

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ

DANYEGE LIMA ARAÚJO FERREIRA

CONTAGEM DE *STREPTOCOCCUS MUTANS*,
STREPTOCOCCUS SOBRINUS E *LACTOBACILLUS*
SPP E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTAGONISTA
DA MICROBIOTA EM PORTADORES DE SÍNDROME
DE DOWN

TERESINA
2009

DANYEGE LIMA ARAÚJO FERREIRA

CONTAGEM DE *STREPTOCOCCUS MUTANS*,
STREPTOCOCCUS SOBRINUS E *LACTOBACILLUS*
SPP E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTAGONISTA
DA MICROBIOTA EM PORTADORES DE SÍNDROME
DE DOWN

Dissertação apresentada ao Programa de Mestrado em Ciências e Saúde como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências e Saúde, área de concentração: Análise de Situações de Saúde.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Regina Ferraz Mendes
Co-Orientadora: Prof.^a Dr.^a Francisca Lúcia de Lima

TERESINA
2009

S. mutans, *S. sobrinus* e *Lactobacillus*.

FICHA CATALOGRÁFICA

Serviço de Processamento Técnico da Universidade Federal do Piauí
Biblioteca Comunitária Jornalista Carlos Castello Branco

F383c Ferreira, Danyege Lima Araújo.
Contagem de *streptococcus mutans*, *streptococcus sobrinus* e *lactobacillus* spp e avaliação da atividade antagonista da microbiota em portadores de síndrome de Down [manuscrito] / Danyege Lima Araújo Ferreira . – 2009.
90 f.

Impresso por computador (printout).
Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Piauí,
Programa de Mestrado em Ciências e Saúde, 2009.
“Orientadora: Prof.^a Dr.^a Regina Ferraz Mendes”
“Co-Orientadora: Prof.^a Dr.^a Francisca Lúcia de Lima”

1. Síndrome de Down – Aspectos Odontológicos.
2. *S. mutans* . 3. *S. sobrinus* . 4. *Lactobacillus* spp.
5. Bacteriocina. I. Título.

CDD 616.858 842

DANYEGE LIMA ARAÚJO FERREIRA

CONTAGEM DE *STREPTOCOCCUS MUTANS*, *STREPTOCOCCUS SOBRINUS* E *LACTOBACILLUS SPP* E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTAGONISTA DA MICROBIOTA EM PORTADORES DE SÍNDROME DE DOWN

Dissertação apresentada ao Programa de Mestrado em Ciências e Saúde como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências e Saúde, área de concentração: Análise de situações de Saúde, sob orientação da Prof.^a Dr.^a Regina Ferraz Mendes, Co-Orientadora Prof.^a Dr.^a Francisca Lúcia de Lima .

Banca Examinadora:

Prof.^a Dr.^a Regina Ferraz Mendes
Universidade Federal do Piauí
Orientadora / Presidente

Prof.^a Dr.^a Regina Maria Nardi Drummond
Universidade Federal de Minas Gerais
1º Examinador

Prof.^a Dr.^a Marcoeli Silva de Moura
Universidade Federal do Piauí
2º Examinador

Ao meu marido, pelo amor e
companheirismo, aos meus filhos Rodrigo e Felipe
e aos meus pais, pelo incentivo
e apoio em todas as etapas
da minha vida.

AGRADECIMENTOS

A Deus agradeço por mais um trabalho realizado e pela a presença constante, em todas as minhas realizações.

À minha orientadora, Prof.^a Dr.^a Regina Ferraz Mendes, pela incentivo, apoio, confiança e paciência; exemplo de seriedade científica e entusiasmo no ensino dos fundamentos para execução deste estudo.

À minha co-orientadora, Prof.^a Dr.^a Francisca Lúcia de Lima, pela dedicação dispensada em todas as ocasiões que precisei e pela importante participação em todas as etapas desta pesquisa, além da amizade sincera e companheirismo.

À Coordenação do Mestrado em Ciências e Saúde da Universidade Federal do Piauí

Ao meu colaborador, Prof^o. Dr^o. Raimundo Rosendo Prado Júnior, pelas críticas essenciais ao bom desempenho da dissertação.

A minha colaboradora Prof.^a Dr.^a Maria José dos Santos Soares, por ter cedido toda estrutura física do Laboratório de Microbiologia (Centro de Ciências da Saúde/ UFPI) contribuindo dessa forma na concretização deste trabalho.

Às biólogas bolsistas Juliana Rodrigues Rocha, Nayara Dannielle, Mayara do LABMICRO/UESPI.

Aos portadores de síndrome de Down e seus responsáveis que participaram dessa pesquisa, pela colaboração e ajuda.

À direção do Centro Integrado de Educação Especial (CIES), por ter cedido gentilmente à instituição para realização do trabalho.

Às colegas, Reyjanne Barros de Carvalho e Regina Fátima Fernandes, pela disponibilidade e ajuda constante durante a realização deste trabalho.

Aos colegas do Laboratório de Microbiologia da Universidade Federal do Piauí Sharla, Jorge e Mara por serem sempre atenciosos e prestativos.

Aos alunos Bolsista do PIBIC, Lara, Larissa, Reynaldo pela ajuda, interesse e participação no desenvolvimento desta pesquisa;

A todos os funcionários do LIB, pela disposição em colaborar com esta pesquisa, em especial á Prof.^a Dr.^a Semiramis Jamil Hadad do Monte.

Ao Prof^o. Dr^o. José Machado Moita Neto pela orientação estatística.

.

Ao meu marido, Eriverton, pela eterna compreensão e pelo apoio nas horas difíceis.

Aos meus filhos, Rodrigo e Felipe, que mesmo tão pequenos mostram-me uma nova forma de amar e ensinaram-me a valorizar as verdadeiras prioridades da vida.

Aos meus pais, Valdônio e Lúcia, pelos exemplos e incentivo.

Aos meus irmãos pela presença e pelo carinho.

RESUMO

INTRODUÇÃO: A síndrome de Down (SD), mutação genética caracterizada pela tríplice cópia do cromossomo 21, acomete oito mil crianças por ano no Brasil. Com relação às manifestações bucais em pacientes com SD, observa-se que existem divergências quanto à prevalência de cárie. Desta forma, as contradições existentes justificam a necessidade de avaliações adicionais sobre a cárie em portadores de SD, envolvendo a análise de diferentes fatores relacionados ao desenvolvimento da doença. **OBJETIVOS:** O presente estudo investigou os níveis salivares de *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sobrinus* e *Lactobacillus* spp utilizando a contagem por unidade formadoras de colônia (ufc) em portadores de SD, e no grupo controle (GC) e detectou amostras de *S. mutans*, *S. sobrinus* produtoras de bacteriocinas em portadores de SD, comparando o GC **MÉTODOS:** Estudo analítico e transversal constituído por 20 indivíduos com SD e um GC constituído por igual número de irmãos de indivíduos não portadores da síndrome na cidade de Teresina-PI. Esse estudo determinou os níveis salivares de *S. mutans*, *S. sobrinus* e *Lactobacillus* spp aplicando o método descrito por Krasse (1986) e avaliou a atividade antagonista pelo método da sobrecamada. **RESULTADOS:** Foi observado que a maioria dos pacientes com SD e do GC apresentavam baixa contagem de *S. mutans* e alta contagem *Lactobacillus* spp; as amostras isoladas dos pacientes com síndrome de Down produziram mais SATB do que o GC tanto no isoantagonismo como no heteroantagonismo. **CONCLUSÃO:** A contagem bacteriana, a produção de SATB na instalação e progressão da doença cárie ainda é controversa, sendo necessárias mais pesquisas para tentar estabelecer qual a relação entre o erro genético que resulta na síndrome de Down com a ocorrência ou não da cárie dentária nesses pacientes.

PALAVRAS-CHAVE: Síndrome de Down. *S. mutans*, *S. sobrinus* e *Lactobacillus* spp, Bacteriocina.

ABSTRACT

BACKGROUND: Down`s syndrome, genetic mutation characterized by a triple copy of chromosome 21, affects eight thousand children per year in Brazil. With regard to the buccal manifestations in patients with SD, it is observed that divergences how much to the caries indices exist. In such a way, the existing contradictions justify the necessity of evaluations add on the caries in SD carriers, involving the analysis of different related factors to the development of this illness. **OBJECTIVES:** This study assessed the salivary levels of *S. mutans*, *S. sobrinus* and *Lactobacillus* using the colony-forming units (cfu) in patients with SD and in the control group (CG), and detected strains of bacteriocin-producing *S. mutans*, *S. sobrinus* cultures in patients with SD unlike GC patients. **METHODS:** This analytical and cross-sectional study consisting by 20 individuals with SD and a GC consisting of equal number of brothers of not carrying individuals of the syndrome in the city of Teresina-PI. This study salivares of S determined the levels *S. mutans*, *S. sobrinus* and *Lactobacillus* spp applying the described method for Krasse (1986) and evaluated the antagonistic activity for the method of the agar-overlay. **RESULTS:** The majority of patients with SD and GC had low *S. mutans* and high *Lactobacillus* spp salivary count; samples isolated from patients with Down`s syndrome produced more BLS than GC, both on isoantagonism and heteroantagonism. **CONCLUSION:** The bacterial counting, the production of bacteriocin like substances in onset and progression of dental caries by *S. mutans* and *S. sobrinus* is still controversial. Further studies are necessary to try to establish what is the relationship between the genetic disorder that results in Down syndrome and the occurrence of dental caries in these patients.

KEY WORDS: Down`s syndrome. *S. mutans*, *S. sobrinus*, *Lactobacillus*. Bacteriocin.

LISTA DE GRÁFICOS

- Gráfico 1 – Distribuição dos cuidadores segundo sua classe econômica. Teresina (PI), 2009.....48
- Gráfico 2 – Distribuição de crianças com síndrome de Down e grupo controle quanto ao início da higiene oral. Teresina (PI), 2009.....50
- Gráfico 3 – Distribuição dos portadores de síndrome de Down e do grupo controle quanto ao número de escovações dentárias diárias. Teresina (PI), 2009.....51

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Número de unidades formadoras colônias/ mL de saliva (ufc/mL) de <i>S. mutans</i> e <i>S. sobrinus</i>	41
Tabela 2 – Número de unidades formadoras colônias/ mL de saliva (ufc/mL) de <i>Lactobacillus</i> spp.....	43
Tabela 3 – Distribuição da amostra segundo a faixa etária. Teresina (PI), 2009.....	47
Tabela 4 – Contagem de <i>S. mutans</i> e <i>S. sobrinus</i> na saliva das crianças com síndrome de Down e do Grupo Controle. Teresina (PI), 2009.....	54
Tabela 5 – Contagem de <i>Lactobacillus</i> spp na saliva das crianças com síndrome de Down e do Grupo Controle. Teresina (PI), 2009.....	56
Tabela 6- Contagem de <i>S. mutans/S. sobrinus</i> e <i>Lactobacillus</i> spp na saliva das crianças com síndrome de Down e do Grupo Controle com cárie. Teresina (PI), 2009.....	57
Tabela 7 - Contagem de <i>S. mutans/S. sobrinus</i> e <i>Lactobacillus</i> spp na saliva das crianças com síndrome de Down e do Grupo Controle livres de cárie. Teresina (PI), 2009.....	57
Tabela 8 - Atividade isoantagonista de amostras de <i>Streptococcus mutans</i> isoladas de pacientes com Síndrome de Down e do Grupo controle contra bactérias Gram positivas. Teresina (PI), 2009.....	59
Tabela 9 – Atividade isoantagonista de amostras de <i>S. mutans</i> isoladas de pacientes com Síndrome de Down contra pacientes com Síndrome de Down e do Grupo Controle contra Grupo Controle quanto à presença ou não de cárie. Teresina (PI), 2009.....	61
Tabela 10 – Atividade isoantagonista de amostras de <i>Streptococcus mutans</i> isoladas de pacientes com Síndrome de Down e do Grupo controle contra <i>S. mutans</i> IM/UFRJ . Teresina (PI)2009.....	63
Tabela 11 – Atividade isoantagonista de amostras de <i>S. mutans</i> isoladas de pacientes com Síndrome de Down e do Grupo controle contra <i>S. mutans</i> IM/UFRJ quanto à presença ou não de cárie. Teresina (PI), 2009.....	63
Tabela 12 – Atividade heteroantagonista de amostras de <i>Streptococcus mutans</i> isoladas de pacientes com Síndrome de Down e do Grupo controle contra bactérias Gram positivas de referência. Teresina (PI),.....	65

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Esquema de diluição e dos meios de cultura.....	39
Figura 2: Desenho esquemático da avaliação da atividade antagonista.....	44

LISTA DE ABREVIATURAS E OU SIGLAS

ABEP	Associação Brasileira de Estudos de Populacionais
C	cariado
ceo-d	dentes decíduos cariados, perdidos e obturados – dente
CEP	Comitê de Ética e Pesquisa
CIES	Centro Integrado de Educação Especial
CPOD	dentes permanentes cariados, perdidos e obturado – dente
CPOS	dentes permanentes cariados, perdidos e obturado – superfície
EGM	estreptococos do grupo mutans
g/mL	gramas por mililitro
GC	Grupo Controle
MSB	Mitis Salivarius Bacitracina
SD	síndrome de Down
UFC	unidades formadoras de colônias
UI/mL	unidade por mililitro
µL	microlitro
µm	micrometro
UFPI	Universidade Federal do Piauí
mL	mililitro
SD	síndrome de Down
SATB	Substâncias Antagonistas do Tipo Bacteriocina

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	13
2. REVISÃO DA LITERATURA	
2.1. Aspectos sistêmicos e bucais de pacientes com síndrome de Down	17
2.2. <i>Streptococcus mutans</i> , <i>Streptococcus sobrinus</i> , <i>Lactobacillus</i> spp e cárie	20
2.3. Síndrome de Down, <i>Streptococcus mutans</i> e cárie	23
2.4. Bacteriocina produzida por micro-organismos orais	27
3. OBJETIVOS	
3.1. Objetivo Geral	33
3.2. Objetivos Específicos	33
4. METODOLOGIA	35
4.1. Delineamento do estudo	35
4.2. Universo	36
4.3. Amostra	36
4.4. Considerações Éticas	36
4.5. Variáveis estudadas	36
4.5.1. Variáveis independentes	37
4.5.2. Variáveis dependentes	37
4.6. Critérios de Inclusão	37
4.7. Pré-Teste	38
4.8. Exame clínico da cavidade bucal	38
4.9. Isolamento e manutenção das amostras de <i>Streptococcus mutans</i> , <i>Streptococcus sobrinus</i>	38
4.9.1. Identificação das amostras bacterianas nos níveis de gênero e espécie	41
4.9.1.1. Coloração de gram	42
4.9.1.2. Prova da catalase	43
4.9.1.3. Identificação de espécies do grupo <i>S. mutans</i>	42
4.10. Isolamento e manutenção das amostras de <i>Lactobacillus</i> spp	43
4.11. Avaliação da atividade antagonista	45
4.12. Método Estatístico	47
5 RESULTADOS	48
5.1. Caracterização da amostra	52
5.2. Hábitos de higiene bucal	53
5.3. Época da última consulta odontológica	58
5.4. Análise microbiológica	58
5.4.1. Pesquisa de <i>Streptococcus mutans</i> , <i>Streptococcus sobrinus</i> e <i>Lactobacillus</i> spp	67
5.4.2. Bacteriocina	69
6. CONCLUSÃO	
7. REFERENCIAS	

1 INTRODUÇÃO

1 INTRODUÇÃO

A Síndrome de Down (SD) é a anormalidade cromossômica autossômica mais comum, com incidência em torno de 1:600 a 1:1000 nascimentos, sendo que 95% dos pacientes têm trissomia do cromossomo 21 (47XX ou 47XY,+21), resultante de não-disjunção meiótica (DESAI; FAYETTEVILLE, 1997; HATTORI ET AL., 2000). O seu risco aumenta com a idade da mãe, de 1 em 1000 nascidos vivos para mães com até 30 anos e, de 9 para cada 1000 nascidos vivos, para mães acima de 40 anos (DESAI; FAYETTEVILLE, 1997).

Com relação às manifestações bucais em pacientes com SD, esses indivíduos possuem uma maior prevalência de doença periodontal que os indivíduos não sindrômicos (WHYMAN ET AL., 1995; VELASCO ET AL., 1997). Analisando os índices de cárie, existem divergências. Alguns autores relatam menor prevalência de cáries que os não sindrômicos, apesar de tais indivíduos possuírem dificuldades motoras que dificultam a higienização bucal (BARNET ET AL., 1986; SHAPIRA, ET AL., 1991). Segundo Almeida ET AL. (2005) a baixa prevalência de cárie nos portadores de SD poderia ser atribuída à presença de agentes moduladores da microbiota da cavidade oral desses indivíduos, isto é, bactérias produtoras de substâncias denominada de bacteriocina atuam contra as bactérias cariogênicas diminuindo a prevalência de cárie nesses indivíduos. Para outros, a prevalência da cárie em pacientes com SD não é significativamente diferente quando comparada à de outros indivíduos (ULSETH ET AL., 1991) e ainda encontram-se relatos de que a prevalência de cárie nos portadores de SD é maior (BIANCHI; CUERVAS; JARAMILO, 1991; SCHMIDT, 1995).

Acredita-se que os *Streptococcus mutans* são os principais agentes etiológicos da cárie dentária (BALAKRISHNAN, SIMMONDS e KILIAN; 2002). A maioria dos *S. mutans* produz bacteriocinas (mutacinas) que são proteínas antibacterianas capazes de inibir o crescimento de bactérias genética e ecologicamente relacionadas (GRÖNROOS; ALALUUSUA, 1998), bem como o crescimento de outras espécies de bactérias Gram-positivas (TAGG; DAJANI; WANNAMAKER, 1976).

No entanto, existe informação conflituosa e controversa considerando a produção de bacteriocina e o risco de cárie. Alaluusua, Matto; Grönroos (1996), não encontraram uma correlação positiva entre a atividade de cárie e o número de *S. mutans* no biofilme dental, por outro lado, Fábio et al. (1987) mostraram uma associação positiva entre a produção de *S. mutans* e a produção de bacteriocina.

Em 1995, Morinushi, Lopatin e Tanaka , realizaram um estudo em 75 indivíduos com idade entre 2 e 18 anos, portadores de SD para avaliar a relação entre biofilme dental, experiência de cárie e títulos séricos de anticorpos *S. mutans* e *Streptococcus mitis*. Verificaram que, embora, tenham encontrado uma correlação positiva entre a severidade das lesões e os títulos de anticorpos IgM para *S. mutans*, a prevalência de cárie nesses indivíduos foi baixa.

Kamiya et al (2005a), pesquisaram a produção de mutacinas em *S. mutans* isolados de pacientes com cárie e pacientes livres de cárie e observaram distintos perfis de produção de mutacina entre os dois grupos.

Portanto a detecção ou não de Estreptococos do grupo mutans (EGM) não pode ser tomada como determinante da atividade cariogênica, mas identificar pacientes suscetíveis ao desequilíbrio do processo de des-remineralização ajuda no planejamento e execução de programas preventivos (BUISCHI; AXELSSON, 1997; POWELL, 1998; TANZER, 1999).

A partir do exposto, a escolha do tema justifica-se pela preocupação com a saúde bucal dos portadores de síndrome de Down e dos poucos dados na literatura, uma vez que se tem observado dificuldade de acesso aos serviços odontológicos e programas de promoção de saúde bucal. Somando-se a estas razões, são necessárias mais pesquisas para tentar estabelecer qual a relação entre o erro genético que resulta na SD com a ocorrência ou não da cárie dentária nesses pacientes. Desta forma, esse trabalho avaliou variáveis microbiológicas envolvidas na etiopatogenia da cárie dental em indivíduos com síndrome de Down e um grupo controle na cidade de Teresina-PI.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Aspectos sistêmicos e bucais de pacientes com síndrome de Down.

Thompson; McInnes; Willard, em 1993, relataram que a SD foi inicialmente descrita em 1866, por John Langdon Hayden Down. No entanto, somente em 1959, Le Jeune; Gauthier; Turpin, demonstraram que a síndrome era resultante da trissomia do cromossomo 21.

A Síndrome de Down (SD) é a anormalidade cromossômica autossômica mais comum, com incidência em torno de 1:600 a 1:1000 nascimentos, ela pode ocorrer de 3 formas: a primeira acontece em 96% dos casos e é denominada trissomia simples do cromossomo 21, onde ocorre uma não-disjunção cromossômica na fase pré-zigótica; o segundo tipo pode ocorrer através de uma migração de parte ou de um cromossomo inteiro que se liga a outro cromossomo sendo chamada de translocação, abrangendo 2% dos casos e por último acometendo os 2% restantes, tem o mosaïcismo que se caracteriza pela distribuição de algumas células com 47 cromossomos e outras com 46 cromossomos (MUSTACCHI; PERES, 1999).

