa, por maior que fosse a concentração de anticorpos salivares específicos. De maneira oposta, a boa higiene e a dieta controlada,

poderiam tornar a ação das imunoglobulinas na cavidade bucal, secundária.

7 CONCLUSÃO

A partir das informações levantadas na literatura e dos dados obtidos neste estudo, foi possível concluir que, para crianças com dentição mista, entre 8 e 12 anos de idade:

- a) não há correlação entre o nível de IgA salivar anti – *Streptococcus mutans* e o acúmulo de placa bacteriana. Este fato é verdadeiro, independentemente da experiência de cárie e do acesso ao tratamento dentário dos indivíduos.
- b) foi observada correlação negativa entre a IgA salivar específica e a experiência de cárie medida pelos índices ceod e ceos, entre crianças com lesões de cárie sem tratamento, sugerindo o papel protetor do anticorpo sobre a dentição decídua;
- c) há correlação positiva entre a IgA salivar específica e a experiência de cárie medida pelo índice CPOD, ainda entre crianças com lesões de cárie sem tratamento;
- d) mais pesquisas são necessárias com o objetivo de esclarecer se os anticorpos específicos anti *S. mutans* tem um papel protetor, especialmente na dentição permanente.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS*

- 1 AKIYOSHI, N. et al. Quantificação da IgA secretora e sua correlação com os níveis salivares de *Streptococcus mutans* e lactobacilos em crianças de 7 e 8 anos de idade. **Rev Odontol Univ São Paulo**, São Paulo, v.12, n.2, p.129-36, jun. 1998.
- 2 ALALUUSUA, S. et al. Production of glucosyltransferases by clinical streptococcal isolates as determined by semiquantitative cross-dot assay. **Archs Oral Biol**, Oxford, v.42, n.6, p.417-22, 1997.
- 3 ARNOLD, R.R. et al. Secretory IgM antibodies to *Streptococcus mutans* in subjects with selective IgA deficiency. **Clin Immunol Immunopathol**, Orlando, v.8, n.3, p.475-86, Nov. 1977.
- 4 AZEVEDO, R.V.P. et al. *Streptococcus* do grupo mutans: isolamento, identificação e prevalência das espécies na saliva de pares mãe/filho. **Rev Odontol Univ São Paulo**, São Paulo, v.12, n.1, p.47- 50, jan./mar. 1998.
- 5 BENDERLI, Y. et al. The relation between salivary IgA and caries in renal transplant patients. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod**, St Louis, v.89, n.5, p.588-93, May 2000.

* Baseado em: ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS, Rio de Janeiro. Referências bibliográficas NBR 6.023. Rio de Janeiro, 2000. 22p.

- 6 BRATTHALL, D. et al. Immunoglobulin A reaction to oral streptococci in saliva of subjects with different combinations of caries and levels of mutans streptococci. **Oral Microbiol Immunol**, Copenhagen, v.12, s.n., p.212-8, 1997.
 - 7 CHALLACOMBE, S.J. Serum and salivary antibodies to streptococcus mutans in relation to the development and treatment of human dental caries. **Archs Oral Biol**, Oxford, v.25, n.7, p.495-502, 1980.
 - 8 CHALLACOMBE, S.J. et al. Natural antibodies in man to Streptococcus mutans: specificity and quantification. **Immunology**, Oxford, v.52, n.1, 143-50, 1984.
 - 9 CHILDERS, N.K.; ZHANG, S.S.; MICHALEK, S.M. Oral immunization of humans with dehydrated liposomes containing Streptococcus mutans glucosyltransferases induces salivary immunoglobulin A2 antibody responses. **Oral Microbiol Immunol**, Copenhagen, v.9, n.3, p.146-153, June 1994.
 - 10 CHILDERS, N.K.; TONG, G.; MICHALEK, S.M. Nasal immunization of humans with dehydrated liposomes containing Streptococcus mutans antigen. **Oral Microbiol Immunol**, Copenhagen, v.12, n.6, p.329-35, Dec. 1997.
-