Dentre as alterações de ordem geral Silva e Sousa (2001) destacaram: olhos com largas pregas do epicanto, estrabismos, miopia, anomalias cardíacas, genitália pequena, mãos largas, dedos curtos e hipotonia muscular, braquidactilia. Foi observado também atraso no desenvolvimento pré e pós natal com peso e estatura geralmente abaixo do normal.

Com relação aos aspectos craniofaciais e bucais, Garcia (1994) salientou a braquicefalia e o nariz geralmente pequeno associado a uma ponte nasal baixa. A maxila é menor, quando comparada a indivíduos normais, o palato duro apresenta-se menor e de forma ogival, língua fissura e hipertrofia papilar.

As crianças com SD apresentam um grande risco de desenvolver leucemia, (WILSON, 1994). Aproximadamente 1 em cada 200 crianças com SD é afetada pela

leucemia, em comparação com as crianças normais é 10 a 15 vezes maior nas crianças com esta síndrome. (DESAI; FAYETTEVILLE, 1997; WILSON, 1994).

As estruturas do esqueleto orofacial nestes pacientes apresentam-se alteradas, ocasionando hipodesenvolvimento ou hipoplasia da parte média da face. Os ossos do nariz, do palato e da maxila são relativamente menores em tamanho quando comparados a indivíduos normais ou quando comparado ao osso da mandíbula, o qual nos indivíduos com SD apresentam um desenvolvimento normal, ocasionando nesses pacientes um prognatismo tipo classe III de Angle (VITTEK ET AL., 1994)

Outra anomalia comum a esta síndrome é um defeito no funcionamento da glândula tireóide. Os indivíduos com SD tendem a apresentar hipotireoidismo, em cerca de 30%; logo essa disfunção da tireóide acaba influenciando no desenvolvimento tanto dos ossos como dos dentes, acarretando um hipodesenvolvimento ósseo e dentário com atraso na erupção dos dentes (KUMASAKA ET AL., 1997).

Uma grande porcentagem de indivíduos com SD apresenta comprometimento de seus órgãos, o que requer, por conseguinte uma atenção especial no tratamento odontológico destes pacientes. Cerca de 40 a 50 % dos portadores desta síndrome apresentam algum tipo de anomalia cardíaca (DESAI; FAYETTEVILLE, 1997; PILCHER, 1998), sendo a mais comum o prolapso da válvula mitral que atinge aproximadamente 50% de todas as doenças cardíacas nesses pacientes (PILCHER, 1998).

Segundo Pilcher (1998), a hipotonia muscular acomete cerca de 80% dos portadores com SD, causando dificuldades no andar e na coordenação motora. Na cavidade bucal, a musculatura hipotônica afeta principalmente o posicionamento da língua diminuindo sua eficácia na deglutição, altera a abertura e fechamento da boca, como também uma menor eficácia na mastigação (PILCHER, 1998).

A dentição apresenta anomalias características. Dentre as anomalias dentais, as mais freqüentes são: oligodontia, microdontia, hipodontia, fusão e taurodontia. A hipodontia ocorre nas duas dentições e a microdontia é a mais prevalente das alterações observadas (PERETZ; KATZENEL; SHAPIRA, 1999).

Segundo Silva e Sousa (2001) os pacientes com SD também apresentam baixa estatura, oligofrenia, braquicefalia e discreta microcefalia. As paredes cranianas são finas e ocorre atraso no fechamento das fontanelas. Pescoço é curto, largo e a pele é frouxa na região da nuca. A ponte nasal é plana com tendência de epicanto interno; e as orelhas são de implantação baixa com aparência dobrada típica. Os olhos apresentam manchas da íris (Manchas de Brushfield), hipoplasia na zona periférica da íris e opacificação do cristalino.

A doença periodontal parece ser a patologia bucal mais prevalente nos deficientes mentais comparado a cárie dentária, dentre eles, os que possuem SD. Esta doença tende a aumentar com a idade principalmente em decorrência da precariedade da higiene bucal, justificada pelo déficit intelectual e motor e pela incapacidade desses pacientes, para o desempenho correto dos procedimentos necessários à remoção mecânica da placa bacteriana (GABRE; MARTINSSON; GAHNBERG, 2001).

Para Bimstein et. al. (2002) a redução numérica dos linfócitos e os defeitos funcionais de quimiotaxia e fagocitose celular dos neutrófilos e monócitos, resultando em comprometimento local da resistência a infecção, constituem as alterações mais comumente observadas na resposta imunológica do portador da síndrome de Down, as quais o torna susceptível à doença periodontal.

Silva, Sandra e Aguiar (2003) realizaram um estudo comparativo para avaliar a erupção dental em 115 crianças com SD e 115 crianças sem SD, com idades de 1 a 12 anos e de ambos os gêneros. Observaram um atraso na erupção dental, tanto nos dentes decíduos quanto nos permanentes, nas crianças com SD, quando comparadas com as crianças do outro grupo. Além disso, verificaram que as crianças com SD não exibiram dentes irrompidos antes de 1 ano de idade e que a dentição decídua dessas crianças se completa entre 3 e 4 anos de idade, sendo os incisivos laterais permanente superiores e inferiores apresentaram erupção retardada.

Iervolino (2005) descreve ainda que, quanto às patologias geralmente associadas à síndrome, 40% possuem problemas cardíacos congênitos, 12% anomalias do trato gastrointestinal; a incidência de problemas visuais é alta, sendo que 30% apresentam problemas graves de miopia; 40 a 75% apresentam perdas

auditivas uni ou bilaterais e, na infância, muitos apresentam maior sensibilidade no sistema respiratório, mesmo não apresentando problemas anatômicos.

Moraes et al. (2007) avaliaram a idade dentária em 102 pacientes com SD, por meio de radiografias panorâmicas. A análise estatística dos resultados mostrou que 70,91% dos indivíduos do gênero masculino e 61,21% do gênero feminino apresentaram idade dentária adiantada. Com relação às diferenças entre idade dentária e idade cronológica, dois terços dos indivíduos dos dois gêneros possuíam idades dentárias com até 12 meses de diferença, o que significa que estão dentro do padrão de normalidade.

Santangelo et al. (2008) avaliaram as características bucais de 20 crianças com SD da APAE de Mogi das Cruzes, por meio de exame clínico e aplicação de questionário para identificar as alterações oclusais e os hábitos mais freqüentes dos pacientes portadores de SD. As principais características bucais observadas foram: macroglossia, hipotonia muscular, respiração bucal, palato ogival, poucas lesões de cárie e problema periodontal severo. Dentre as alterações oclusais os resultados apontados, neste estudo, permitiram sugerir a tendência de maior freqüência de maloclusão de mordida aberta anterior e cruzada, além de observar a respiração bucal e interposição lingual como os hábitos nocivos mais prevalentes.

Avaliando a prevalência de maloclusão em 57 portadores de Síndrome de Down, na cidade de Teresina (PI), por meio de exame clínico, Soares et al. (2009) observaram que a maloclusão classe III de Angle foi a mais prevalente; por outro lado, a mordida aberta e cruzada anterior foram de baixa prevalência entre os portadores de síndrome de Down. Não houve diferença estatística na prevalência de mordida cruzada posterior ($p= 0,35$).

2.2 *Streptococcus mutans, Streptococcus sobrinus, Lactobacillus spp* e cárie.

A cárie é uma doença infecciosa oportunista, de caráter crônico e multifatorial, fortemente influenciada pelos carboidratos da dieta e pela ação dos componentes salivares (WEYNE; HARARI, 2002). Tem como resultado a desmineralização da

superfície dental por ácidos orgânicos provenientes da fermentação dos carboidratos da dieta, pelas bactérias (LEITES; PINTO; SOUSA, 2006). Newbrum (1988) acrescentou um quarto fator – o tempo – que deve ser considerado em qualquer discussão sobre a etiologia da cárie.

A contagem de EGM na saliva e/ou biofilme dentário é um dos critérios que podem ser usados para determinação do risco de cárie de indivíduos ou de uma população porque amostras de saliva refletem o número de superfícies dentais colonizadas (BRATTHALL; HOSZEK; ZHAO, 1996). Azevedo et al.(1998) ressaltaram que a análise qualitativa e quantitativa de EGM em nível de espécie pode servir como parâmetro para selecionar métodos de prevenção de cárie dentária.

O´Sullivan; Thibodeau (1996) estudaram a correlação entre lesões de cárie e número de *S. mutans* e *Lactobacillus* spp presentes no biofilme e na saliva . Por razões práticas, o número de *S. mutans* e *Lactobacillus* spp, presentes no biofilme, era comumente estimado, a partir de amostras colhidas na saliva, sendo a contagem de microrganismos presentes na saliva considerada uma razoável indicadora da totalidade da carga microbiológica dentária. Entretanto, os valores obtidos a partir de contagem salivar pareciam ser baixos para explicarem ou predizerem as lesões de cárie. Com o objetivo de avaliar a diferença no número de *S. mutans* e *Lactobacillus* spp presentes no biofilme e na saliva, os autores avaliaram 60 crianças, com idades entre 14 e 15 anos, em relação às variáveis lesões de cárie, índice de placa e número de *S. mutans* e *Lactobacillus* presentes no biofilme e na saliva estimulada. Após a análise dos resultados, os autores destacaram que o número de *S. mutans* e *Lactobacillus* spp presentes no biofilme foi baixo e não explicava a variação da cárie nos pacientes examinados.

Com o propósito de analisar bioquímica e microbiologicamente a saliva de escolares pertencentes a cinco diferentes classes sócio-econômicas (A à E), Spolidorio (1997), realizou um estudo em 200 escolares na faixa etária de 6 a 8 anos, da região de Piracicaba. Os resultados obtidos demonstraram que os índices microbiológicos, baseados no número de *Lactobacillus* spp e EGM foram considerados altos em todas as classes sócio-econômicas estudadas. Houve correlação estatisticamente significativa entre a classe sócio-econômica e o número EGM. Por outro lado, foi observado que o número de *Lactobacillus* spp nas crianças estudadas não depende das classes sócio-econômicas.

As lesões de cárie estão associadas à presença de colônias de *S. mutans* e *Lactobacillus* no biofilme e saliva. Esses tipos de microorganismos produzem uma redução do pH e, conseqüentemente, uma desmineralização dos tecidos dentários duros. Existe uma forte relação entre o número de colônias de *S. mutans* e a prevalência de cárie dentária, pois os indivíduos que apresentam níveis altos de *S. mutans* desenvolvem um maior número de lesões do que aqueles que apresentam baixos níveis. Os *S. mutans* têm um papel importante tanto na iniciação como na progressão das lesões de cárie, enquanto que os *Lactobacillus* spp apenas atuam na progressão da cárie, uma vez que a lesão já tenha sido iniciada. (TANZER; LIVINGSTON; THOMPSON, 2001)

Os dentes são colonizados por bactérias que existem no biofilme, cujo metabolismo ocasiona flutuações no pH. Este metabolismo é influenciado por fatores determinantes que por si só não levam ao desenvolvimento de cárie, mas modulam sua atividade. Entre esses encontramos a composição do próprio biofilme, composição e capacidade tampão da saliva, velocidade da secreção salivar e composição e freqüência da dieta. Além dos fatores determinantes, existem outros fatores que variam de população para população nos quais se incluem os fatores sócio-econômicos, educacionais e comportamentais (WEYNE; HARARI, 2002; PERINETTI et al., 2005).

Um início precoce dos cuidados de higiene bucal está também relacionado com um menor número de lesões de cárie em crianças muito jovens. As crianças nas quais colônias de *S. mutans* são detectadas logo após a erupção dos dentes e crianças com níveis altos de colônias de *S. mutans* têm também níveis altos de colônias de *Lactobacillus* spp. Estas crianças têm uma incidência de cárie dentária significativamente mais alta do que as crianças que sofreram uma colonização mais tardia e com níveis de colônias mais baixos (HABIBIAN et al., 2002).

Okada et al., (2005) em estudo de um ano com 60 pré-escolares (três a cinco anos de idade) compararam a incidência de cárie com a colonização por EGM. A prevalência de *S. mutans* e *S. sobrinus* encontrada foi de 61,7% e 56,6%, respectivamente. Treze (21,7%) crianças albergavam apenas *S. mutans*, 10 (16,6%) apenas *S. sobrinus* e 24 (40%) eram colonizados por ambas as espécies. Em 13 crianças não foi possível a detecção de *S. mutans*. Crianças colonizadas por *S. mutans* e *S. sobrinus* tinham maiores índices de prevalência de cárie do que as colonizadas apenas por *S. mutans* ($p < 0,05\%$).

Avaliando a relação entre risco de cárie, capacidade tampão salivar e número de colônias de *S. mutans* e *Lactobacillus* spp na saliva, Paiva e Ferreira, em 2009, realizaram um estudo em 42 crianças com idade média de 6.1 anos, de um centro dentário privado de Odontopediatria. A contagem dos *S. mutans* e *Lactobacillus* spp na saliva foram realizadas inicialmente e após o reforço do ensino das instruções de higiene bucal. As crianças foram reavaliadas quinze dias depois. Os autores observaram que o número de colônias de bactérias influencia significativamente o grau de risco de cárie para uma capacidade tampão alta ($p=0.000$) e média ($p=0.046$). Ao comparar o número de colônias de bactérias entre a primeira e a segunda avaliação verificaram que 62% dos pacientes apresentaram uma redução do número de colônias ($n=26$), sendo que em 45% das crianças houve um decréscimo deste número para valores mínimos.

2.3 Síndrome de Down, *Streptococcus mutans* e cárie.

Stabholz et al.(1991) estudaram a prevalência de cárie e sua correlação com a colonização de *S. mutans* e pH salivar em crianças de 8 a 13 anos de idade com SD, com retardo mental e com crianças não síndrômicas. O CPOS encontrado nas crianças com SD foi menor que o de crianças não síndrômicas e crianças com retardo mental. A contagem de *S. mutans* foi menor nos pacientes com SD (37,2ufc/mL), sendo que nos pacientes não síndrômicos foi de 48,2ufc/mL e nos com retardo mental de 93,9ufc/mL. Oitenta e quatro por cento das crianças com SD não apresentavam cárie. A contagem de *S. mutans* correlacionava-se com o CPOS em todos os grupos. Não houve correlação entre pH salivar e prevalência de cárie.

A literatura mostra que os indivíduos com SD possuem uma maior prevalência de doença periodontal que os indivíduos normais, mas analisando os índices de cáries, observa-se o oposto (SHAPIRA et al., 1991; MORINUSHI; LOPATIN; TANAKA, 1995).

As ausências dentárias e conseqüentes espaçamentos e os atrasos de erupção (menor tempo de exposição aos fatores cariepatogênicos) seriam responsáveis pela menor prevalência de cárie nos pacientes com SD em relação

aos grupos controle (GC), porque um menor número de dentes e superfícies dentárias estariam sendo contabilizados nesta população, segundo Chan (1994).

Uma outra possível explicação para a baixa prevalência de cárie nos portadores de SD é a presença de agentes moduladores da microbiota da cavidade oral desses indivíduos. Bactérias produtoras de substâncias, chamadas de bacteriocina, com ação contra bactérias cariogênicas. (PINAZZO; VIANNA, 1998)

Yarat et al., 1999, estudando 51 pacientes turcos com SD de 6 a 24 anos de idade, não encontraram diferença significativa quanto aos índices de prevalência de cárie comparando-os com os do grupo controle, não síndromicos.

Fiorati; Spósito; Borsatto (1999) corroboram estes resultados investigando 25 pacientes SD com idade entre 6 e 36 anos, pois 32% dos pacientes tinham alta prevalência, 40% - média e 4% - baixa. Seis deles estavam livres de cárie e tinham entre seis e 15 anos de idade.

Campos (2001) pesquisando a contagem e prevalência de EGM em 40 crianças com SD (faixa etária de até 12 anos de idade) encontrou 23 (57,5%) colonizadas por *S. mutans*, sendo que seis (15%) albergavam também *S. sobrinus* (com menos de 10^5 ufc/mL). Dezesesseis crianças apresentam níveis de *S.* menores que 10^5 ufc/mL, seis com níveis entre 10^5 - 10^6 ufc/mL. Apenas uma criança com cinco anos de idade apresentou 10^6 ufc/mL. Dezesete crianças não apresentavam níveis detectáveis de EGM e nenhuma delas estava monocolonizada por *S. sobrinus*.

Gabre, Martinsson e Gahnberg (2001) realizaram um estudo longitudinal sobre a incidência e prevalência de cárie, mortalidade do dente e perda interproximal do osso em 124 adultos com retardo mental, incluindo pacientes com SD, durante 8,5 anos. Os resultados desse estudo mostraram que a incidência e prevalência de cárie em indivíduos com SD foi inferior quando comparada aos pacientes com retardo mental e; por outro lado, a perda óssea foi bem elevada em relação aos demais pacientes.

Moraes et al, em 2002, estudando a prevalência de cárie em 38 pacientes com SD observaram que os indivíduos portadores de SD, apresentaram uma baixa prevalência de cárie, tanto para o gênero masculino como feminino e os índices ceo-d e CPO-D encontrados nos indivíduos com SD foram baixos e semelhantes às crianças não síndromicas da rede pública de ensino.

Marinho de Jesus (2002) examinando 26 crianças com SD com idade entre 12 e 48 meses (24 de média), encontrou apenas quatro (7,69%) delas com manchas brancas e lesões cariosas cavitadas. Em metade delas não foi possível a detecção de *S. mutans*. O nível de colonização por *S. mutans* aumentava significativamente com a idade das crianças.

Siqueira e Nicolau (2002) avaliaram 17 crianças com SD e 18 crianças não-sindrômicas quanto aos componentes salivares: pH, fluxo, concentrações de ácido siálico e proteínas e atividade da amilase e peroxidase. Antes de ser coletada a saliva era estimulada com um pedaço de parafina por 10 minutos e posteriormente analisada. Não foi observada diferença estatisticamente significante entre os níveis de ácido salicílico entre os dois grupos. A concentração de proteína foi 36% mais alta nos pacientes com Síndrome de Down. Por outro lado, o fluxo salivar, pH e atividade da amilase e peroxidase foram mais baixos entre as crianças com SD.

Lee et al. (2004) investigaram a relação da cárie e a presença de anticorpos específicos contra os *S. mutans* na saliva de 90 pacientes com SD e 41 pacientes não sindrômicos. Observaram que a baixa prevalência de cárie em pacientes com SD pode ser explicada pela defesa imunológica ocasionada pelo aumento de concentrações da imunoglobulina A (Ig A) causada pela presença de *S. mutans*.

Siqueira et al. (2004b) realizaram um estudo em 22 crianças com SD com idades entre 6 e 10 anos comparando com 21 crianças sem SD na mesma faixa etária. Foram analisadas as concentrações de sódio, potássio, zinco, magnésio e cálcio na saliva. Os autores observaram que não houve diferença estatisticamente significante entre os dois grupos estudados quanto às concentrações de fósforo, zinco, magnésio e cálcio. No que se refere à concentração de sódio, as crianças com SD apresentaram 66,8% de concentração mais alta do que as crianças sem SD, por outro lado, a concentração de potássio foi mais baixa no grupo com síndrome de Down. Sendo assim, provavelmente as glândulas salivares dos indivíduos com SD apresentam uma anomalia no transporte de sódio e potássio.

Siqueira et al, (2005), estudou alguns parâmetros salivares e clínicos com relação à cárie dentária em pacientes com SD e pacientes não sindrômicos (GC) em várias faixas etárias e concluiu que: o fluxo salivar apresenta-se reduzido em todas as faixas etárias dos indivíduos com SD em comparação ao GC; a capacidade tampão da saliva é mais eficiente em pacientes com SD e os índices ceo-d , CPO-D e de placa não apresentam alterações comparando entre os grupos.

Avaliando a relação entre a prevalência de cárie, capacidade tampão, pH e presença de IgA na saliva de pacientes com SD e pacientes não sindrômicos (grupo controle), Cogulu et al.(2006a) observaram que o CPOD foi significativamente mais baixo nos pacientes com SD do que o grupo controle. Além disso, verificaram que pacientes com SD tem níveis salivares de IgA mais altos que os do GC, todavia a capacidade tampão e pH nos dois grupos estudados não apresentaram diferença estatisticamente significativa.

Cogulu et al.(2006b) realizaram uma pesquisa em 70 crianças com SD e 64 crianças sem SD com idades entre 7 e 12 anos para comparar a prevalência de cárie e investigar a diferença entre o genótipo de *S. mutans* colonizado entre os dois grupos. Observaram que o índice de cárie foi significativamente mais baixo no grupo com SD; o nível de *S. mutans* salivar entre os grupos não apresentou diferença estatística. A diferença entre cárie dental e os níveis de *S. mutans* também não foram estatisticamente significante.

Chaushu et al (2007), realizaram uma pesquisa em pacientes com SD para avaliar a relação entre a resposta imunológica e a idade desses pacientes. Eles verificaram que embora a concentração de IgA esteja aumentada com a idade, isso não compensa a redução do fluxo salivar nesses pacientes, conseqüentemente estariam menos protegidos contra a doença periodontal e cárie.

Castilho; Pardi; Pereira (2007) realizaram um estudo correlacionando experiência de cárie com parâmetros fisiológicos e microbiológicos em 60 pacientes com Síndrome de Down, de ambos os gêneros e com idades entre um e 48 anos. A prevalência de cárie foi analisada por meio do CPOD para os dentes permanentes e ceo para os decíduos. Os fatores fisiológicos analisados foram o fluxo salivar e a capacidade tampão. Os parâmetros microbiológicos pesquisados foram a contagem de *S. mutans*. Após análise estatística foi observado que o fluxo salivar e a capacidade tampão foram baixos nos pacientes com SD; não houve uma correlação significativa entre a contagem dos *S. mutans* com o fluxo salivar e a capacidade tampão; a prevalência de cárie aumentou com a idade. Com base nos resultados, os autores concluíram que a doença cárie é uma doença multifatorial e outros fatores que não foram analisados neste estudo como a dieta e higiene oral podem influenciar no seu desenvolvimento da cárie nos pacientes com SD.

2.4 Bacteriocina produzida por microorganismos orais

Os primeiros registros sobre bacteriocinas datam de 1925, quando Gratia publicou um estudo referente ao antagonismo promovido por uma linhagem de *Escherichia coli* sobre outras linhagens da mesma espécie. As substâncias responsáveis por esse efeito inibitório foram denominadas de 'colicinas' em referência ao microrganismo produtor original. Como a descoberta de que a produção desses compostos não se limitava ao grupo dos coliformes, Jacob et al., em 1953, propuseram o termo 'bacteriocina' para as proteínas antimicrobianas produzidas por microrganismos Gram-negativos e Gram-positivos.

Bacteriocinas têm sido conceituadas como substâncias produzidas por bactérias que são capazes, em baixas concentrações, de inibir a multiplicação de outras bactérias taxonomicamente afins (STANIER et al., 1986).

Utilizando-se a técnica de "antagonismo posposto", Azevedo, Zelante e Ito, em 1985, isolaram 13 cepas de *S. mutans*, isoladas de placa dental de crianças cárie-ativas. Essas amostras foram analisadas quanto à propriedade de serem produtoras ou não de bacteriocinas, pela ação sobre um conjunto de microrganismos usualmente integrantes da microbiota bucal humana. Os resultados das reações cruzadas, mostrando o comportamento das cepas isoladas, quando testadas entre si, indicaram que seis delas foram bacteriocinogênicas, oito se prestaram, ao menos uma vez, como indicadores da produção de bacteriocina e nenhuma das cepas demonstrou auto-sensibilidade. Frente às indicadoras *S. mutans*, *Streptococcus sanguis* e *Actinomyces viscosus*, as cepas testadas mostraram comportamento semelhante ao da reação cruzada, permitindo considerar que o espectro de inibição diferiu de uma cepa à outra. Quando isolados dois biotipos do biofilme dental de uma mesma criança, os seus espectros de atividade ou de sensibilidade à bacteriocina permitiram comprovar a diferença entre elas. O modelo experimental adotado para a detecção de cepas de *S. mutans* produtoras de substâncias semelhantes à bacteriocina prestou-se, adequadamente para a identificação e individualização das cepas.

As mutacinas ou bacteriocina podem apresentar um importante papel biológico na regulação e composição do biofilme dental, tanto na atividade de

sinergismo ou antagonismo, sugerindo que o largo espectro de mutacinas pode ser mais importante na colonização e estabilização das espécies cariogênicas, mantendo e estabelecendo nichos e atividade microbiana altamente complexa. (ALALUUSUA, 1991).

De acordo com Nyvad e Kilian (1990), pacientes com cárie são mais colonizados por bactérias cariogênicas, considerando que os indivíduos livres de cárie abrigam uma maior prevalência de *S. sanguis* e outros *Streptococcus* do grupo mitis. O que pode explicar a mais intensa atividade de mutacina contra outras bactérias que colonizam a cavidade oral nos pacientes com cárie.

Goyette et al (1995) estudaram a relação entre a proporção de bactérias salivares capazes de inibir os *S. mutans* e a porcentagem de dentes cariados em 109 pacientes, de ambos os gêneros, com idades entre 8 e 75 anos. Foi observado que não houve uma correlação estatisticamente significativa entre a proporção de bactéria salivar estimulando o crescimento de *S. mutans* e a presença de cárie. Por outro lado, houve uma correlação negativa estatisticamente significativa entre a porcentagem de bactéria cultivada que inibiram os *S. mutans* e a quantidade de dentes cariados, assim como com o CPOD. Estes resultados indicam um possível papel inibitório das substâncias produzidas pelas bactérias (bacteriocina) na manutenção da saúde oral.

Grönroos e Alaluusua. (1998), analisaram o nível de atividade de bacteriocinas (mutacinas) e a produção por *S. mutans* isolados da cavidade bucal de 19 pares mãe-filho, sendo que as crianças possuíam de 18 meses a 3 anos de idade. Foi observado que 88% das cepas produziram mutacina contra mais de 1 das 14 cepas indicadoras, representadas por *S. mutans*, *S. sanguinis*, *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus oralis*, *Streptococcus gordonii* e *Streptococcus pyogenes*. As cepas de *S. mutans* mostraram maior atividade inibitória do que as cepas de *S. sobrinus*. As cepas de *S. mutans*, compartilhadas entre a mãe e sua criança, mostraram atividade inibitória de amplo espectro, se comparadas às cepas que não foram transmitidas. Eles concluíram que a atividade mutacinogênica dos isolados clínicos apresentou uma boa produção de bacteriocina e este fator de virulência visto como sendo de importância clínica na colonização inicial por *S. Mutans*.

Baseando-se nas propriedades seletivas e ecológicas das mutacinas *in vivo*, foi desenvolvida a terapia de substituição bacteriana para prevenção do desenvolvimento da cárie dental (Hillman *et al.*, 2000). Através da construção de

uma cepa mutante *S. mutans* BCS3-L1, produtora de bacteriocina de amplo espectro *in vitro* (mutacina 1140) e defectiva na síntese de ácido láctico, foi possível efetivar a colonização da cepa produtora de baixo potencial cariogênico, na cavidade oral de ratos. A atividade biológica da mutacina produzida *in vivo* reduziu o índice de cárie possivelmente devido à inibição de *S. Mutans* competidores mais cariogênicos.

Van Loveren, Bujis e Ten Cate (2003) compararam a atividade da bacteriocina de *S. mutans* isolados das mães, dos pais e crianças quando a criança adquire *S. mutans* entre 5 e 11 anos de idade. Onze famílias foram selecionadas randomicamente e era feita a coleta de saliva; em seguida, isolava os *S. mutans* e testavam contra 21 indicadores. Foi observado que quando a criança adquire os *S. mutans* após 5 anos de idade, pode haver uma similaridade entre na produção de bacteriocina e os *S. mutans* nas mães, nos pais e nas crianças indicando que a transmissão entre os membros da família ocorreu.

Longo, Mattos-Graner e Mayer (2003) avaliaram a produção de mutacinas pelos *S. mutans* e a diversidade genotípica dos mesmos, em 19 crianças com cárie e sem cárie. Mostraram que as bacteriocinas podem aumentar a capacidade de colonização dos *S. mutans* e reduzir a infecção por tipos sensíveis. Além disso, a análise estatística não conseguiu mostrar uma relação entre a atividade de cárie e os níveis de infecção de *S. mutans* na cavidade oral e entre a produção de mutacinas e a presença ou não de cárie. Em ambos os grupos estudados os *S. mutans* isolados não apresentaram diferença estatística quanto a produção de bacteriocina.

Koga-Ito et al. (2004) investigaram 240 indivíduos divididos em cinco grupos: crianças livres de cáries, crianças com cárie, crianças com cáries rampantes, adultos jovens com e sem cáries. O objetivo do estudo era correlacionar à contagem de *S. mutans*, a cárie dentária e IgA anti- *S. mutans* na saliva. Inicialmente todos os indivíduos foram investigados para o CPOD/ceo-d seguindo os critérios da OMS e o índice de higiene oral simplificado (IHOS). Após a coleta de saliva foi realizada a contagem de *S. mutans* e o nível de IgA anti- *S. mutans* foi determinado pelo método ELISA. Após a análise estatística foi observado que não houve diferença estatisticamente significativa em relação IHOS e contagens de microrganismos entre os grupos de adultos jovens; nenhuma correlação entre a contagem de *S. mutans* e níveis de IgA anti- *S. mutans* em nenhum dos grupos estudados; apenas foi

encontrada uma correlação entre os níveis mais altos de IgA anti- *S. mutans* e ausência de cáries entre os adultos jovens, mas não entre crianças.

Almeida et al. (2005) realizaram um estudo em pacientes com SD para detectar cepas produtoras de bacteriocinas, com o intuito de avaliar a sua possível ação como moduladoras da microbiota cariogênica dos pacientes com SD. Eles observaram que duas das dez cepas testadas apresentaram halo de inibição de crescimento contra cepas de *S. mutans*. A descoberta de cepas que produzem substâncias antimicrobianas pode ser responsável pela baixa prevalência de cárie em indivíduos com Síndrome de Down.

Kamiya et al., em 2005, realizaram um estudo em oito pacientes afetados pela cárie e oito livres de cárie para avaliar a produção de mutacina em genótipos de *S. mutans*. Observaram que as substâncias semelhantes às mutacinas de amplo espectro foram mais freqüentes em genótipos de *S. mutans*, isolados de indivíduos cárie-ativos em relação aos genótipos isolados de voluntários livres de cárie. O espectro de atividade das mutacinas, identificado neste estudo, foi direcionado contra colonizadores predominantes nas respectivas populações estudadas, sugerindo uma possível correlação entre o perfil de produção de mutacinas (espectro inibitório) e o padrão de colonização microbiana observado em indivíduos cárie-ativos e livres de cárie.

Matsumoto et al. (2005) realizaram um estudo em ratos para avaliar a cariogenicidade dos *Lactobacillus*. Os ratos foram divididos em seis grupos e infectados com *L. salivarius* LS1952R e/ou *S. mutans* MT8148R. O *L. salivarius* LS1952R tornou-se presente na cavidade oral dos ratos mesmo quando infectado por somente cinco dias. Além disso, a contagem de cárie dos ratos infectados com *L. salivarius* LS1952R e/ou *S. mutans* MT8148R ao mesmo tempo era mais elevado do que aqueles infectado com um ou outro sozinho, ou seja, a contagem de cárie em ratos era mais elevada quando o mesmo era infectado ao mesmo por *L. salivarius* e *S. mutans*.

A fim de avaliar se os *Lactobacillus* orais têm propriedades probióticas (são organismos vivos que em concentrações adequadas, afetam benéficamente a saúde - REID et al., 2003) contra *S. mutans*, Simark-Mattsson et al. (2007) isolaram *Lactobacillus* da saliva e do biofilme de crianças e adolescentes com ou sem lesões de cáries. Foi observado que a inibição mediada pelos *Lactobacillus spp* diferiu significativamente entre os três grupos: nenhuma cárie, cárie inativa e cárie ativa,

demonstrando que a inibição aumenta nos grupos sem experiência atual ou precedente de cárie comparada aos grupos com cárie.

O *S. mutans* é considerado o principal agente etiológico da cárie dentária em humanos e fatores de virulência tais como a composição de sua superfície celular (sorotipo) e a produção de bacteriocinas (mutacinas) têm sido investigados em relação à sua cariogenicidade (RODRIGUES, 2008). Com base nisso, esses autores realizaram uma pesquisa em 20 pré-escolares de 4 a 5 anos de idade para caracterizar isolados de *S. mutans* quanto ao sorotipo específico, genes codificadores de mutacinas em amostras isoladas de pacientes com diferentes experiências de cárie dentária. Foi observada uma relação positiva entre sorotipo e presença dos genes para as mutacinas II/IV nos pré-escolares com cárie dentária ($r = 0,69$, $P < 0,05$); sugerindo que múltiplos sorotipos e presença dos genes para mutacinas II/IV estão relacionados com a cariogenicidade de *S. mutans*.

Simark-Mattsson et al.(2009) avaliaram a capacidade de interferência do pH final dos *Lactobacillus orais* contra os *S. mutans* e para isso foram avaliados três fatores: experiência precedente da cárie; colonização de *S. mutans*; e pH final do meio de cultura na inibição dos *Lactobacillus* contra *S. mutans* em pacientes com diferentes experiências de cárie. Após a análise dos resultados foi verificado que a presença de pH baixo seja devido a produção de ácidos orgânicos e/ou bacteriocinas podem promover inibição de crescimento dos *S. mutans* in vitro. Além disso, observa-se que o efeito do pH em pacientes com cárie sugere uma inibição dos *S. mutans* menos eficaz pelos *Lactobacillus* spp.

3 OBJETIVOS

3 OBJETIVOS

3.1 Geral

- Investigar variáveis microbiológicas na etiopatogenia da cárie dental em indivíduos com SD e no grupo controle (GC), na cidade de Teresina-PI.

3.2 Específicos

- Investigar os níveis salivares de *S. mutans*, *S. sobrinus* e *Lactobacillus* spp utilizando a contagem por unidade formadora de colônia (ufc) em portadores de SD, comparando com o GC;
- Relacionar os níveis salivares de *S. mutans*, *S. sobrinus* e *Lactobacillus* spp com a presença ou ausência de lesões de cárie;
- Detectar linhagens de *S. mutans*, *S. sobrinus* produtoras de substâncias antagonistas tipo bacteriocina (SATB) em portadores de SD, comparando com GC.

4 METODOLOGIA

4 METODOLOGIA

4.1 Delineamento do estudo

Tratou-se de um estudo analítico, do tipo transversal em que foi verificada a participação das variáveis microbiológicas na etiopatogenia da cárie dental em um grupo composto de 20 pacientes com SD institucionalizados e um GC formado por 20 irmãos das crianças síndrômicas na cidade de Teresina-PI.

4.2 Universo

A pesquisa foi realizada no Centro Integrado de Educação Especial (CIES) uma instituição pública Estadual especializada no atendimento de crianças especiais que funciona desde 2007, das 7:30 às 17:30hs, na cidade de Teresina-PI. Essa instituição desenvolve um trabalho sem fins lucrativos, atende crianças na faixa etária de 3 a 14 anos e tem como metas: promover a reabilitação física e psico-social do paciente; atender prioritariamente as pessoas de baixa renda com necessidades especiais; desenvolver estudos e pesquisas na área de reabilitação; produzir e divulgar informações e conhecimentos técnico-científicos; contribuir para redução de problemas sociais e psicológicos das pessoas portadoras de necessidades especiais.

As crianças são atendidas por equipes multidisciplinares nas diversas áreas de reabilitação (fisioterapia, terapia ocupacional, nutricionista, fonoaudióloga, neuropediatra, psicologia, enfermagem, odontologia etc.), que constituem clínicas que atendem patologias como: paralisia cerebral, síndrome de Down, doenças neuromusculares, acidente vascular cerebral, má formação congênita, poliomielite, etc.

4.3 Amostra

O grupo experimental foi constituído por 20 indivíduos com SD de ambos os gêneros que estivessem regularmente matriculados e com frequência regular no CIES. O GC foi constituído por igual número de irmãos de indivíduos não portadores da síndrome, de ambos os gêneros, no município de Teresina-PI e que residiam na mesma casa do portador de SD.

4.4 Considerações Éticas

O estudo foi realizado seguindo as normas que regulamentam a pesquisa em seres humanos contidas na resolução nº196/96 do Conselho Nacional de Saúde (Brasil, 1996) e a Declaração de Helsinque II (2000).

Antes de iniciar o estudo, foi solicitada a autorização da diretoria do CIES para a realização do estudo nesta instituição (APÊNDICE A). Depois este projeto foi submetido ao Comitê de Ética e Pesquisa (CEP) da Universidade Federal do Piauí (UFPI), para avaliação e autorização de sua realização, de acordo com a Resolução nº 196/96, do Conselho Nacional de Saúde, do Ministério da Saúde, no qual apresentam as diretrizes regulamentadoras mais abrangentes, acerca das pesquisas envolvendo os seres humanos, e foi autorizado pelo parecer nº 0031-08.

Os responsáveis pelos pacientes que aceitaram participar do estudo assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (APÊNDICE B) para que pudessem ser incluídas na pesquisa.

4.5 Variáveis estudadas

As variáveis que foram estudadas, de acordo com o interesse descrito nos objetivos, foram:

4.5.1 Variáveis independentes

- Gênero dos indivíduos com SD e GC;

- Idade dos indivíduos com SD e GC;
- Perfil sócio-econômico.

4.5.2 Variáveis dependentes

- Hábitos de higiene bucal dos indivíduos com SD e não sindrômicos;
- Contagem de *S. mutans*, *S. sobrinus* e *Lactobacillus spp* dos indivíduos com SD e GC.
- Observação da expressão da atividade antagonista das amostras de *S. mutans* e *S. sobrinus*, avaliada pela presença de halo de inibição de crescimento das amostras reveladoras.

4.6 Critérios de inclusão

- O responsável concordou em participar da pesquisa sendo confirmado pela assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.
- Ter pelo menos um irmão que conviva na mesma residência do portador de SD e que aceite participar da pesquisa.
- Indivíduos na faixa etária de até 14 anos que tenham dentes irrompidos e permitam a realização dos exames.
- Não ter tomado antibiótico nos últimos três meses.

4.7 Pré-teste

Foram realizados pré-testes dos questionários e da coleta de saliva em 10 crianças voluntárias da comunidade, cujos pais autorizaram voluntariamente a participar pesquisa, objetivando proceder aos ajustes necessários para melhor compreensão dos assuntos abordados.

4.8 Exame clínico da cavidade bucal

O portador de SD e seu irmão foram submetidos ao exame clínico. Para esta etapa, foram utilizadas luvas, máscara, gorro, óculos de proteção, espelho bucal plano, luz artificial, cadeira odontológica do consultório dentário do CIES.

Durante o exame foram avaliados e anotados no formulário, a presença ou não de cárie e os hábitos de higiene bucal dos pacientes com SD e do GC. Além disso, fizeram parte do formulário quesitos referentes aos dados de idade, gênero dos pacientes com SD e do GC, além da escolaridade e idade do responsável (APÊNDICE C e D).

O método de Kappa é um índice de concordância ajustado e de larga utilização no campo da saúde, que leva em consideração as concordâncias esperadas, descontando as que acontecem como fruto do acaso, permitido assim, melhor avaliação sobre as coincidências e discrepâncias (PINTO, 2000).

Para determinar a precisão intra-examinador no estudo, repetiu-se o exame de inspeção de cárie dentária e o questionário em 5 pacientes sorteados após a realização em média a cada cinco exames. Os resultados foram idênticos aos anteriores (100% de concordância), portanto o valor de Kappa foi 1.

Todos os dados foram, no momento de sua avaliação, coletados e anotados em um formulário (apêndice C e D).