- 11 CHILDERS, N.K. et al. Properties of practical oral liposome *Streptococcus mutans* glucotransferase vaccines for effective induction of caries protection. **Oral Microbiol Immunol**, Copenhagen, v.11, n.3, p.172-80, June 1996.
- 12 COWMAN, R.A. et al. Growth inhibition of oral streptococci in saliva by anionic proteins from two caries-free individuals. **Infect Immun**, Washington DC, v.37, n.2, p.513-8, Aug. 1982.
- 13 FERNANDES, F.R.C. et al. Dental caries and salivary anti *Streptococcus mutans* antibodies in IgA deficient children. **Adv Mucosal Immunol**, New York, v.371b, p.1145-8, 1995.
- 14 GREENE J., VERMILLION, J.R. The simplified oral hygiene index. **J Am Dent Assoc**, v.68, n.1, p.25-31, Jan. 1964.
- 15 GREGORY, R.L. et al. Salivary immunoglobulin A and serum antibodies to *Streptococcus mutans* ribosomal preparations in dental caries-free and caries-susceptible human subjects. **Infect Immun**, Washington DC, v.51, n.1, p.348-51, Jan. 1986.
- 16 GREGORY, R.L. et al. Function of anti-*Streptococcus mutans* antibodies: inhibition of virulence factors and enzyme neutralization. **Oral Microbiol Immunol**, Copenhagen, v.5, p.181-8, Aug. 1990.

- 17 HAJISHENGALLIS, G.; MICHALEK, S.M. Current status of a vaccine against dental caries. **Oral Microbiol Immunol**, Copenhagen, v.14, n.1, p.1-20, Feb. 1999.
- 18 HOCINI, H. et al. Unexpectedly high levels of some presumably protective secretory immunoglobulin A antibodies to dental plaque bacteria in salivas of both caries-resistant and caries-susceptible subjects. **Infect Immun**, Washington DC, v.61, n.9, p.3597-604, Sept. 1993.
- 19 JOHNSON, N.W. The nature of caries process and the need for markers of risk. In: _____. **Risk markers for oral diseases: dental caries**. Cambridge: Cambridge University Press, 1991. v.1, Chap. 1, p. 9-39.
- 20 KATZ, J. et al. Protective salivary immunoglobulin A responses against *Streptococcus mutans* infection after intranasal immunization with *S. mutans* antigen I/II coupled to the B subunit of cholera toxin. **Infect Immun**, Washington DC, v.61, n.5, p.1964-71, May 1993.
- 21 KILIAN, M.; BRATHALL, D. Imunologia da cárie. In THYLSTRUP, A.; FEJERSKOV, O. **Tratado de cariologia**. Trad. S. Weyne. Rio de Janeiro: Cultura Médica, 1988. p.155-63.
-

- 22 KIRSTILA, V. et al. Longitudinal analysis of the association of human salivary antimicrobial agents with caries increment and cariogenic micro-organisms: a two-year cohort study. **J Dent Res**, Washington DC, v. 77, n.1, p. 73-80, Jan. 1998.
- 23 KUGLER, J. et al. Excavation of caries lesions induces transient decrease of total salivary immunoglobulin A concentration. **Eur J Oral Sci**, Copenhagen, v.104, n.1, p.17-20, Feb. 1996.
- 24 LEÃO, M.V.P. et al. Análise dos anticorpos reativos com coração em camundngos Balb/c imunizados com *Streptococcus mutans*. **Pesq Odontol Bras**, v.14, supl., p.98, 2000 (Apresentado à 17 reunião anual da SBPqO, São Paulo, 2000. Resumo A306).
- 25 MA, J.K.-C. et al. Generation and assembly of secretory antibodies in plants. **Science**, Washington DC, v.268, p.716-719, May 1995.
- 26 MARCOTTE, H.; LAVOIE, M.C. Oral microbial ecology and the role of salivary immunoglobulin A. **Microbiol Mol Biol Rev**, Washington DC, v.62, n. 1, p.71-109, Mar. 1998.
- 27 MARSH, P.D. Microbial ecology of dental plaque and its significance in health and disease. **Adv Dent Res**, Washington DC, v.8, n.2, p.263-271, July 1994.