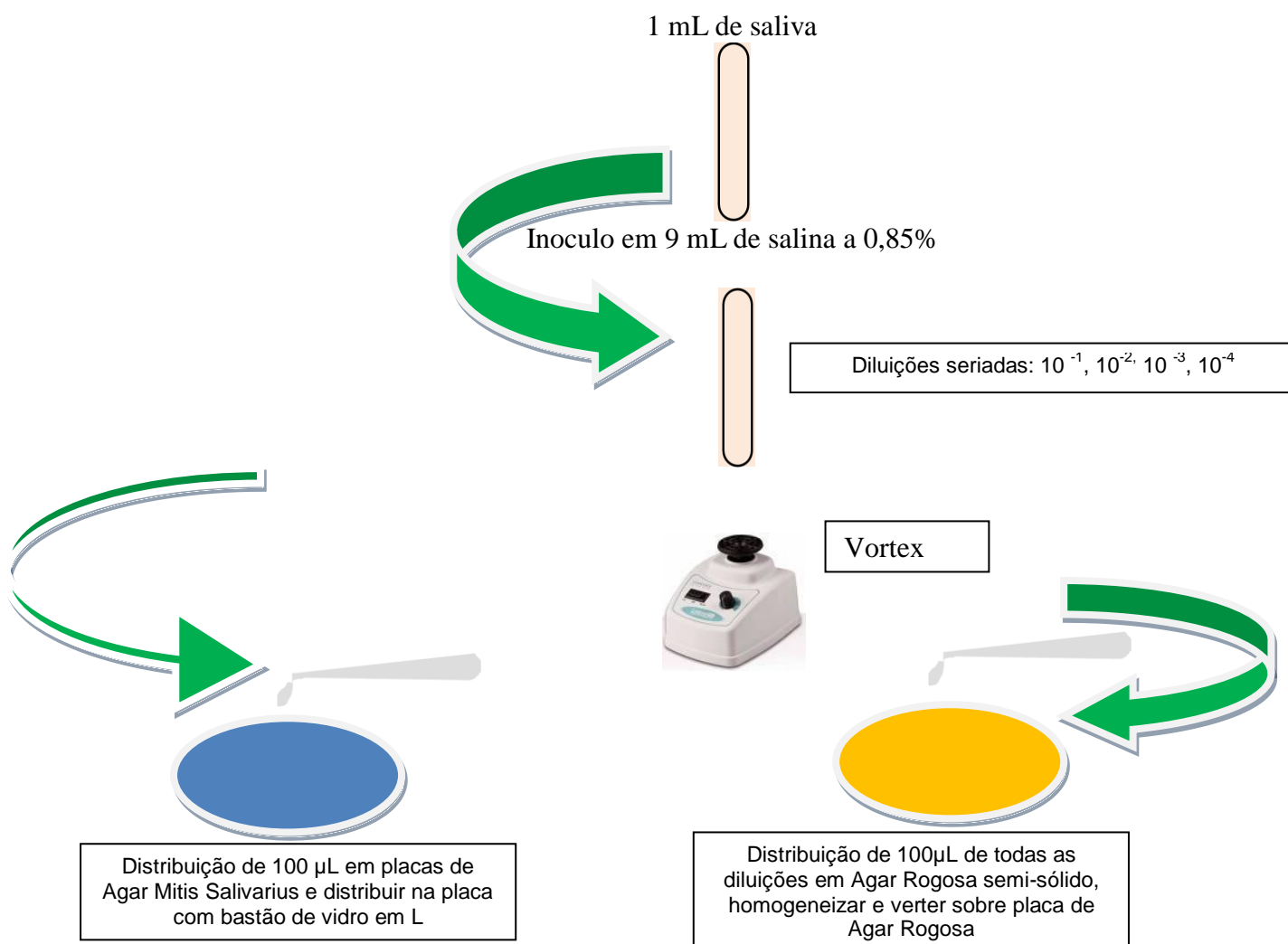
4.9 Isolamento e manutenção das amostras de *S. mutans* e *S. sobrinus*

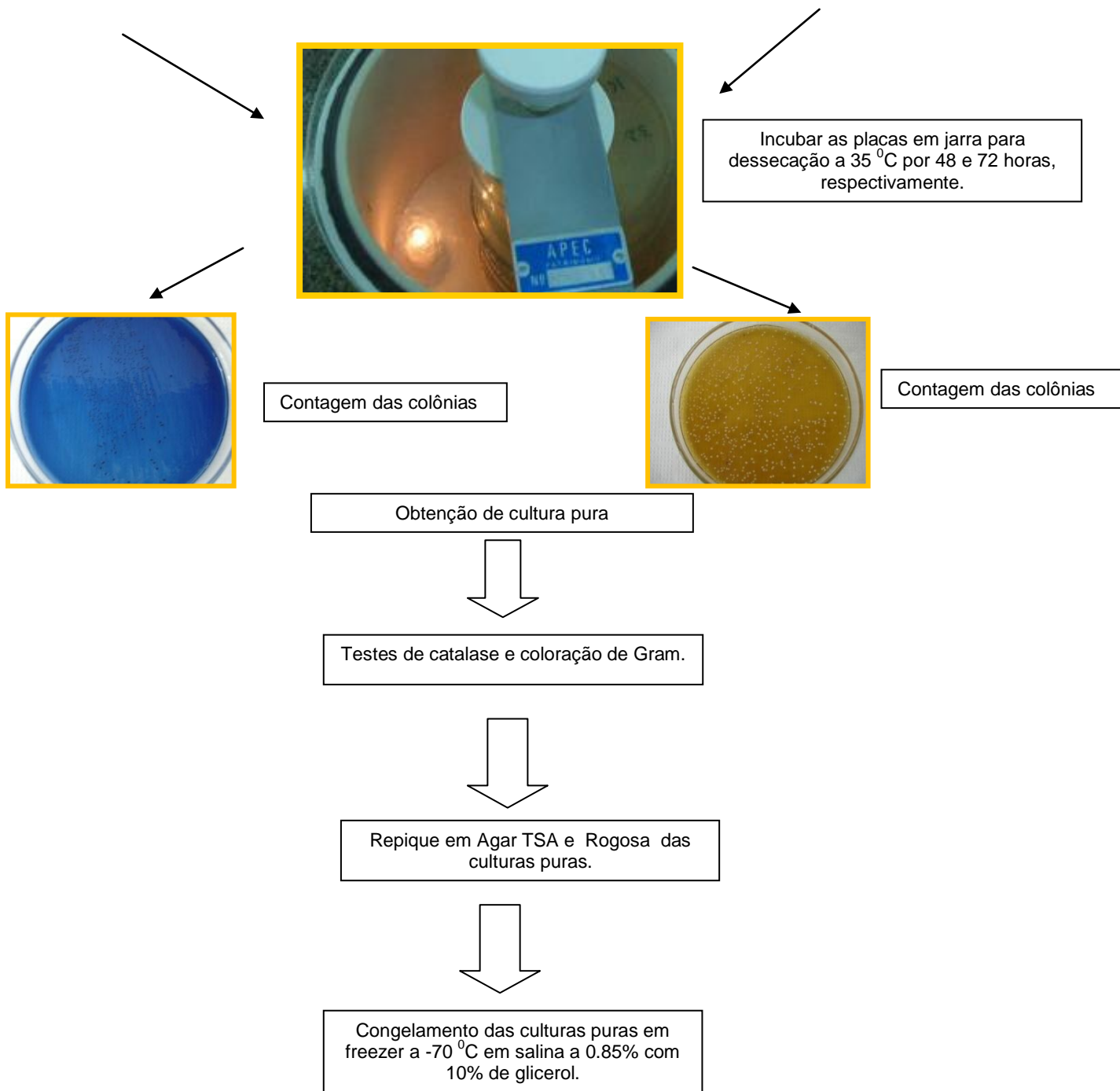
Para determinar os níveis salivares de *S. mutans* e *S. sobrinus* foi aplicado o método descrito por Krasse (1986) que utiliza uma seringa de 5 ml sem agulha para coletar a saliva. As amostras de saliva não estimulada foram coletadas três horas após a última escovação por um único examinador no período da manhã, entre 8:00 e 9:00 horas e eventualmente entre 13:30 e 14:30 horas, dependendo da disponibilidade da criança. Foi coletado 2,5 ml de saliva e em seguida o material era acondicionado em isopor com gelo e levado ao Laboratório de Microbiologia (Centro de Ciências da Saúde (CCS) / UFPI) para o processamento. A escolha do horário da coleta justifica-se pelo tempo necessário para realizar o processamento.

Para o isolamento de *S. mutans* e *S. sobrinus* empregou-se o meio Mitis Salivarius Bacitracina (MSB), preparado conforme GOLD; JORDAN; VAN HOUTE (1973). Ao Agar Mitis Salivarius (Difco) foi acrescentado 15% de sacarose, sendo a mistura esterilizada em um autoclave, a 121°C, durante 15 minutos, e resfriada a 45°C. Em seguida foi adicionado a essa mistura duas soluções: telurito de potássio a 1% (até atingir a concentração de 0,00001 g/ml) e bacitracina (Sigma - acrescentada até a concentração final de 0,2 UI/ml). Ambas as soluções foram esterilizadas por filtração em membranas de nitrocelulose (Milipore) com poros de 0,22 µm de diâmetro.

Em seguida, procedeu-se uma diluição decimal de 10^{-1} a 10^{-4} em salina estéril a 0,85% esterilizada e homogeneizada em agitador de tubos (VORTEX, mod. At56) durante 30 segundos. Após a diluição alíquotas de 100 µL eram colocadas em placas de vidro contendo o meio Mitis Salivarius Bacitracina (MSB), conforme o desenho esquemático (Figura1).

Figura 1: Esquema de diluição e dos meios de cultura





As placas eram imediatamente incubadas a 37°C durante 48 horas, em jarras dessecadoras de vidro, em atmosfera de microaerofilia obtida pelo método da vela (Figura 1). As colônias características de *S. mutans* e *S. sobrinus* foram contadas na diluição que contivesse de 30 a 300 colônias e posteriormente classificavam-se os pacientes conforme a Tabela 1.

Tabela 1: Número de unidades formadoras colônias/ mL de saliva (ufc/mL) de *S. mutans* e *S. sobrinus*.

Numero de colônias	ufc <i>S. mutans</i> / ml de saliva
0-20	$< 10^5$ - grupo de baixa contagem
21-100	$10^5 - 10^6$ - grupo de média contagem
> 100	$> 10^6$ - grupo de alta contagem

Após a contagem das ufc, cerca de 6 colônias foram retiradas de cada placa, inoculadas em caldo TSB e incubadas por 48 horas. Confirmou-se a pureza das amostras por meio da coloração de Gram e do teste da catalase, conforme descrito abaixo. Para o congelamento, à uma alíquota de 1 mL de cultura foi adicionada 100 μ L de glicerol e congelada em freezer a -70° para manutenção (Figura 1).

4.9.1 Identificação das amostras bacterianas nos níveis de gênero e espécie

A identificação preliminar das amostras bacterianas foi feita por meio das características morfotintoriais pelo método de coloração de Gram e teste de catalase. Posteriormente, para as espécies do grupo *S. mutans*, a identificação foi baseada em características bioquímico-fisiológicas.

4.9.1.1 Coloração de Gram

Um alíquota de 5 μ L do caldo foi depositada em uma lâmina de vidro. Após a secagem, a lâmina foi fixada pelo calor no fogo. O corante cristal violeta foi acrescentado e deixado por 2 minutos. Após esse período, o esfregão foi lavado e a solução de lugol foi acrescentada à lâmina. Após um minuto, a mesma foi lavada com a solução de álcool-acetona e corada com safranina por 2 minutos. Procedeu-se a observação em Microscópio óptico no aumento de 400X utilizando óleo de imersão.

4.9.1.2 Prova da Catalase

A prova foi realizada sobre uma lâmina de vidro, colocando-se água oxigenada 3% sobre colônias características crescidas no meio Mitis Salivarius Bacitracina (MSB), observando-se a formação de bolhas de gás (prova positiva).

4.9.1.3 Identificação de espécies do grupo *S. mutans*

Para identificação, utilizou-se o Kit Rapid ID 32 strep (Biomérieux) próprio para identificação do gênero *Streptococcus*. Esse kit destina-se a identificação de bactérias dos gêneros *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Lactococcus* entre outros. É composto por 32 provas incluindo fermentação de carboidratos e reações enzimáticas importantes para a sistemática desse grupo, conforme Koneman (2008).

4.10 Isolamento e manutenção das amostras *Lactobacillus* spp

Para determinar os níveis salivares de *Lactobacillus* spp foi aplicado o método descrito por Krasse (1986) que utiliza uma seringa de 5 ml sem agulha para colher a saliva, já descrito anteriormente.

Para o isolamento de *Lactobacillus* spp empregou-se o meio Agar Rogosa (Difco) preparado conforme instruções do fabricante, adicionando-se ácido acético glacial até ser atingido pH 5,4. A mistura foi esterilizada em autoclave, a 121°C, durante 15 minutos, e resfriada a 45°C. Em seguida, o meio foi distribuído em placas de Petri.

Após a coleta do material foram realizadas diluições decimais de 10^{-1} a 10^{-4} da saliva coletada, em salina estéril a 0,85% esterilizada e homogeneizada em agitador de tubos (VORTEX, mod. At56) durante 30 segundos. Alíquotas de 100 μ L de cada diluição foi acrescentado a 8 mL de meio Rogosa semi sólido (1 % de Agar) homogeneizado e vertido sobre as placas de Petri contendo Agar Rogosa (figura1).

Os cultivos foram incubados a 37°C, em atmosfera de microaerofilia, durante 72 horas, para permitir a quantificação de *Lactobacillus* spp. Após a incubação, o número de unidades formadoras de colônias de *Lactobacillus* spp por mL de saliva

foi verificado, conforme Rogosa (1951), em cada diluição sendo contado na placa que contivesse entre 30 e 300 colônias e posteriormente classificavam-se os pacientes conforme a Tabela 2.

Tabela 2: Número de unidades formadoras colônias/ mL de saliva (ufc/mL) de *Lactobacillus* spp.

Numero de colônias	ufc / mL de saliva
0	0 a 1000 - grupo de baixa contagem
< 100	1000 a 5000 - grupo de média contagem
> 100	> 5000

Após a contagem das ufc, cerca de 6 colônias eram retiradas de cada placa, inoculadas em caldo Rogosa e incubada por 48 horas. Para o congelamento, à uma alíquota de 1 mL de cultura foi adicionada 100 µL de glicerol e congelada em freezer a - 70° C para manutenção (Figura1).

4.11 Avaliação da atividade antagonista

Amostras de *S. mutans* e *S. sobrinus* foram selecionadas de 20 pacientes com SD e 20 pacientes do GC. De cada criança, 2 amostras foram utilizadas para observação da expressão de substâncias antagonistas pelo método da sobrecamada (BOOTH; JOHNSON; WILKINS, 1977). As amostras de (*S. mutans*, *S. sobrinus*) foram inoculadas em TSA (Difco) e suplementado com extrato de levedura a 0,2% incubadas por 48 horas. Após o crescimento, as amostras foram mortas por exposição a vapor de clorofórmio por 30 minutos e deixada evaporar os resíduos de clorofórmio por mais 30 minutos (Figura 2).

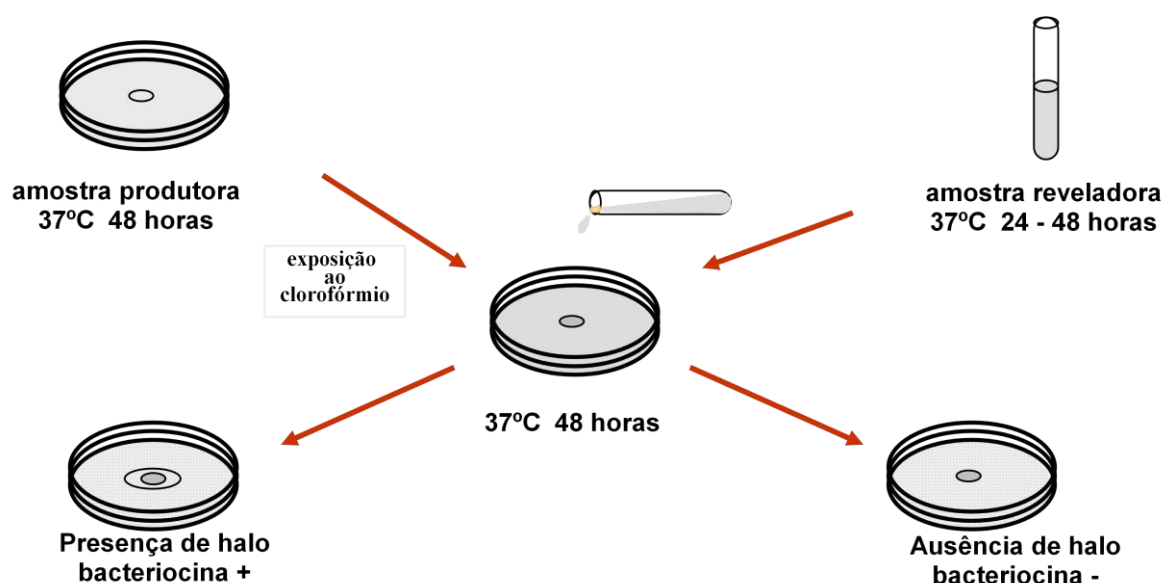
Para avaliação da produção das substâncias antagonistas do tipo bacteriocina (SATB), foi realizado o isoantagonismo, heteroantagonismo e autoantagonismo. Neste trabalho, foi pesquisado o isoantagonismo das amostras isoladas nos seguintes grupos: paciente com SD contra paciente com SD; GC contra GC; paciente com SD contra GC; GC contra paciente com SD; paciente com SD contra

amostras de *S. mutans* IM/UFRJ; GC x amostras de *S. mutans* IM/UFRJ doadas pelo laboratório de microbiologia da Universidade Federal do Rio de Janeiro.

Para avaliar o heteroantagonismo foram utilizadas as seguintes amostras reveladoras: *Lactobacillus salivarius* ATCC 11741, *Lactobacillus amylovorus* VPI 1754, *Lactobacillus gasserii* ATCC 15009, *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356, *Lactobacillus fermentum* ATCC 9338, *Lactobacillus delbrueckii bulgaricus* ATCC 11482, *Lactobacillus delbrueckii delbrueckii* DSM 20081, *Lactobacillus helveticus* ATCC 15009 de referência, doadas pelo Laboratório de Microbiologia Oral e Anaeróbios da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG) e todas as amostras testadas para produção de Bacteriocina.

As linhagens reveladoras foram crescidas em meios adequados: caldo TSB-Difco (*S. mutans*, *S. sobrinus*) e caldo Rogosa (*Lactobacillus* spp), por 48 horas. Uma alíquota de 100 µL de *S. mutans* ou *S. sobrinus* foi adicionada a 8 mL de meio TSB semi-sólido (0,7% de Agar; 0,2% de Extrato de Levedura) e para *Lactobacillus* spp, 100 µL foi adicionada a 8 ml de meio Rogosa semi-sólido. Para os dois meios, agitou-se antes de verter sobre as placas de Petri que continham as amostras reveladoras, que foram previamente tratadas com clorofórmio. A placa foi incubada por 48 horas e observada quanto à presença ou não do halo de inibição (Figura 2).

Figura 2: Desenho esquemático da avaliação da atividade antagonista



4.12 Método estatístico

Os dados levantados na amostra foram registrados em formulários e processados no Statistical Package for the Social Science (SPSS 15.0 for windows release 15.0.1.11).

Os resultados foram apresentados em tabelas de números absolutos e relativos (percentual).

Foram calculados todas as freqüências relativa as variáveis qualitativas. Além do cálculo de freqüências, algumas variáveis foram cruzadas e suas associações foram investigadas através do teste de Chi-quadrado (χ^2) considerando significante estatisticamente quando valor de $p < 0,05$.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Caracterização da amostra

Foram examinadas 40 crianças sendo que 20 delas eram portadoras de síndrome de Down e 20 eram constituídos por irmãos do portador com SD (GC). Foram entrevistados 20 responsáveis pelas crianças todas do gênero feminino (Tabela 3).

Das crianças portadoras de SD, 8 eram do gênero masculino (40%) e 12 eram do gênero feminino (60%). No GC, 9 eram do gênero masculino (45%) e 11 eram do gênero feminino (55%).

Tabela 3: Distribuição da amostra segundo a faixa etária. Teresina (PI), 2009.

GRUPOS	IDADE MÍNIMA	IDADE MÁXIMA	N	MÉDIA	MEDIANA
Criança com SD	3	14	20	8,2 (\pm 3,17)	8,0
Grupo Controle	4	14	20	9,7 (\pm 3,28),	10
Responsável	21	48	20	34,8(\pm 6,72)	34

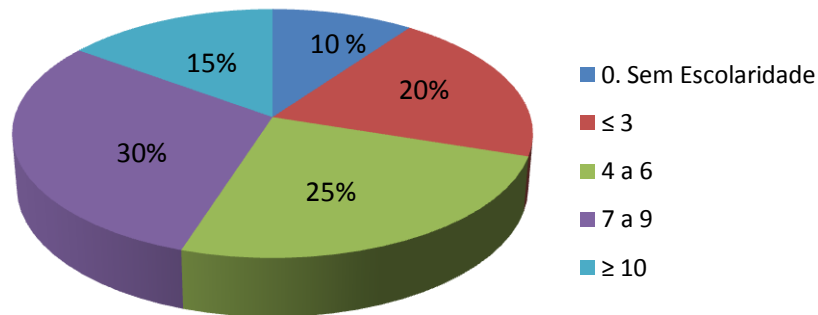
Fonte: Pesquisa Direta.