- 28 MAXWELL, H. et al. Modern management of dental caries: the cutting edge is not the dental bur. **J Am Dent Assoc**, Chicago, v.124, n.6, p.37-44, June 1993.
- 29 MONTGOMERY, P.C.; RAFFERTY, D.E. Induction of secretory and serum antibody responses following oral administration of antigen with bioadhesive degradable starch microparticles. **Oral Microbiol Immunol**, Copenhagen, v.13, s.n., p.139-49, 1998.
- 30 MORISAKI, I. et al. Effective immunity to dental caries: enhancement of salivary anti-*Streptococcus mutans* antibody responses with oral adjuvants. **Infect Immun**, Washington DC, v.40, n.2, p.577-91, May 1983.
- 31 NASPITZ, G.M. et al. Anti-*Streptococcus mutans* antibodies in saliva of children with different degrees of dental caries. **Pediatr Allergy Immunol**, Copenhagen, v.10, n.2, p.143-8, May 1999.
- 32 NEWBRUN, E. História e teorias iniciais sobre a etiologia da cárie
In: _____. **Cariologia**. Trad. J.C.B. Teles, J.F.L. Andrade; MG Cabral; M.C.Q.B. Prado; P.E.C. Peres; S.M.C. Oliveira. 2.ed. São Paulo: Ed. Santos, 1988. Cap. 1, p.1-15.
- 33 NYVAD, B.; FEJERSKOV, O. Formação, composição e ultra-estrutura dos depósitos microbianos na superfície dos dentes. In

- THYLSTRUP, A.; FEJERSKOV, O. **Tratado de cariologia**. Trad. S. Weyne. Rio de Janeiro: Cultura Médica, 1988. p.43-60.
- 34 ORSTAVIK, D.; BRANDTZAEG, P. Secretion of parotid IgA in relation to gingival inflammation and dental caries experience in man. **Arch Oral Biol**, Oxford, v.20, p.701-4, 1975.
- 35 PERCIVAL, R.S.; MARSHALL, P.D.; CHALLACOMBE, S.J. Age-related changes in salivary antibodies to commensal oral and gut biota. **Oral Microbiol Immunol**, Copenhagen, v.12, p.57-63, 1997.
- 36 ROETERS, F.J.M. et al. Lactobacilli, Mutans streptococci and dental caries: alongitudinal study in 2-year-old children up to the age of 5 years. **Caries Res**, Basel, v.29, p.272-279, 1995.
- 37 ROSE, P.T. et al. IgA antibodies to Streptococcus mutans in caries-resistant and -susceptible children. **Pediatr Dent**, Chicago, v.16, n.4, p.272-275, July/Aug. 1994.
- 38 ROSSONI, E. et al. Colonização de estreptococos do grupo mutans em crianças de 12 a 72 meses de idade. **Pesq Odontol Bras**, v.14, supl., p.47, 2000 (Apresentado à 17 reunião anual da SBPqO, São Paulo, 2000. Resumo I 283).

- 39 RUSSEL, M.W.; MANSON-RAHEMTULLA, B. Interaction between surface protein antigens of *Streptococcus mutans* and human salivary components. **Oral Microbiol Immunol**, Copenhagen, v.4, p.106-11, 1989.
- 40 RUSSEL, M.W. et al. Protein antigens of *Streptococcus mutans*: purification and properties of a double antigen and its protease-resistant component. **Infect Immun**, Washington DC, v.28, n.2, p.486-93, May 1980.
- 41 SAITO, M. et al. Protective immunity to *Streptococcus mutans* induced by nasal vaccination with surface protein antigen and mutan cholera toxin adjuvant. **J Infect Dis**, Chicago, v.183, n.5, p.823-26, Mar. 2001.
- 42 SMITH, D.J. et al. Association of salivary immunoglobulin A antibody and initial *mutans streptococcal* infection. **Oral Microbiol Immunol**, Copenhagen, v.13, n.5, p.278-85, Oct. 1998.
- 43 TAPPUNI, A.R.; CHALLACOMBE, S.J. A comparison of salivary immunoglobulin A (IgA) and IgA subclass concentrations in pre-dentate and dentate children and adults. **Oral Microbiol Immunol**, Copenhagen, v.9, n.3, p.142-145, June 1994.
- 44 TAUBMAN, M.A. et al. Coimmunisation with complementary glucosyltransferase peptides results in enhanced immunogenicity