Quase todas as crianças (19) eram cuidadas pela mãe.

Estudos têm demonstrado a força do efeito da condição social sobre a saúde bucal de crianças (Moynihan, Holt, 1996; Dini; Holt; Bedi, 1998). Considera-se que a condição social pode influenciar no risco à cárie de várias formas: indivíduos de nível sócio-econômico inferior e de baixa escolaridade têm desvantagens sociais e materiais que influenciam a habitação, a habilidade para prover adequada nutrição e emprego estável (Reisine, Douglas; 1998), além de comprometer sua habilidade em preocupar-se consigo mesmo, obter cuidado por parte de profissionais de saúde e viver em ambiente saudável. Ressaltando, ainda, que todos esses fatores conduzem a uma resistência reduzida às doenças bucais entre outras enfermidades (HOLM, 1990 *apud* BRANDÃO et al, 2006).

No Gráfico 1, observa-se a distribuição dos cuidadores quanto a sua escolaridade.

Gráfico 1: Distribuição dos cuidadores segundo sua escolaridade. Teresina (PI), 2009.



Fonte: Pesquisa Direta

É certo que a condição de saúde/doença bucal é reflexa de várias condições socioeconômicas, tais como a renda (SALAKO, 1985), o acesso aos serviços de saúde, as redes de comunicação social que o indivíduo dispõe (SILVA; DURAN, 1990), o grau instrucional dos pais (PATTUSSI et al, 2001), entre outros. Em relação a esta última condição, Peres (2006), em uma revisão de literatura, apontou a escolaridade como o componente mais importante da condição socioeconômica para estudos de determinação dos comportamentos relacionados à saúde. Neste sentido, Borrel (1997) argumenta que a educação dá acesso a uma determinada ocupação, e, portanto, a um certo nível de renda, e esse fato pode influenciar o acesso a diferentes condutas relacionadas à saúde. Por essa razão, a escolaridade é um dos indicadores mais utilizados para aferir condição socioeconômica em epidemiologia (MOURA; CAVALCANTE; BEZERRA, 2008).

5.2 Hábitos de higiene bucal

A higiene bucal empregando escova, fio e creme dental associados, de forma correta e regular é a maneira mais eficaz de autocontrole do biofilme, sendo capaz

de manter mínimas as concentrações bacterianas nas superfícies dentárias. Com a execução correta desses métodos, é limitada a ação dos microrganismos cariogênicos e periodontopatogênicos, fatores essenciais para a instalação da cárie dentária.

Ao perguntar para os cuidadores quem escovava os dentes das crianças foi relatado por 95% que a mãe era quem realizava a higiene bucal da criança com SD; esse resultado está de acordo com a maioria dos trabalhos encontrados na literatura (CHAVES; SILVA, 2002; SOARES, 2007) cujos os responsáveis realizaram também a higiene do portador de SD. Além disso, Chaves e Silva (2002) verificaram que as maiores reduções de cárie ocorrem em pacientes que utilizam escovação supervisionada da mãe, o que fortalece a hipótese segundo a qual as práticas educativas e de escovação supervisionada atuariam como potencializadoras da ação anticárie do dentifrício fluoretado.

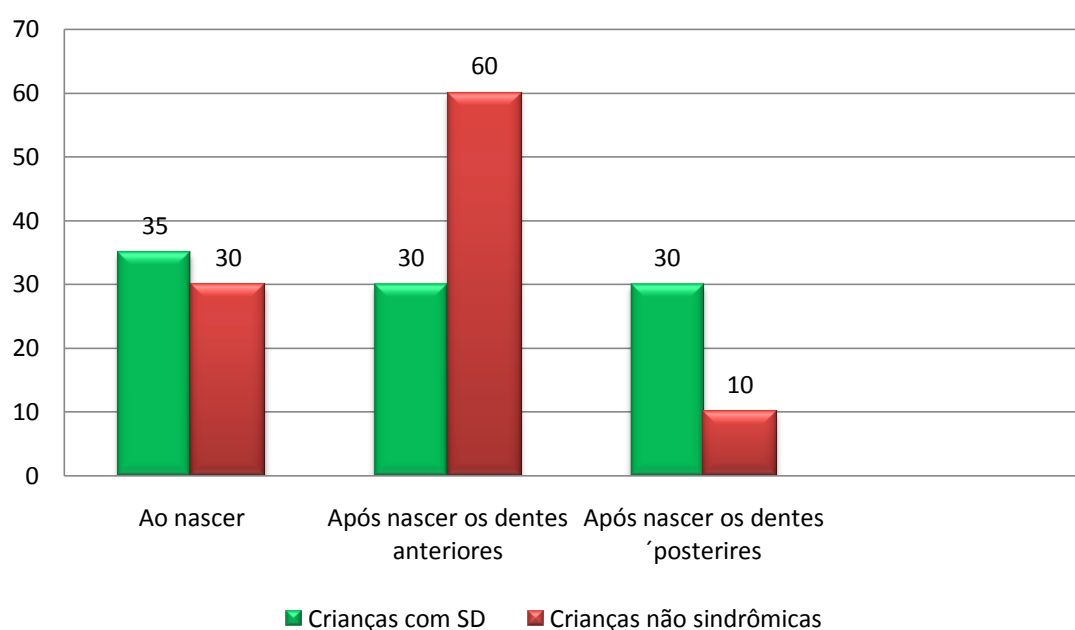
Com relação ao GC 95% das crianças realizavam sua própria escovação, estando de acordo com Soraggi et al. (2008) que observou em seu estudo que a maioria das crianças escovavam seus dentes, 3 a 4 vezes ao dia. Tais resultados são insatisfatórios, uma vez que crianças na faixa etária de 4 a 12 anos, embora demonstrem melhorias na habilidade motora ainda não podem ter a responsabilidade pela escovação, cabendo aos pais realizá-la pelo menos uma vez ao dia (DEAN, HUGHES; 2000).

Em relação ao início da higienização, observou-se que em 35% das crianças com SD a higiene bucal iniciou ao nascimento; 30% após erupção dos dentes anteriores e 30% após erupção dos dentes posteriores e os 5% restantes corresponde a uma criança que nunca havia feito a higiene bucal. Entre as crianças do GC a maioria iniciou a limpeza após a erupção os dentes anteriores (60%); 30% ao nascer e 10% após erupção dos dentes posteriores (Gráfico 2). Esses resultados estão em desacordo com alguns estudos (HAAS; VALENÇA; SAMPAIO, 2005; SORAGGI et al. 2008) que encontraram que a maior parte das crianças iniciou a escovação entre 1 e 2 anos de idade, isto é, quando já existem vários dentes na boca.

Quanto ao número de escovações diárias, a maioria dos responsáveis relatou escovar os dentes das crianças com SD três vezes (65%). Quanto aos pacientes do GC, a maioria também escova três vezes (60%) (Gráfico 3). Por meio dessas informações, pode-se constatar o conhecimento de grande parte das mães a

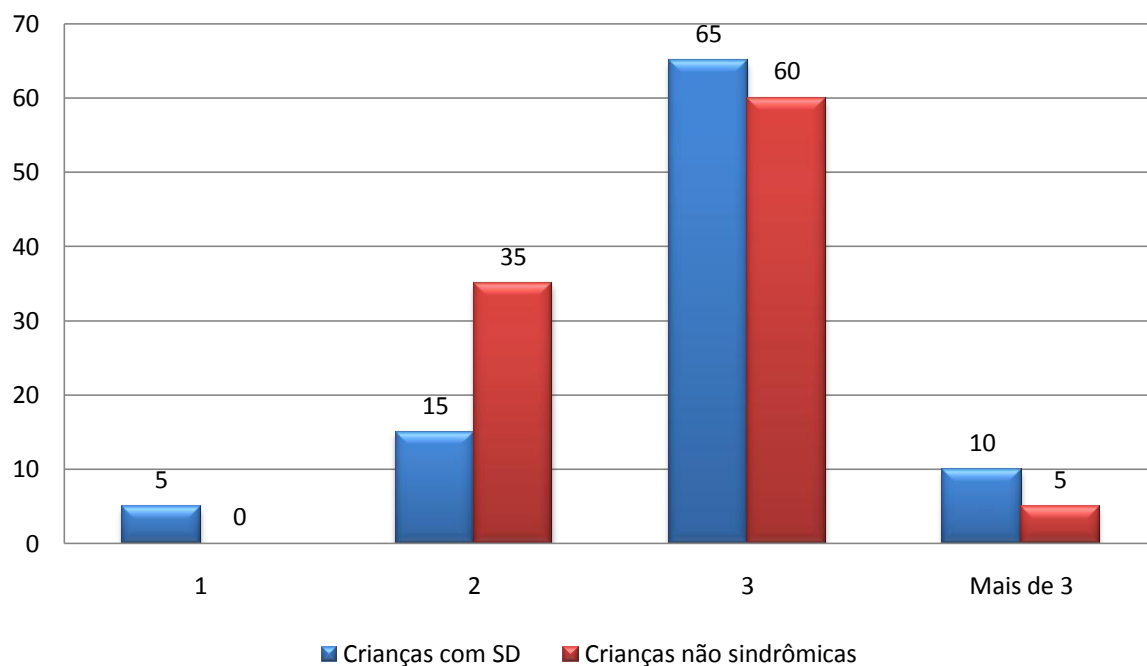
respeito da correta freqüência diária de escovação, o que é corroborado pelos trabalhos de Cruz et al. (2004) em crianças não sindrômicas, em que também a maioria das mães e dos filhos relatou escovar os dentes duas vezes ao dia (43,4% e 41,1%, respectivamente) e pelo estudo realizado por Lisboa e Abegg (2006) que mostraram que três escovações diárias foi a freqüência mais comum, com 53,9% das referências.

Gráfico 2: Distribuição de crianças com síndrome de Down e crianças do grupo controle quanto ao início da higiene oral. Teresina (PI), 2009.



Fonte: Pesquisa Direta

Gráfico 3: Distribuição dos portadores de síndrome de Down e do grupo controle quanto ao número de escovações dentárias diárias. Teresina (PI), 2009.



Fonte: Pesquisa Direta

No entanto, este dado fornece uma informação limitada, uma vez que a pergunta sobre o número de escovações diárias não avalia o tempo gasto e nem a qualidade deste procedimento, adicionado ao fato de que normalmente a frequência relatada pelas mães é sempre maior que a realizada, como constatado por Lima e Cury, 2001, ao avaliarem a quantidade de dentífrico ingerido.

Quanto ao uso do dentífrico, todos os responsáveis afirmaram que tanto as crianças com SD (95%) quanto as do GC (100%) faziam seu uso diariamente. Apesar de Wajm; Lagreca; Guitmann. (1999) afirmarem que o objetivo principal na utilização de um creme dental é remover os restos de alimentos na superfície externa e nas áreas adjacentes dos dentes, Cury (2001) destaca o uso do flúor na forma de dentífricos como forma mais racional de utilização, porque alia a remoção/desorganização do biofilme dental e aumentando sua concentração na saliva e dente pra atuar nos processos de desmineralização e remineralização.

Este dado é de grande importância porque, apesar do dentífrico não se mostrar absolutamente necessário na remoção mecânica da placa, a presença de flúor na quase totalidade deles faz com que o seu uso nos procedimentos de higiene bucal seja de extrema relevância no controle da cárie dentária. Cury (2001) afirma que o flúor do dentífrico é capaz de reduzir a perda mineral do esmalte do dente

íntegro ou ativar a reposição mineral do dente com lesão de cárie. A eficiência do dentífrico está na regularidade da escovação, uma vez que o flúor interfere na dinâmica do processo de cárie.

O uso do fio dental para limpar entre os dentes (e não somente para remover restos de alimentos) foi outra variável observada neste estudo. No entanto, os resultados mostraram que a maioria dos portadores de SD (90%) e do 80% GC não possuíam este hábito. Estes dados convergem para os mesmos resultados encontrados por Lisboa e Abegg (2006), no qual 56,7% dos relataram não usar o fio dental diariamente e por Soraggi et al. (2008), na pesquisa realizada com 300 crianças não sindrômicos, na faixa etária de 4 a 12 anos, em que 58,6% das mães relataram que as crianças não fazem o uso do mesmo.

Estes dados incitam preocupação, pois, o uso do fio dental demonstrou remover eficazmente a placa proximal, sendo mais eficaz que a escovação na redução da gengivite proximal (SANTOS, RODRIGUES, GARCIA; 2003). Quando se fala em limpeza entre os dentes deve-se questionar o que se vai limpar, o biofilme ou os restos de alimentos. A crença de que o fio dental tem como função a remoção de restos alimentares, presentes no meio dos dentes, estimula a sua utilização com pequena frequência, pois os pacientes somente farão uso dele quando comerem alimentos sólidos e estes ficarem entre os dentes. Essa atitude incorreta deve ser modificada, mediante esclarecimentos sobre a verdadeira função do fio dental (SANTOS; RODRIGUES; GARCIA, 2003).

O uso do fio dental é recomendado, principalmente, porque a escova dentária não tem acesso às superfícies proximais, onde a lesão de cárie frequentemente se inicia. Entretanto, o sucesso da técnica depende da habilidade manual e da frequência de utilização.

5.3 Época da Última Consulta Odontológica

Consultas periódicas ao dentista são de fundamental importância porque é nesse momento que o paciente geralmente recebe orientações e motivação sobre dieta e manutenção dos hábitos de higiene bucal. Além disso, a consulta possibilita

ao dentista prevenir e intervir precocemente em qualquer afecção bucal que possa vir a se instalar (SOARES, 2007).

No presente estudo, a maioria das crianças portadoras de SD (50%) haviam ido ao dentista para uma consulta odontológica há mais de um ano; 30% nunca foram ao dentista; 10% haviam ido entre seis meses e um ano e 10% haviam ido a menos de seis meses. Quanto as crianças do GC, 70% foram há mais de um ano; 15% haviam ido ao dentista em um período entre seis meses e um ano e 15% nunca foram ao dentista.

Esses dados foram semelhantes aos encontrados por Barros e Bertoldi (2002) que mostram uma baixa utilização de serviços odontológicos e grandes diferenciais entre os grupos de maior e menor renda. Esses autores observaram que quase 30% das crianças de maior renda nunca haviam consultado um dentista e essa proporção sobe para 78% nas crianças mais pobres. Isso está provavelmente associado à prioridade baixa que se dá à saúde bucal das crianças

Por outro lado, o estudo realizado por Soares (2007), apontou que 33,3% dos portadores de síndrome de Down haviam ido ao dentista em um período entre seis meses e um ano e 31,58% haviam ido há menos de seis meses ao dentista, enquanto apenas 21,05% dos portadores foram há mais de um ano.

5.4 Análise Microbiológica

5.4.1 Pesquisa de *S. mutans*, *S. sobrinus* e *Lactobacillus* spp.

Os microorganismos com capacidade cariogênica não determinam por si só o desenvolvimento de cárie dentária, visto ser necessário que exista um substrato adequado e condições fisiológicas do hospedeiro que permitam a sua colonização e sobrevivência e conseqüentemente o aparecimento da cárie dentária (AGUILERA et al.; 2005; PAIVA, FERREIRA; 2009).

O papel dos EGM e dos lactobacilos em relação ao processo cárie está bastante claro, sendo o EGM o principal agente etiológico da cárie e as espécies *S. mutans* e *S. sobrinus* as que apresentam potencial cariogênico em humanos. Os Lactobacilos desempenham papel importante na progressão da cárie, e não na sua iniciação (LEITES, PINTO, SOUSA; 2006).

Considerando a indispensável participação dos microrganismos no desenvolvimento da cárie, neste estudo, foi realizada a contagem dos principais microrganismos envolvidos nas crianças portadoras de SD e no GC.

Para identificação das amostras isoladas da saliva foi utilizado o Kit Rapid ID 32 strep (Biomérieux) próprio para identificação do gênero *Streptococcus*. Dos 20 pacientes com SD 19 (95%) apresentavam amostras de *S. mutans*. Em um paciente com SD não foi possível isolar nenhum EGM. Desses 19 pacientes 5 (25%) possuíam amostras de *S. mutans* e *S. sobrinus*. Em todas as amostras do GC foram identificadas como de *S. mutans* (100%) e apenas 5 (25%) possuíam *S. mutans* e *S. sobrinus*. Esses resultados estão de acordo com os dados obtidos por Spolidorio (1997) nos quais a maioria das amostras isoladas foi identificada como sendo *S. mutans* (78%) e em menor proporção *S. sobrinus* (11,6%).

Após a identificação foi realizada a contagem e observou-se a maioria dos portadores de SD apresentava baixa contagem de *S. mutans* (63,2%) e de *S. mutans* e *S. sobrinus* (60%); *S. mutans* (26,3%) e de *S. mutans* e *S. sobrinus* (40%), apresentavam entre $10^5 - 10^6$ ufc/ml de saliva e apenas 10,5% mostraram alta contagem com mais de 10^6 ufc/ml de saliva e com relação aos pacientes que albergavam ao mesmo tempo *S. mutans* e *S. sobrinus* nenhum apresentou alta contagem (Tabela 4).

Nos pacientes do GC, a maioria, apresentava-se baixa contagem tanto para *S. mutans* (90%) e como para *S. mutans* e *S. sobrinus* (100%).

Tabela 4: Contagem de *S. mutans* e *S. sobrinus* na saliva das crianças com síndrome de Down e do Grupo Controle. Teresina (PI), 2009.

Grupos	Contagem (ufc / ml de saliva)											
	< 10 ⁵		< 10 ⁵		10 ⁵ - 10 ⁶		10 ⁵ - 10 ⁶		> 10 ⁶		> 10 ⁶	
	(S. mutans)		(S. mutans/S.sobrinus)		(S. mutans)		(S. mutans/S.sobrinus)		(S. mutans)		(S.mutans/S.sobrinus)	
	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%
Síndrome de Down	12	63,2	3	60	5	26,3	2	40	2	10,5	-	-
Grupo Controle	18	90	5	100	2	10	-	-	-	-	-	-

Fonte: Pesquisa Direta

O teste de qui-quadrado (X^2) evidenciou que não houve diferença estatística entre os grupos quanto a contagem de *S. mutans*/*S. sobrinus* na saliva para $p < 0,05$.

Esses dados foram semelhantes aos encontrados por Stabholz et al. (1991) que realizaram a contagem de *S. mutans* em 32 crianças com SD institucionalizadas e 32 crianças não sindrômicas de oito a 13 anos de idade e observaram que a contagem de *S. mutans* foi pequena tanto nos pacientes com SD (37,2 ufc/mL) quanto nos pacientes não sindrômicos (48,2 ufc/mL); por Spollidorio (1997) que demonstrou que os *S. mutans* esteve presente em 100% da população investigada independente da classe sócio-econômica estudada; e também estão de acordo com Campos, 2001, que pesquisou a contagem e prevalência de (EGM) em 40 crianças com SD (faixa etária de até 12 anos de idade), encontrou 23 (57,5%) colonizadas por *S. mutans*, sendo que seis (15%) albergavam também *S. sobrinus* (com menos de 10^5 ufc/mL). Dezesesseis crianças apresentam níveis de *S. mutans* menores que 10^5 ufc/mL, seis com níveis entre $10^5 - 10^6$ ufc/mL. Apenas uma criança com cinco anos de idade apresentou 10^6 ufc/mL. Dezesete crianças não apresentavam níveis detectáveis de EGM e nenhuma delas estava monocolonizada por *S. sobrinus*.

No que diz respeito a contagem dos *Lactobacillus* spp foi verificado que tanto nos pacientes com SD como no GC a maioria apresentou alta contagem, com mais 5000 ufc/ml de saliva, sendo 65% para as crianças com SD e 75% para crianças do GC (Tabela 05). Alaluusua; Myllärniemi; Kallio (1989) também encontraram resultados semelhantes, os quais apresentavam elevados níveis de *Lactobacillus* e *S. mutans* nas crianças examinadas e observaram uma correlação positiva entre a prevalência de cárie com os níveis salivares desses microorganismos. Por outro lado, Spollidorio (1997) demonstrou em sua pesquisa que 51% dos pacientes apresentavam índices nulos, baixos ou discretos de *Lactobacillus*, observando que o percentual restante 49%, esteve na faixa considerada de alto número de ufc/ml.

Tabela 5: Contagem de *Lactobacillus* spp na saliva das crianças com síndrome de Down e do Grupo Controle. Teresina (PI), 2009.

Grupos	Contagem (ufc / ml de saliva)							
	0 a 1000		1000 a 5000		> 50000		Total	
	N	%	N	%	N	%	N	%
Síndrome de Down	4	20	3	15	13	65	20	100
Grupo Controle	2	10	3	15	15	75	20	100

Fonte: Pesquisa Direta

O teste de qui-quadrado (χ^2) evidenciou que não houve diferença estatística entre os grupos quanto a contagem de *Lactobacillus* spp na saliva para o $p < 0,05$.

Ao analisar a contagem de *S. mutans* e *Lactobacillus* spp nos pacientes com SD que apresentavam cárie foi observado que a maioria (57,1%) mostrou média contagem para os *S. mutans* e baixa contagem (42,8%) para os *Lactobacillus* spp (Tabela 6). Enquanto que nos pacientes com SD livres de cárie foi verificado que 77% e 84,6% apresentavam baixa e alta contagem para *S. mutans* e *Lactobacillus* spp respectivamente (Tabela 7). Um paciente com SD que não apresentava lesão de cárie não foi possível isolar nenhum EGM, por isso que na Tabela 7 falta um paciente, para fechar as 13 crianças que não possuíam cárie.

No GC com cárie 85,7% apresentavam baixa contagem para os *S. mutans* e 57,1% alta contagem para *Lactobacillus* spp e no GC livres de cárie 92,3% mostraram baixa contagem e 84,6% alta contagem para *S. mutans* e *Lactobacillus* spp respectivamente (Tabela 6, 7).

Nesse estudo, foi observado que GC com cárie apresentavam alta contagem de *Lactobacillus* spp (84,6%) na saliva, concordando com Larmas (1985), que mostrou que a alta contagem desses microorganismos na saliva revela, em muitos casos, uma alta frequência na ingestão de açúcar ou mesmo um grande número de lesões cariosas abertas em plena evolução.

Enquanto nos pacientes com SD que possuíam cárie foi observado que 57,1% mostraram média contagem para os *S. mutans*, indicando segundo Alaluusua et al (1996) que a presença de *S. mutans* na saliva pode ser um poderoso indicador do risco de cárie (ALALUUSUA; MATTO; GRÖNROOS, 1996).

Tabela 6: Contagem de *S. mutans/S. sobrinus* e *Lactobacillus* spp na saliva das crianças com síndrome de Down e do Grupo Controle com cárie. Teresina (PI), 2009.

Grupos	Contagem (ufc / ml de saliva)											
	Cárie (<i>S. mutans/S.sobrinus</i>)					Cárie (<i>Lactobacillus spp</i>)						
	< 10 ⁵		10 ⁵ - 10 ⁶		> 10 ⁶		0 a 1000		1000 a 5000		> 50000	
	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%
Síndrome de Down	2	28,6	4	57,1	1	14,3	3	42,8	2	28,6	2	28,6
Grupo Controle	6	85,7	1	14,3	-	-	1	14,3	2	28,6	4	57,1

Fonte: Pesquisa Direta

O teste de qui-quadrado (χ^2) evidenciou que não houve diferença estatística entre os grupos quanto a contagem de *S. mutans/S. sobrinus* e *Lactobacillus* spp na saliva e presença de cárie para o $p < 0,05$.

Tabela 7: Contagem de *S. mutans/S. sobrinus* e *Lactobacillus* spp na saliva das crianças com síndrome de Down e do Grupo Controle livres de cárie. Teresina (PI), 2009.

Grupos	Contagem (ufc / ml de saliva)											
	Livres de Cárie (<i>S. mutans/S.sobrinus</i>)					Livres de Cárie (<i>Lactobacillus spp</i>)						
	< 10 ⁵		10 ⁵ - 10 ⁶		> 10 ⁶		0 a 1000		1000 a 5000		> 50000	
	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%
Síndrome de Down	10	77	1	7,66	1	7,66	1	7,7	1	7,7	11	84,6
Grupo Controle	12	92,3	1	7,7	-	-	1	7,7	1	7,7	11	84,6

Fonte: Pesquisa Direta

O teste de qui-quadrado (χ^2) evidenciou que não houve diferença estatística entre os grupos quanto a contagem de *S. mutans*/*S. sobrinus* e *Lactobacillus* spp na saliva e ausência de cárie para o $p < 0,05$.

5.4.2. Bacteriocina

As bacteriocinas são substâncias antagonistas produzidas por bactérias que desempenham um importante papel ecológico, incluindo regulação inter e intra específica na microbiota humana influenciando na invasão microbiana e no mecanismo de defesa (RILEY; GORDON, 1999).

A interação entre as diversas espécies bacterianas que fazem parte da microbiota oral é pouco compreendida. No biofilme dental, diversos estudos sugerem que os *Streptococcus* spp desempenham importante papel ecológico. Foi observado que até 80% das amostras pesquisadas desse microrganismo são produtoras de bacteriocina (FANTINATO; ZELANTE, 1991). Morency, Trahan e Lavoie (1995) agruparam as amostras de *S. mutans* em 15 tipos de acordo com seu espectro de ação. A natureza diversa dessas bacteriocinas pode ser usada como parâmetro para o estudo epidemiológico desse micro-organismo (HILLMAN; JOHNSON ; YAPHE, 1984; GOVAN, 1986).

Relações de iso, hetero e autoantagonismo entre as espécies bacterianas, foram descritas em bactérias Gram-negativo (RYAN; FRIED; MUKAI, 1955; FARIAS *et al.*, 1992; OLIVEIRA *et al.*, 1998a) e bactérias Gram-positivo (TAGG; DAJANI; WANNAMAKER, 1976).

O isoantagonismo se dá quando um determinado microrganismo antagoniza amostras da mesma espécie (FARIAS *et al.*, 1992).

Ao analisar o isoantagonismo do paciente com SD contra paciente com SD verificou-se a produção de SATB em 10 pacientes (50%), como pode ser visto na Tabela 8. Desses 10 pacientes, 8 possuíam amostras de *S. mutans* e apenas 2 albergavam *S. mutans* e *S. sobrinus*. Os pacientes que tiveram suas amostras identificadas como *S. mutans* produziram mais SATB do que os pacientes que apresentavam *S. mutans* e *S. sobrinus*.

Para o isoantagonismo do GC contra GC observou-se que apenas 6 (30%) dos 20 pacientes produziram SATB (Tabela 8). Deste grupo um indivíduo teve sua amostra identificada como *S. mutans* e *S. sobrinus*. A produção das SATB foi maior nas amostras identificadas como *S. mutans*.

Ainda é discutível o papel dos *S. mutans* e *S. sobrinus* na produção de SATB na instalação e progressão da doença cárie, não havendo um consenso ente os autores. De acordo com Grönroos e Alaluusua (1998), a atividade de bacteriocina de *S. mutans* deve aumentar a proporção dessa espécie no biofilme dental, contribuindo para o aumentado risco de cárie. Alaluusua, Matto e Grönroos (1996) não encontraram uma correlação positiva entre a atividade da bacteriocina e o número de *S. mutans* no biofilme dental, quanto ao risco de cárie, considerando que Fabio et al. (1987) mostraram uma associação positiva entre a produção de *S. mutans* e produção de mutacina. Longo; Mattos-Graner; Mayer (2003) relataram nenhuma associação entre o espectro inibitório de mutacina e níveis de infecção de *S. mutans* ou incidência de cáries, sugerindo que a produção de mutacina não deve ser relevante para *S. mutans* para ser capaz de colonizar e induzir doenças.

Tabela 8: Atividade isoantagonista de amostras de *S. mutans* isoladas de pacientes com Síndrome de Down e do Grupo controle contra bactérias Gram positivas. Teresina (PI), 2009.

Amostras de <i>S. mutans</i>	Frequência do Número de amostras bacteriocinogênicas (%)	Número de amostras bacteriocinogênicas	Número de testes positivos/Total de testes	Frequência de atividade antagonista (%)
Síndrome de Down (n=21) contra Síndrome de Down (n=21)	47,6	10	43/441	9,75
Síndrome de Down (n=21) contra grupo controle (n=20)	60	12	56/420	13,33
Grupo controle (n=20) contra Síndrome de Down (n=21)	23,8	05	21/420	5
Grupo controle (n=20) contra grupo controle (n=20)	25	06	32/400	8

Fonte: Pesquisa Direta

O teste de qui-quadrado (χ^2) evidenciou que houve diferença estatística entre os grupos quanto a produção da substância do tipo Bacteriocina para o $p < 0,05$.

Dados na literatura vêm demonstrando que a frequência de produção de bacteriocina por *S. mutans* pode variar de 70 a 100% (HAMADA; OOSHIMA, 1975; ROGERS (1976); BERKOWITZ, 1996; GRÖNROOS; ALALUUSUA, 1998 e KAMIYA, 2003). Segundo Rogers (1976), diferentes perfis mutacinogênicos podem ser obtidos dependendo das condições de cultura e da técnica empregada. Além disso, o ambiente da cavidade oral não é reproduzível em laboratório, e diante da pressão populacional ou ecológica deste meio, cepas não produtoras de mutacinas, *in vitro*, podem expressar a produção destas substâncias inibitórias *in vivo*. Isso explica, portanto, os diferentes valores da frequência de produção da SATB entre os estudos.

No presente estudo, ao verificar o isoantagonismo de paciente com SD contra paciente com SD e do GC contra GC foi verificado que 47,6% (43/441) e 25% (32/400), respectivamente, das amostras de *S. mutans* desses pacientes mostraram a produção SATB (Tabela 8). Pela metodologia utilizada na pesquisa foi encontrado um menor percentual da produção da SATB, entretanto, ressaltamos a não utilização de suplementos ao meio base utilizado que foi o Ágar TSA, diferente de Chhibher; Vadehra (1989) e Kamiya (2005) que utilizaram meio suplementado e em aerobiose.

Ao verificar o isoantagonismo de paciente com SD contra GC, foi observado que 60% (56/420) das amostras apresentaram produção da SATB contra as amostras de *S. mutans* do GC. E quando o isoantagonismo foi realizado com GC contra os pacientes com SD verificou que apenas 23,8% (21/420) produziram SATB. As amostras dos pacientes com SD produziram mais bacteriocina do que as amostras do GC (Tabela 8). Embora suas amostras tenham produzido mais bacteriocina não está sendo suficiente para elevar os níveis salivares dos *S. mutans*, pois o que se observa é que nesses pacientes há uma baixa de contagem desses microorganismos, enquanto os níveis dos *Lactobacillus* spp são elevados. Isso pode explicar a baixa prevalência de cárie nos pacientes com síndrome Down associada a outros fatores salivares e fisiológicos.

A freqüência da atividade isoantagonista de amostras de *S. mutans* isoladas de pacientes com SD e do GC contra bactérias Gram positivas foi maior quando o isoantagonismo foi realizado nas crianças com SD contra o GC (Tabela 8).

No exame realizado previamente a coleta da saliva, apenas 7 crianças de cada grupo apresentaram ao menos uma lesão de cárie. As amostras isoladas das crianças livres de cárie pertencentes aos dois grupos expressaram pouca SATB. Além disso, nesses mesmos pacientes foi verificada baixa contagem de *S. mutans* e alta de *Lactobacillus* spp (Tabela 9). Provavelmente os *Lactobacillus* spp estão em maior número nesses grupos devido à produção de bacteriocinas ou outro mecanismo de defesa que inibam os *S. mutans* e explique sua alta contagem nos pacientes livres de cárie. Concordando com Simark-Mattsson et al. (2009), ao avaliar a inibição dos *S. mutans* pelos *Lactobacillus* spp em pacientes com diferentes pH e experiências de cárie observaram que os *Lactobacillus* spp inibem os *S. mutans* com maior eficácia nos pacientes livres de cárie fazendo com que o seu número aumentem significativamente neles.

Tabela 9: Atividade isoantagonista de amostras de *S. mutans* isoladas de pacientes com Síndrome de Down e do Grupo Controle quanto à presença ou não de cárie. Teresina (PI), 2009.

Grupos	Com Cárie				Sem Cárie			
	Produziu		Não Produziu		Produziu		Não Produziu	
	N	%	N	%	N	%	N	%
Síndrome de Down	4	57,1	3	42,9	6	46,2	7	53,8
Grupo Controle	1	14,3	6	85,7	5	38,5	8	61,5

Fonte: Pesquisa Direta

O teste de qui-quadrado (χ^2) evidenciou que não houve diferença estatística entre a atividade isoantagonista de amostras de *S. mutans* isoladas de pacientes com Síndrome de Down e do Grupo Controle quanto à presença ou não de cárie para o $p < 0,05$.

Esses resultados não corroboram com o estudo realizado por Kamiya et al. (2005a), que avaliaram oito pacientes livres de cárie e oito com cárie quanto a produção de bacteriocina e observaram que, enquanto, os *S. mutans* isolados de pacientes com cárie apresentaram atividade mutacinogênica de amplo espectro e dos indivíduos livres de cárie apresentaram-se com baixo potencial mutacinogênico; além disso, verificaram uma associação entre a atividade da mutacina e os diferentes padrões de colonização de *Streptococcus sp* nos dois grupos estudados.

Segundo os achados de Nyvad e Kilian (1990) e Qi; Chen; Caufield (2001), indivíduos com cárie são mais facilmente colonizados por estreptococos cariogênicos, diferindo-se de pacientes livres de cárie que possuem uma colonização mais persistente de *S. sanguinis* e outros estreptococos do grupo mitis, justificando, talvez a atividade mutacinogênica mais intensa contra os colonizadores predominantes nestas populações.

Teoricamente, inibindo seus competidores potenciais, os isolados de *S. mutans* teriam uma colonização bem sucedida, por meio da aquisição da hegemonia nutricional ou de receptores de superfície específicos para sua adesão. Diante da composição da microbiota oral diferenciada de indivíduos com e sem cárie, o processo seletivo de *S. mutans* talvez priorizasse a colonização de linhagens produtoras de mutacinas contra espécies mais prevalentes nestas populações. Uma vez que a produção de bacteriocinas pode favorecer a espécie produtora em ambientes naturais e complexos como a placa dental (BALAKRISHNAN et al., 2002), sugere-se que a substância produzida seja direcionada para a inibição de espécies mais prevalentes, pela própria economia celular.

O isoantagonismo também foi realizado entre as amostras dos pacientes com SD contra *S. mutans* IM/UFRJ e entre as amostras do GC contra *S. mutans* IM/UFRJ. Tanto nos pacientes com SD como no GC a maioria não produziu SATB, sendo 75% nas crianças com SD e 80% no GC (Tabela 10). As amostras dos pacientes com SD e do GC que não produziram bacteriocina 69,2% e 77%, respectivamente, eram livres de cárie e apresentavam baixa contagem de *S. mutans* e alta de *Lactobacillus spp* (Tabela 11). Esses resultados não corroboram com os de Grönroos et al. (1998), que afirmou que a produção de bacteriocinas aumentaria a proporção dessa espécie no biofilme dental. Por outro lado, era esperada uma alta contagem de *S. mutans* nos pacientes com SD e no GC que produziram

bacteriocina. Esse resultado concorda com Simark-Mattsson et al (2007) que observou que a inibição dos *S. mutans* pelos *Lactobacillus* spp aumentaria nos pacientes livres de cárie, embora eles encontraram uma inibição dos *S. mutans* pelos *Lactobacillus* spp nos pacientes com cárie. Por outro lado, Longo, Mattos-Graner e Mayer (2003) ao examinar pacientes com diferentes experiências de cárie quanto à produção de mutacinas contra *S. mutans* ATCC25175 observou que não houve diferença entre os grupos.

Tabela 10: Atividade isoantagonista de amostras de *S. mutans* isoladas de pacientes com Síndrome de Down e do Grupo controle contra *S. mutans* IM/UFRJ . Teresina (PI), 2009.

Amostras de <i>S. mutans</i>	Numero de amostras bacteriocinogênicas		Numero de amostras não bacteriogênicas	
		(%)		(%)
Síndrome de Down	5	25	15	75
Grupo controle	4	20	16	80

Fonte: Pesquisa Direta

O teste de qui-quadrado (χ^2) evidenciou que não houve diferença estatística entre os grupos quanto a atividade isoantagonista de amostras de *S. mutans* isoladas de pacientes com Síndrome de Down e do Grupo controle contra *S. mutans* IM/UFRJ para o $p < 0,05$.

Tabela 11: Atividade isoantagonista de amostras de *S. mutans* isoladas de pacientes com Síndrome de Down e do Grupo controle contra *S. mutans* IM/UFRJ quanto à presença ou não de cárie. Teresina (PI), 2009.

Grupos	Com Cárie				Sem Cárie			
	Produziu		Não Produziu		Produziu		Não Produziu	
	N	%	N	%	N	%	N	%
Síndrome de Down	3	42,9	4	57,1	4	30,8	9	69,2
Grupo Controle	1	14,3	6	85,7	3	23	10	77

Fonte: Pesquisa Direta

O teste de qui-quadrado (χ^2) evidenciou que não houve diferença estatística entre a atividade isoantagonista de amostras de *S. mutans* isoladas de pacientes com Síndrome de Down e do Grupo Controle contra *S. mutans* IM/UFRJ quanto à presença ou não de cárie para $p < 0,05$.

O heteroantagonismo ocorre quando uma bactéria produz SATB contra outras bactérias, relacionadas ou não (FARIAS et al., 1992; OLIVEIRA et al., 1998a). Para verificação do heteroantagonismo, as amostras de cada paciente com SD e do GC foram testadas contra as reveladoras do gênero *Lactobacillus* conforme pode ser visto na Tabela 12. Essas linhagens foram doadas pelo Laboratório de Microbiologia Oral e Anaeróbios da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG).

Foi observado que dos pacientes com SD, a maioria produziu SATB contra *L. salivarius* ATCC 11741, enquanto nenhum paciente apresentou produção SATB contra *L. acidophilus* ATCC 4356 e *L. helveticus* ATCC 15009 (Tabela 12). Nos testes para verificação do heteroantagonismo, foi demonstrado que dos 160 testes realizados 15 (7,4%) produziram SATB.

Ao analisar as amostras do GC, a maioria produziu contra *L. gasseri* ATCC 15009, por outro lado, nenhum indivíduo do GC apresentou produção SATB contra *L. amylovorus* VPI 1754 e *Lactobacillus delbrueckii bulgaricus* ATCC 11482 (Tabela 12). Nos testes para verificação do heteroantagonismo, foi verificado que dos 160 testes realizados 18 (11,2%) produziram SATB.

A atividade heteroantagonista de amostras de *S. mutans* isoladas de pacientes com SD e do GC contra bactérias Gram positivas de referência, nos dois grupos experimentais não diferiram estatisticamente ($p < 0,05$).

Tabela 12: Atividade heteroantagonista de amostras de *Streptococcus mutans* isoladas de pacientes com Síndrome de Down e do Grupo controle contra bactérias Gram positivas de referência. Teresina(PI), 2009.

Amostras testadas de <i>S. mutans</i>	Amostras reveladoras da atividade bacteriogênica							
	<i>L.salivarius</i> ATCC	<i>L. amylovorus</i> ATCC	<i>L.acidophilus</i> ATCC 4356	<i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> DSM 20081	<i>L.helveticus</i> ATCC 15009	<i>L.fermentum</i> ATCC 9338	<i>L.gasseri</i> ATCC 15009	<i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>Delbrueckii</i>
SD	05	01	0	01	0	02	02	03
GC	01	0	01	0	2	05	07	02
Total	06	01	01	01	01	07	09	05

Fonte: Pesquisa Direta

O teste de qui-quadrado (χ^2) evidenciou que não houve diferença estatística entre os grupos quanto a atividade heteroantagonista para o $p < 0,05$.

As amostras dos pacientes com SD que apresentavam maior contagem de *Lactobacillus* spp foi observado que dos 13 pacientes 6 produziram SATB contra pelo menos uma reveladora do gênero *Lactobacillus* e 7 não produziram SATB. Das amostras que produziram SATB a maioria apresentavam baixa ou média contagem de *S. mutans*. Apesar dos *S. mutans* estarem produzindo bacteriocina ainda não está suficiente para aumentar a sua população. Isso pode explicar a contagem alta de *Lactobacillus* spp nos pacientes pesquisados, o que concorda com Simark-Mattsson et al (2007) e Simark-Mattsson et al (2009).

Nas crianças do GC que apresentavam maior contagem de *Lactobacillus* spp foi observado que dos 15 pacientes 7 produziram SATB contra pelo menos uma reveladora do gênero *Lactobacillus* e 8 não produziram. E das que produziram SATB todos apresentavam baixa contagem de *S. mutans*. Esses resultados discordam com os achados por Rogers et al. (1979), Hillman et al. (1987), Kitamura et al. (1989) que mostraram que a produção de bacteriocina facilitaria a colonização de *S. mutans*.