- and protection against dental caries. **Infect Immun**, Washington DC, v.68, n.5, p.2698-703, 2000.
- 45 TENOVUO, J. Antimicrobial function of human saliva-how important is it for oral health? **Acta Odontol Scand**, Oslo, v.56, n.5, p.250-6, Oct. 1998.
- 46 TENOVUO, J.; LEHTONEN, G.P.; OALTONEN, A.S. Serum and salivary antibodies against *Streptococcus mutans* in young children with and without detectable oral *Streptococcus mutans*. **Caries Res**, Basel, v.21, n.4, p.289-96, 1987.
- 47 TENOVUO, J. et al. Antimicrobial factors in saliva: ontogeny and relation to oral health. **J Dent Res**, Washington DC, v.66, n.2, p.475-9, Feb. 1987.
- 48 THIBODEAU, E.A.; O'SULLIVAN, D.M. Salivary mutans streptococci and incidence of caries in preschool children. **Caries Res**, Basel, v.29, p.148-53, 1995.
- 49 TWETMAN, S.; LINDNER, A.; MODEER, T. Lysoszyme and salivary immunoglobulin in caries free and caries susceptible patients. **Swed Dent J**, Jonkoping, v.5, n.1, p.9-14, 1981.
- 50 VAN HOUTE, J. Role of micro-organisms in caries etiology. **J Dent Res**, Washington DC, v.73, n.3, p.672-81, Mar. 1994.

- 51 VAN RAAMSDONK, M. et al. Effect of antibodies on the chain length and growth of *Streptococcus sobrinus*. **Caries Res**, Basel, v.31, p.35-40, 1997.
- 52 WHILEY, R.A.; BEIGHTON, D. Current classification of the oral streptococci. **Oral Microbiol Immunol**, Copenhagen, v.13, n.4, p.195-216, Aug. 1998.
- 53 WIDERSTROM, L.; BRATTHALL, D.; HAMBERG, K. Immunoglobulin A antibody activity to mutans streptococci in parotid, submandibular and whole saliva. **Oral Microbiol Immunol**, Copenhagen, v.7, n.6, p.326-331, Dec. 1992.
- 54 WIDERSTROM, L.; BRATTHALL, D.; HAMBERG, K. Immunoglobulin A antibodies to mutans streptococci in human saliva and serum comparing fresh and subcultivated strains and activity in repeated saliva samples. **Oral Microbiol Immunol**, Copenhagen, v.9, n.5, p.278-83, Oct 1994.
- 55 WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Oral health surveys: basic methods**. 3.ed. Geneva: WHO, 1987. 53p.
- 56 YAZAKI, S.C. et al. IgA anti-streptococcus mutans em crianças com e sem cárie dentária. **Rev Odontol Univ São Paulo**, São Paulo, v.13, n.3, p. 211 - 7, jul./set. 1999.

Anexo A – Modelo do termo de consentimento de pais ou responsáveis

Senhor pai, mãe ou responsável,

Estamos iniciando um trabalho junto a crianças entre 8 e 12 anos de idade, estudantes da Escola Municipal Amélia Mascarenhas e gostaria de contar com a participação de seu (sua) filho (a). As crianças que participarem deste estudo serão examinadas para uma avaliação do número de dentes cariados que possuem, da escovação de seus dentes e também, será coletado um pouco de saliva. Para a coleta de saliva, basta que a criança cuspa um pouco dentro de um copo de vidro. Todos estes procedimentos serão feitos por mim e são os mesmos feitos pelos dentistas da prefeitura que cuidam de suas crianças. Não há portanto, qualquer tipo de risco para seu filho ou filha. Além desta autorização por escrito, vou perguntar também a seu filho ou filha se deseja participar deste trabalho. Caso ele ou ela não queira, não será obrigado a isto, mesmo que o (a) senhor (a) tenha assinado esta autorização. Certo de contar com sua colaboração, solicito que preencha os espaços abaixo com o nome de seu filho ou filha, a data e sua assinatura.

Grato,

Flávio de Freitas Mattos

Autorizo meu filho (a): _____ a

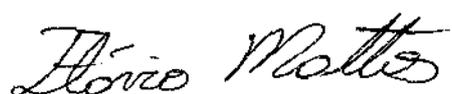
participar do trabalho acima descrito.

Juiz de Fora, ____ / ____ / ____

Assinatura do pai, mãe ou responsável

Autorizo a reprodução xerográfica deste trabalho

São José dos Campos, 18/01/2002


Flávio de Freitas Mattos