No autoantagonismo, a própria amostra produz bacteriocina contra ela mesma. Os dados que justificam o autoantagonismo são escassos, sendo relacionados a um

desequilíbrio entre o número de moléculas de bacteriocinas e a quantidade de moléculas que conferem imunidade (FARIAS et al., 1992; OLIVEIRA et al., 1998a). No presente estudo não foi encontrado nenhuma amostra que mostrasse autoantagonismo.

A produção de substâncias antagonistas constitui uma importante linha de pesquisa para a compreensão dos mecanismos que regulam a microbiota humana na cavidade oral, tanto na doença, quanto na saúde. Essa complexidade inerente a quantidade de espécies orais torna ainda mais difícil a obtenção de informações sobre o comportamento desses microrganismos. Assim, esta pesquisa nos forneceu subsídios que permitem dar as contribuições que são resumidas a seguir.

6 CONCLUSÕES

6 CONCLUSÃO

Considerando-se a metodologia empregada e os resultados obtidos, é lícito concluir que:

- 1 - Baixa contagem de *S. mutans* e alta contagem *Lactobacillus spp* pode ser vista na maioria dos pacientes com SD e também no GC;
- 2 - Pacientes livres de cárie com SD e do GC apresentavam na sua maioria baixa contagem de *S. mutans* e alta contagem de *Lactobacillus spp*;
- 3 - A atividade isoantagonista das amostras isoladas de pacientes SD produziram mais substâncias antagonistas tipo bacteriocina (SATB) do que os do GC;
- 4 - A maioria das amostras isoladas dos pacientes com SD e do GC não produziram substância antagonista do tipo bacteriocina contra os *S. mutans* IM/UFRJ;
- 5 - Não houve diferença estatística quanto à atividade heteroantagonista entre as amostras isoladas dos pacientes SD que a do GC;
- 6 - Nos pacientes livres de cárie, a maioria, não produziu substâncias antagonistas tipo bacteriocina (SATB) tanto nas crianças com SD quanto nas crianças do GC.

7 REFERÊNCIAS

7 REFERÊNCIAS

- AGUILERA, L. A. et al. Caries risk in children: determined by levels of Mutans streptococci and Lactobacillus. **J Clin Pediatr Dent** .v. 29, p. 329-334, 2005.
- ALALUUSA, S.; MYLLÄRNIEMI, S.; KALLIO, M. *Streptococcus mutans* infection level and caries in a group of 5-year-old children. **Caries Res.** v. 23, p.190-194, 1989.
- ALALUUSUA, S. Transmission of mutans streptococci. **Proc Finn Dent Soc**, Helsinki, v., 87, n.4, p.443-447, 1991.
- ALALUUSUA, S.; MATTO, J.; GRÖNROOS, L. Oral colonization by more than one clonal type of mutans streptococcus in children with nursing-bottle dental caries. **Arch Oral Biol.** v. 41, n. 2, p. 167–173, 1996.
- ALMEIDA, M. D. et al. Ação moduladora da microbiota de portadores de síndrome de Down sobre bactérias cariogênicas. **R. Ci. méd. biol**, Salvador, v. 4, n. 3, p. 214-220, set./dez. 2005.
- AZEVEDO, R.V.P.; ZELANTE, F.; ITO, I.Y. Detecção de cepas de *Streptococcus mutans* produtoras de substâncias semelhantes a bacteriocina (mutacina). **R. Fac. Odontol. Ribeirão Preto**, Ribeirão Preto, v.22, n.2, p.69- 74, jul./dez.1985.
- AZEVEDO, R.V.P. **Emprego da bacteriocinotipagem (mutacinotipagem) no rastreamento epidemiológico de estreptococos do “grupo mutans”**. São Paulo, 110 p. Tese de Doutorado, Instituto de Ciências Biomédicas - USP. 1988.
- AZEVEDO, R.V.P. et al. Estreptococos do grupo mutans: isolamento, identificação e prevalência das espécies na saliva de pares mãe/filho. **Rev. Odontol. Univ.** São Paulo, v.12, n. 1, p. 47-50, 1998.
- BALAKRISHNAN, M., SIMMONDS R. S., KILIAN M. Different bacteriocin activities of *S. mutans* reflect distinct phylogenetic lineages. **J Med Microbiol.** v. 51, n. 11, p. 941-948, 2002.
- BARNET, M.L. et al. The prevalence of periodontitis and dental caries in a Down's syndrome population. **J Periodontol.** v. 57, n. 5, p. 288-293, 1986.
- BARROS, A. J. D.; BERTOLDI, A. D. Desigualdades na utilização e no acesso a serviços odontológicos: uma avaliação em nível nacional. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 7, n. 4, p. 709-717, 2002.
- BERKOWITZ, R. Etiology of nursing caries: a microbiologic perspective. **J Public Health Dent.** v. 56, n. 1, 1996.
- BIANCHI, A. M., CUERVAS, A., JARAMILLO, R. J. Investigación odontológica en personas con síndrome de Down. **Rev Assoc Odontol.**v. 79, 1991.

BIMSTEIN, E. et al. **Saúde e doenças periodontais e gengivais: crianças, adolescentes e adultos jovens**. São Paulo: Santos, 2002. 303p.

BOOTH, S. J.; JOHNSON, J. L.; WILKINS, T. D. Bacteriocin production by strains of *Bacteroides* isolated from human feces and the role of these strains in the bacterial ecology of the colon. **Antimicrob Agents Chemother**. v. 11, p. 718-724, 1977.

BORREL C. **Métodos utilizados no estudo das desigualdades sociais em saúde**. In: Barata RB, organizador. *Condições de Vida e Situação de Saúde*. Rio de Janeiro: ABRASCO; 1997. p. 167-96

BRATTHAL, D.; HOSZEK, A.; ZHAO, X. Evaluation of a simplified method for sitespecificdetermination of mutans streptococci levels. **Swed. Dent. J.**, 20: 215-220,1996.

BRASIL, Ministério da Saúde. **Resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde/MS sobre Diretrizes e Normas Regulamentadoras de Pesquisa envolvendo seres humanos**. Diário Oficial de União, 10 de outubro de 1996.

BUISCHI, Y.P., AXELSSON, P. **Controle mecânico da placa dental realizado pelo paciente**. In: *ABOPREV - Promoção de Saúde Bucal*. 1 ed. São Paulo: Artes Médicas, p.113-29, 1997.

CAMPOS, C.C. **Contagem e identificação de estreptococos do grupo mutans em crianças com Síndrome de Down**. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Goiás, Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública. 2001.

CASTILHO, A. R. F.; PARDI, V. PEREIRA, C. V.; Caries prevalence, level of mutans streptococci, salivary flow rate, and buffering capacity in subjects with Down syndrome. **Braz J Oral**, v. 6, n. 21, p.1331-1336, 2007.

CHAN, A.R. Dental caries and periodontal disease in Down's syndrome patients.**Univ. Tor. Dent. J.** v. 7, n. 1, p. 18-21, 1994.

CHAUSHU, S. et al. Age-dependent deficiency in saliva and salivary antibodies secretion in Down's syndrome. **Arch of Oral Biology**, Oxford, v. 52, p. 1088-1096, 2007.

CHAVES, S. C. L.; SILVA, L. M. V.; A efetividade do dentifrício fluoretado no controle da cárie dental: uma meta-análise. **Rev. Saúde Pública**. v. 36, n. 5, 2002.

COGULU, D. et al. Evaluation of the relationship between caries indices and salivary secretory IgA, salivary pH, buffering capacity and flow rate in children with Down's syndrome.**Arch Oral Biology**, Oxford, v.51, p. 23-28, 2006a.

COGULU, D. et al. Genotyping of *Streptococcus mutans* by using arbitrarily primed polymerase chain reaction in children with Down Syndrome. **Archives of Oral Biology**, v. 51, n.3, p.177-182, 2006b.

CRUZ, A. A. G. et al. Percepção materna sobre higiene bucal de bebês: um estudo no Hospital Alcides Carneiro, Campina Grande – PB. **Pesqui Bras Odontoped Clín Integr**, João Pessoa, v. 4, n. 3, p. 185-189. 2004.

CURY, J.A. Uso do flúor e controle da cárie como doença. In: BARATIERI, L.N.; ANDRADA, M.A.C.; MONTEIRO Jr, S. **Odontologia Restauradora**. São Paulo: Editora Santos, 2001.

DESAI, S. S.; FAYETTEVILLE N. Y. Down Syndrome: a review of the literature. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod** v. 84, n. 3, p. 279-285, 1997.

DEAN, J. A.; HUGHES, C. V. **Métodos mecânicos e quimioterapêuticos de higiene bucal para uso domiciliar** In: Mc DONALD, R. E.; AVERY, D. R. **Odontopediatria**. Rio de Janeiro. Guanabara-Koogan, 2000. p. 178-196.

DECLARAÇÃO DE HELSINKI DA ASSOCIAÇÃO MÉDICA MUNDIAL. Princípios Éticos para Pesquisa Clínica Envolvendo Seres Humanos. Edinburgo, Escócia, 2000.

DINI, E.; HOLT, R. D.; BEDI, R. Comparison of two indices of caries patterns in 3-6 year old brazilian children from areas with different fluoridation histories. **International Dental Journal**. v. 48, n. 4, p. 378-385, 1998.

FABIO, U. et al. Production of bacteriocin-like substances human oral streptococci. **Microbiológica**. v.10, p. 363-370, 1987.

FARIAS, L. M. et al. Bacteriocin-like activity of *Bacteroides fragilis* group isolated from marmosets. **Res Microbiol**. v.143, p. 151-159, 1992.

FANTINATO, V.; ZELANTE, F. *Streptococcus salivarius*: Detecção de Cepas Produtoras de Substâncias Semelhantes à Bacteriocinas contra Bactérias Bucais. **Rev Microbiol**. v. 22, p. 49-54, 1991.

FIORATI, S.M.; SPÓSITO, R.A.; BORSATTO, M.C. Prevalência de cárie dentária e doença periodontal em pacientes com Síndrome de Down. **Odonto 2000**, v.3, n. 2, p. 58-62, 1999.

GABRE, P.; MARTINSSON, T.; GAHNBERG, L. Longitudinal study of dental caries, tooth mortality and interproximal bone loss in adults with intellectual disability. **Eur J Oral Sci**, Copenhagen, v. 109, p. 20-26, 2001.

GARCIA, L.B. **Doenças periodontais em crianças e adolescentes portadores de síndrome de Down**. 1994. 87f. Monografia apresentada ao Curso de Especialização em Odontopediatria da Faculdade de Odontologia de São José dos Campos, Universidade Estadual Paulista.

GOLD, O. G.; JORDAN, H. V.; VAN HOUTE J. A selective medium for *Streptococcus mutans*. **Arch Oral Biol**. v.18, p.1357-1364, 1973.

GOVAN, J. R. W. *In Vivo* significance of bacteriocin and bacteriocin receptors. **Scand J Infect.** v. 49, p. 31-37, 1986.

GOYETTE, N. et al. Inverse correlation between the proportion of salivary bacteria inhibiting *Streptococcus mutans* and the percentage of untreated carious teeth. **J Oral Pathol Med.** v. 24, p. 462-467, 1995.

GRATIA, A. Sur un remarquable exemple d'antagonisme entre deux souches de colibacille. **Compt Rend.** v.93, p. 1040-1041, 1925.

GRÖNROOS L., ALALUUSUA S. site-specific oral colonization of mutans streptococci detected by arbitrarily primed PCR fingerprinting. **Caries Res.** v. 34, n. 6, p.474-480, 1998.

HAAS, N. A. T.; VALENÇA, A. M. G.; SAMPAIO, F. C. Prevalência de fluorose dentária em escolares de 6 a 9 anos de Niterói. **Rev Bras Odontol**, Rio de Janeiro, v. 621, n. 1-2, p. 68-71, 2005.

HABIBIAN, M. et al. Relationships between dietary behaviours, oral hygiene and mutans streptococci in dental plaque of a group of infants in southern England. **Arch Oral Biol.**, v. 47, n. 6, p.491-8. Jun. 2002.

HAMADA, S.; OOSHIMA, T. Inhibitory spectrum of a bacteriocinlike substance mutacin produced by some strains of *Streptococcus mutans*. **J Dent Res.** v. 54, n. 1, p. 140-145, 1975.

HATTORI, M. et al. The DNA sequence of human chromosome 21. **Nature**, London, v. 405, p. 311-319, 2000.

HILLMAN, J. D.; JOHNSON, K. P.; YAPHE, B. I.; Isolation of a *Streptococcus mutans* Strain Producing a Novel Bacteriocin. **Infect Immun.** v. 44, p.141-144, 1984.

HILLMAN, J. D.; DZUBACK, A. L.; ANDREWS, S. W. Colonization of the human oral cavity by a *Streptococcus mutans* mutant producing increased bacteriocin. **J Dent Res.**v. 66, p. 1092-1094, 1987.

HILLMAN, J. D. et al Construction and characterization of an effector strain of *S. mutans* for replacement therapy of dental caries. **Infect Immun.** Washigton. v. 68, n. 2, p. 543-549, Feb. 2000.

HOLM, A. K. 1990 *apud* BRANDÃO, I. M M. Cárie precoce: influência de variáveis sócio-comportamentais e do *locus* de controle da saúde em um grupo de crianças de Araraquara, São Paulo, Brasil. **Cad. Saúde Pública.** v. 22, n. 6, 2006.

IERVOLINO, A.S. **Estudo das percepções, sentimentos e concepções para entender o luto de familiares de portadores da Síndrome de Down da cidade de Sobral-Ceará.** Tese de Doutorado, Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo, 2005.

JACOB, F. et al. Definition de quelques termes relatifs a la lysogènie. **Ann Inst Pasteur.** v. 84, p. 222-224, 1953.

KAMIYA, R.U. et al. Mutacins production in *Streptococcus mutans* genotypes isolated from caries-affected and caries-free individuals. **Oral Microbiol Immunol.** v. 20, p. 20-24, 2005a.

KITAMURA, K. et al. Effect of a bacteriocin-producing strains of *Streptococcus sobrinus* on infection and establishment of *Streptococcus mutans* on tooth surfaces in rats. **Oral Microbiol Immunol.** v. 4, n 1, p. 65-70, 1989.

KOGA-ITO, C. Y. et al. Correlation among *mutans streptococci* counts, dental caries, and IgA to *Streptococcus mutans* in saliva. **Braz Oral Res.** V. 18, n. 4, p. 350-355, 2004.

KONEMAN, E. W. **Diagnóstico Microbiológico - Texto e Atlas Colorido** – 6. Ed. Guanabara Koogan, 2008.

KRASSE, B. **Risco de Cáries.** Guia prático para controle e assessoramento. 2. ed. São Paulo: Quintessence, 1986. 68p.

KUMASAKA, S. et al. Oligodontia: a radiographic comparison of subjects with Down syndrome and normal subjects. **Spec Care Dentist,** Chicago, v. 17, n.4, p. 137-141, 1997.

LARMAS, M. Simple tests for caries susceptibility. **Int Dent J.** v. 35, n. 2, p. 109-117, Jun, 1985.

LEE, S. R. et al. Dental caries and salivary immunoglobulin A in Down syndrome children. **J. Paediatr. Child Health,** [S.l], v. 40, p. 530–533, 2004.

LEITES, A. C. B. R.; PINTO, M. B., SOUSA, E. R. S. Aspectos microbiológicos da cárie dental. **Salusvita.** v. 25, n. 2, p.135- 148, 2006.

Le JEUNE, M.J.; GAUTHIER, M.; TURPIN, R. Les cromossomes humains en culture de tissus. **Comp Rend Acad Sci,** Paris, v. 248, n.1, p. 602-603, 1959.

LIMA, Y. B.; CURY, J. A. Ingestão de flúor por crianças pela água e pelo dentifício. **Rev. Saúde Pública,** v. 35, n. 6, p. 576-581, 2001.

LISBOA, I.C.; ABEGG, C. Hábitos de higiene bucal e uso dos serviços dos serviços odontológicos por adolescentes e adultos do Município de Canoas, Estado do Rio Grande do Sul, Brasil. **Epidemiologia e Serviços de Saúde,** v.4, n.15, p.29-39, 2006.

LONGO, P. L.; MATTOS-GRANER, R. O.; MAYER, M. P. A. Determination of mutacin activity and detection of mutA genes in *Streptococcus mutans* genotypes from caries-free and caries-active children. **Oral Microbiol Immunol** v.18, p. 144–149, 2003.

MARINHO DE JESUS, C. **Avaliação da presença de lesões de cárie dentária, biofilme bacteriano visível e análise microbiológica de *Streptococcus* grupo mutans em crianças de 12 a 48 meses de idade portadoras e não portadoras de Síndrome de Down.** Dissertação de Mestrado. Universidade Estadual Paulista "Júlio Mesquita Filho" - UNESP. Araraquara – SP, 2002.

MATSUMOTO, M. et al. Cariogenicity of the Probiotic Bacterium *Lactobacillus salivarius* in Rats. **Caries Res.** v. 39, n. 6, p. 479-483, 2005.

MORAES, M. E. L. et al. Prevalência de cárie pelo índice CPO-D em portadores de síndrome de Down. **PGRO - Pós-Grad Rev. Odontol.** São José dos Campos, v. 5, n. 2, p. 64-73, 2002.

MORAES, M. E. L. et al. Dental age in patients with Down syndrome. **Braz Oral Res,** v. 21, n.3, p. 259-264, 2007.

MORENCY, H.; TRAHAN L.; LAVOIE, M. C. Preliminary grouping of mutacins. **Can. J. Microbiol.** v.41, p. 826-831, 1995.

MORINUSHI, S. T.; LOPATIN, D. E. TANAKA, H. The relationship between dental caries in the primary dentition and s. *S. mutans* serum antibodies in children with Down's syndrome. **J. Clin. Pediatr. Dent.,** Birmingham, v.19, n.4, p.279-284, 1995.

MOURA, C. M. M.; CAVALCANTI, A. L.; BEZERRA, P. K. M.; Prevalência de cárie dentária em escolares de 12 anos de idade, Campina Grande, Paraíba, Brasil. **Rev. Odonto Ciênc.** v. 23, n. 3, p. 256-262, 2008.

MOYNIHAN, P. J.; HOLT, R. D. The national diet and nutrition survey of 1.5 to 4.5 year old children: summary of the findings of the dental survey. **British Dental Journal,** v. 181, p. 328-332, 1996.

MUSTACCHI, Z; PERES, S. **Genética baseada em evidências – Síndromes e heranças.** São Paulo: CID Editora, 1999.

NEWBRUN, E. **Cariologia.** 2. ed. São Paulo: Santos, 1988

NYVAD, B., KILIAN, M., Comparison of the initial streptococcal microflora on dentalenamel in caries-active and caries-inactive individuals. **Caries Res.** v. 24, p. 267-272, 1990.

OLIVEIRA, A. A. P. et al. Bacteriocin production by *Fusobacterium* isolates recovered from the oral cavity of human subjects with and without periodontal disease and of marmosets. **Res. Microbiol.** v.149, p. 585-594, 1998a.

OKADA, M. et al. Longitudinal study of dental caries incidence associated with *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sobrinus* in pre-school children. **J. Med. Microbiol.** v. 54, p. 661-665, 2005.

O'SULLIVAN, D., THIBODEAU, E. Caries experience and mutans streptococci as indicators of caries incidence. **Pediatr Dent.** v. 18, p. 371-374, 1996.

PAIVA, E.; FERREIRA, L. P. Avaliação do risco de cárie em Odontopediatria: A sua utilidade como meio de prevenção. **Acta Pediatr Port.** v. 40, n. 2, p. 59-64, 2009.

PATTUSSI, M.P. et al. A social deprivation, income inequality, social cohesion and dental caries in Brazilian school children. **Soc Sci Med.** v. 53, p. 915-25, 2001.

PERES, M. A. **Epidemiologia da saúde bucal.** Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan; 2006. p. 49-67.

PERETZ, B.; KATZENEL, V.; SHAPIRA, J. Morphometric variables of the primary second molar in children with Down syndrome. **J Clin Pediatr Dent,** Birmingham, v. 23, n. 4, p. 333-336, 1999.

PERINETTI et al. Risk/Prevention Indicators for the Prevalence of Dental Caries in Schoolchildren: Results from the Italian OHSAR Survey. **Caries Res.** v. 39, p. 9-19, 2005.

PILCHER, E. Dental care for the patient with down syndrome. **Down Syndrome Research and Practice.** v. 5, n. 3, p. 111-116, 1998.

PINAZO, J.D.C.; VIANNA, M.I.P. Cárie dentária e placa bacteriana em crianças de 07 a 14 anos portadores de Síndrome de Down, matriculadas em instituições públicas e privadas do município de Salvador-Bahia. **R. Fac.Odontol. Univ. Fed. Bahia,** Salvador, v.18/19, 1998.

PINTO, V. G. **Saúde bucal e coletiva.** 4ª ed. São Paulo: Ed.Santos;2000.

POWELL, L. V. CARIES prediction: a review of the literature. **Community Dent. Oral Epidemiol.** v. 26, n. 6, p. 361-371, 1998.

QI, F., CHEN, P.; CAUFIELD, P. W. The group I strain of *Streptococcus mutans*, UA140, produces both the lantibiotic mutacin I and a nonlantibiotic bacteriocin, mutacin IV. **Appl Environ Microbiol.** v. 67, p. 15-22, 2001.

REID, G. et al. New Scientific paradigms for probiotics and prebiotics. **J. Clin. Gastroenterol,** v. 37, n. 2, p. 105-118, 2003.

REISINE, S.; DOUGLASS, J. M. Psychosocial and behavioral issues in early childhood caries. **Community Dent Oral Epidemiol.** v. 26, n. 1, p. 32-44, 1998.

RILEY, M. A.; GORDON, D. M. The ecological role of bacteriocins in bacterial competition. **Trends Microbiol.** v. 7, p. 129-33, 1999.

RODRIGUES, M. R. Analysis of serotypes and gene for mutacins in streptococcus mutans isolated from preschool children with different caries experiences. **Cienc Odontol Bras.** v. 11, n. 4, p. 40-46, 2008.

ROGERS, A. H. Bacteriocinogeny and the properties of some bacteriocins of *Streptococcus mutans*. **Arch Oral Biol.**v. 21, p. 99-104, 1976.

ROGOSA, M. et al. A selective medium for the isolation and enumeration of oral and fecal lactobacilli. **J. Bacteriol.** v.62, p. 132, 1951.

RYAN, F. J.; FRIED, P.; MUKAI, F. A. Colicin produced by cells that are sensitive to it. *Biochim. Biophys Acta* . v.18, p. 131, 1955.

SALAKO, N. O. Infant feeding profile and dental caries status of urban Nigerian children. **Acta Odontol Pediatr.** v. 6, p. 13-17, 1985.

SANTAGELO, C. N. et al. Avaliação das características bucais de pacientes portadores de síndrome de Down da APAE de Mogi das Cruzes- SP. **Com Scientiae Saúde**, V. 7 n. 1, p. 29-34, 2008.

SANTOS, P. A.; RODRIGUES JÁ, GARCIA, P. P. N. S. Conhecimento sobre prevenção de cárie e doença periodontal e comportamento de higiene bucal de professores de ensino fundamental. **Cienc Odontol. Bras.** v. 6, n. 1, p. 67-74, 2003.

SCHMIDT, M. G. **Avaliação de cárie dentária, níveis salivares de streptococos do grupo mutans e capacidade tampão da saliva em crianças portadoras de Síndrome de Down na faixa etária de 6 a 14 anos.** São Paulo, 1995, 54 p. Dissertação (Mestrado em Patologia bucal), Faculdade de odontologia, Universidade de São Paulo.

SHAPIRA, J. et al. Caries level, *Streptococcus mutans* count, salivarius pH, and periodontal treatment needs of adults Down syndrome patients. **Spec Care Dent.**, Chicago, v.11, n.6, p.248-251, Nov./Dec. 1991.

SILVA, L. C.; DURAN, M. Mortalidad infantil y condiciones higienicosociales em las Américas. Un estudio de correlación. **Rev Saúde Pública.** v. 24, p. 473-480, 1990.

SILVA, F. B.; SOUSA, S. M. G. Síndrome de Down - Aspectos de interesse para o cirurgião-dentista. **Revista Salusvita**, Bauru, v. 20, n. 2, p. 83-94, 2001.

SILVA, K. G., SANDRA M. H. AGUIAR, C. A. **Revista Odontológica de Araçatuba**, v.24, n.1, p. 33-39, Janeiro/Julho, 2003.

SIMARK-MATTSSON, C. et al. Final pH affects the interference capacity of naturally occurring oral Lactobacillus strains against mutans streptococci **Archives of oral biology.** v. 54, n. 6, p. 602-607, 2009.

SIMARK-MATTSSON, C. et al. Lactobacillus mediated interference of mutans streptococci in caries free and caries-active subjects. **European Journal of Oral Sciences.** v. 115, n. 4, p. 308 -314, 2007.

SIQUEIRA, W. L. et al. Buffer capacity, pH, and flow rate in saliva of children aged 2-60 months with Down syndrome. **Clin Oral Invest**, [S. I.], v. 9, p. 26-29, 2005.

SIQUEIRA, W. L.; NICOLAU, J. Stimulated whole saliva components in children with Down syndrome. **Spec care Dentist.** v. 22, n. 6, p. 226-230, 2002.

SIQUEIRA, W. L. et al. Electrolyte concentrations in saliva of children aged 2-60 months with Down syndrome. **Oral Sug Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.** v. 98, p. 76-79, 2004b. 2004b.

SOARES, K. A. **Relação entre as Condições de Saúde Bucal de Portadores de Síndrome e Down e as de seus Cuidadores.** Teresina, 2007, 101 p. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde), Universidade Federal do Piauí.

SOARES, K.A., et al. Prevalence of malocclusion in patients with Down's Syndrome in the city of Teresina-PI. **RGO.** v. 57, n.2, p. 187-191, 2009.

SORAGGI, M. B. S. et at. A cárie dentária e suas condicionantes em crianças de uma escola pública Municipal, em Niterói, RJ. **Pesquisa Brasileira em Odontopediatria e Clínica Integrada.** v. 7, p. 119-124, 2008.

SPOLIDORIO, D. M. P. **Biotipos de Streptococcus grupo mutans e avaliação de parâmetros clínicos e microbiológicos entre escolares de diferentes classes socioeconômicas.** Piracicaba, 1997, Doutorado(Mestrado em Odontologia), Universidade Estadual de Campinas-Unicamp.

STANIER, R. Y.; INGRAHAM, J. I.; WHEELIS, M. L. PAINTER, P. R. **The Microbial World.** 5 ed., Prentice Hall, New Jersey. 1986, 689p.

STABHOLZ, A. et al. Caries experience, periodontal treatment needs, salivary pH, and *Streptococcus mutans* counts in preadolescent Down syndrome population. **Spec.Care Dentist.** v. 11, n. 5, p. 203-208, 1991.

TAGG JR, DAJANI AS, WANNAMAKER LW. Bacteriocins of Gram-Positive bacteria. **Bacter Ver.** v. 40, p. 722-56, 1976.

TANZER, J. M. Dental caries is a transmissible infectious disease: The Keyes and Fitzgerald revolution. **J Dent Res.**v. 74, n. 9, p.1536-1542, 1999.

TANZER, J. M., LIVINGSTON, J., THOMPSON, A. M. The microbiology of primary dental caries in humans. **J Dent Educ.** v. 65, p. 1028-1037, 2001.

THOMPSON, M.W.; McINNES, R.R.; WILLARD, H.F. **Genética Médica.** 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1993. p.139.

ULSETH, J. O. et al. Dental caries and periodontitis in persons with Down syndrome. **Spec Care Dent,** Chicago, v. 11, p. 71-73, 1991.

VAN LOVEREN, C.; BUJIS, J.; TEN CATE, J. M. Similarity of bacteriocin activity profiles of Mutans streptococci within the family when the children acquire strains after the age of 5. **Caries Res.** v. 34, n. 6, p. 481-485, 2003.

VELASCO, E. et. al. Dental health among institutionalized psychiatric patients in Spain. **Spec Care Dentist,** n.17, v.6, p.203-206, 1997.

VITTEK, J. et al. Analysis of orthodontic anomalies in mentally retarded developmentally disabled persons. **Spec Care Dentist**, Chicago, v. 14, p. 198-202, 1994.

WAJM, E.; LAGRECA, L.E.; GUITMANN, R. et al. Flúor e sua atuação sobre os pacientes especiais. **J. Bras. Odontopediatr. Odontol. Bebe**, n.2, v.5, p.9-13, 1999.

WEYNE, S., HARARI, S. **Cariologia: Implicações e aplicações Clínicas**. In: Baratieri, L. N. Odontologia Restauradora: Fundamentos e Possibilidades. Rio de Janeiro: Santos, Quintessence, Cap. 1, p. 3-29, 2002.

WHYMAN, R.A. et al. The oral health of long-term residents of a hospital for the intellectually handicapped and psychiatrically ill. **New Z Dent J**, n.91, v.6, p.49-56, 1995.

WILSON, M. Special considerations for the dental professional for patients with Down's syndrome. **J Okla Dent Assoc**, USA, v. 84, p. 24-26, 1994.

YARAT, A. et al. Salivary sialic acid, protein, salivary flow rate, pH buffering capacity and caries indices in subjects with Down's Syndrome. **J Dent**, Oxford, v. 27, p. 115-118, 1999.

8 APÊNDICES

APÊNDICE

- A. Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa
- B. Modelo da autorização da Diretoria da Instituição participantes da pesquisa.
- C. Modelo do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.
- D. Modelo do formulário do portador de síndrome de Down.
- E. Modelo do formulário do grupo controle.

APÊNDICE A - Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
Comitê de Ética em Pesquisa**

Campus Universitário Ministro Petrônio Portela, Bairro Ininga, Teresina, Piauí,
Brasil CEP 64049-550
Telefones: (86) 3215-5734 Fax (86) 3215 5560
e-mail:cep.ufpi@ufpi.br

PARECER

Parecer Nº. 31/08

Pesquisador (a) Responsável: DANYEGE LIMA ARAÚJO FERREIRA
Equipe Executora: REGINA FERRAZ MENDES; FRANCISCA LÚCIA DE
LIMA; RAIMUNDO ROSENDO PRADO JÚNIOR; MARIA JOSÉ DOS SANTOS
SOARES

CAAE Nº.: 0031.0.045.000-08

Instituição onde será desenvolvido: Universidade Federal do Piauí

Instituição onde os dados serão coletados : UFPI/CIES

Situação: **APROVADO**

O Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Piauí analisou na sessão do dia 13.03.2008 o projeto de pesquisa: **“CONTAGEM DE STREPTOCOCOS MUTANS, SOBRINUS E DE LACTOBACILOS E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTAGONISTA DA MICROBIOLOGIA EM PORTADORES DE SÍNDROME DE DOWM”**

Mediante a importância social e científica que o projeto apresenta, a sua aplicabilidade e conformidade com os requisitos éticos, somos de parecer favorável à realização do projeto classificando-o como **APROVADO**, pois o mesmo atende aos requisitos fundamentais da Resolução 196/96 e suas complementares do Conselho Nacional de Saúde/MS.

Solicita-se ao pesquisador o envio, a este CEP, de relatórios parciais sempre quando houver alguma alteração no projeto, bem como o relatório final gravado em CD-ROM.

Teresina, 13 março de 2008

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Regina Ferraz Mendes'.

Profa. Dra. Regina Ferraz Mendes
Coordenadora do CEP-UFPI

APÊNDICE B – Modelo da Autorização da diretoria da Instituição

GOVERNO DO ESTADO DO PIAUÍ

SECRETARIA DE EDUCAÇÃO E CULTURA - SEDUC

CENTRO INTEGRADO DE EDUCAÇÃO ESPECIAL (CIES)

Eu, _____, responsável pelo Centro Integrado de Educação Especial (CIES) estou ciente e aceito que a pesquisa “Contagem de *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sobrinus* e *Lactobacillus* spp e Avaliação da Atividade Antagonista da Microbiota em Portadores de Síndrome de Down” seja realizada nas dependências da Instituição. Sei que em cada participante serão coletadas amostras de saliva, com espátulas de madeira previamente esterilizadas. Em seguida, os alunos passarão por exame da boca para verificar o estado dos dentes, observando se tem cárie ou não e que seus dados serão coletados em uma ficha. Estas informações serão colhidas no consultório odontológico da própria instituição pela Dra. Danyege Lima Araújo Ferreira e auxiliares, em horário que não interfira nas atividades didáticas, para posteriormente serem avaliadas pela equipe da pesquisa, a qual manterá sigilo da fonte dos dados colhidos e se responsabilizará pela guarda dos dados obtidos.

Os responsáveis pelos escolares e eu fomos esclarecidos quanto ao direito de não participar do estudo. A não aceitação em participar da pesquisa não implicará em qualquer tipo de retaliação por parte da escola. Em caso de dúvidas ou esclarecimentos, tenho o direito de contatar com as pesquisadoras pelo telefone 3215-1148 ou com o Comitê de Ética em Pesquisa da UFPI no número 3215-5564.

Teresina (PI), ____ de _____ de 200__.

Diretor da Escola

Pesquisadora

APÊNDICE C – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
MESTRADO EM CIÊNCIAS E SAÚDE

Você está sendo solicitado para permitir que _____ participe de uma pesquisa. Você precisa decidir se quer autorizar ou não. Por favor, não se apresse em tomar a decisão. Leia cuidadosamente o que se segue e pergunte ao responsável pelo estudo sobre qualquer dúvida que tiver. Este estudo será conduzido por DANYEGE LIMA ARAÚJO FERREIRA, sob orientação da Prof^a. Dr^a. Regina Ferraz Mendes. Após ser esclarecido (a) sobre as informações a seguir, no caso de autorizar este estudo, assine este documento, que está em duas vias. Uma delas é sua e a outra é do pesquisador responsável. Em caso de recusa você não será penalizado (a) de forma alguma. Em caso de dúvida você pode procurar as pesquisadoras pelo telefone 3231-0211/9982-2145 ou no Comitê de Ética em Pesquisa da UFPI no número 3215-5564.

ESCLARECIMENTO SOBRE A PESQUISA:

Título do Projeto: “Contagem de *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sobrinus* e *Lactobacillus* spp e Avaliação da Atividade Antagonista da Microbiota em Portadores de Síndrome de Down”.

Pesquisador Responsável: Danyege Lima Araújo Ferreira

Telefone para contato: (086) 3231-0211/ 9982-2145

◆ Esta é uma pesquisa exigida para terminar o mestrado na Universidade Federal do Piauí, e será realizada no CIES (Centro Integrado de Educação Especial). Participará da pesquisa pessoas com Síndrome de Down, na faixa etária de até 14 anos com dentes irrompidos, e um irmão dele, desde que seus responsáveis autorizarem a pesquisa. Este projeto foi aprovado pelo comitê de ética e autorizado pelo diretor da instituição.

OBJETIVOS: estudar a relação entre o portador de Síndrome de Down e um irmãos quanto à quantidade de dentes com cárie, obturado ou perdido e quanto à presença de bactérias no cuspe, na cidade de Teresina-PI.

COMO SERÁ FEITO: A pesquisadora fará um exame na boca dos portadores de Síndrome de Down e seus irmãos e os dados encontrados serão anotados em uma ficha. Em cada participante serão coletadas amostras de cuspe, com espátulas de

madeira previamente esterilizadas. Depois vamos observar se tem alguma massinha (sujo) sobre os dentes deles. Em seguida, receberão uma escova e pasta de dente e o eu farei a escovação. Depois vou olhar a boca, utilizando espelho bucal, sem trazer nenhum dano; estando o mesmo acomodado adequadamente na cadeira de dentista para verificar o estado dos dentes, observando se tem cárie, obturação e se perdeu algum dente.

◆ A presente pesquisa não trará riscos, prejuízos, desconforto, lesões, formas de indenização, nem ressarcimento de despesas, mas trará como benefícios as orientações sobre limpeza da boca e como cuidar melhor dos dentes.

◆ As informações serão colhidas no CIES pela pesquisadora e auxiliares, em horário que não interfira nas atividades didáticas, para posteriormente serem avaliadas somente pela equipe da pesquisa, que manterá sigilo da fonte dos dados colhidos.

◆ A não aceitação em participar da pesquisa não implicará em qualquer tipo de retaliação.

◆ Em qualquer etapa do estudo, você terá acesso aos profissionais responsáveis pela pesquisa para esclarecimento de eventuais dúvidas. O principal investigador é Dra. Danyege Lima Araújo Ferreira, que poderá ser encontrado no endereço: Centro de Ciências da Saúde – Av. Frei Serafim. Bairro Centro, Teresina-PI, Mestrado em Ciências e Saúde. Telefone (86) 3231-0211; 9982-2145. Se você tiver alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Universidade Federal do Piauí, no mesmo endereço *Campus* Universitário Ministro Petrônio Portella - Bairro Ininga - Teresina – PI. CEP: 64.049-550, pelo telefone (86)3215-5564.

◆ O período de participação será a partir de Março de 2008 e o participante terá o direito de retirar o consentimento a qualquer tempo.

Nome e Assinatura do pesquisador

Danyege Lima Araújo Ferreira

CONSENTIMENTO

Eu, _____, abaixo assinado, responsável por _____ e _____, concordo em autorizar e participar da pesquisa “Contagem de *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sobrinus* e *Lactobacillus* spp e Avaliação da Atividade

Antagonista da Microbiota em Portadores de Síndrome de Down”. Tive pleno conhecimento das informações que li ou que foram lidas para mim, descrevendo o estudo. Discuti com a Dra. Danyege Lima Araújo Ferreira sobre a minha decisão em participar nesse estudo. Ficaram claros para mim quais são os propósitos do estudo, os procedimentos a serem realizados, a ausência de riscos, as garantias de confidencialidade e de esclarecimentos permanentes. Ficou claro também que minha participação é isenta de despesas e que tenho garantia do acesso à pesquisa. Concordo, voluntariamente, em participar deste estudo e poderei retirar o meu consentimento a qualquer momento, antes ou durante o mesmo. A retirada do consentimento da participação no estudo não acarretará penalidades ou prejuízos nessa Instituição ou Serviço.

Teresina, ___ de _____ de 200___.

Nome e Assinatura do responsável:

APÊNDICE D - Formulário do portador de síndrome de Down.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
MESTRADO EM CIÊNCIAS E SAÚDE

“Contagem de *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sobrinus* e *Lactobacillus* spp e Avaliação da Atividade Antagonista da Microbiota em Portadores de Síndrome de Down”.

Data: ___/___/___ N° da ficha: _____

Identificação do Paciente com Síndrome de Down:

Nome: _____

Idade (anos completos): ()

Gênero: (1) Masculino (2) Feminino()

Identificação do Responsável:

Nome: _____

Idade (anos completos): ()

Gênero: (1) Masculino (2) Feminino ()

Grau de Parentesco cuidador/Paciente: 1. () Mãe 2. () Pai 3. () Irmão(ã) 4. () Tio(a)

5. () Nenhum 6. () Outro: _____

O paciente com síndrome de Down tem irmão? 1. () Sim 2. () Não

Quantos? () Idade(s): _____

Escolaridade (anos de estudo): 0. Sem 1. ≤ 3 2. 4 a 6 3. 7 a 9 4. ≥ 10

Hábitos de Higiene Bucal
Escova os dentes? 1. () Não 2. () Sim
Quando iniciou? 1. () Ao nascer 2. () Após nascer os dentes anteriores 3. () Após nascer os dentes posteriores
Quem escova? 1. () Mãe 2. () A própria criança 3. () Outro: _____
Quantas vezes ao dia? 1. () Uma 2. () Duas 3. () Três 4. () Mais de três
Usa creme dental? 1. () Não 2. () Sim
Usa fio dental para limpar entre os dentes (e não somente para remover restos de alimentos)? Em caso afirmativo responder a questão seguinte. 1. () Não 2. () Sim 3. () Às vezes
Quantas vezes ao dia? 1. () Uma 2. () Duas 3. () Três 4. () Mais de três
Quando foi a última vez que foi ao dentista? 1. () Nunca foi 2. () Menos de 6 meses 3. () Entre 6 meses e 1 ano 4. () Mais de 1 ano

Análise Microbiológica

NÚMERO DE UNIDADES FORMADORAS COLÔNIAS/ ML DE SALIVA (UFC/ML) DE S. MUTANS E S. SOBRINUS.

Numero de colônias	ufc S. mutans / ml de saliva	Resultado
0-20	< 10 ⁵ - grupo de baixa contagem	
21-100	10 ⁵ - 10 ⁶ - grupo de média contagem	
> 100	> 10 ⁶	

Presença de Halo de Inibição: A) S. Mutans: 1. () Sim 2. () Não

B) S. Sobrinus: 1. () Sim 2. () Não

NÚMERO DE UNIDADES FORMADORAS COLÔNIAS/ ML DE SALIVA (UFC/ML) DE LACTOBACILLUS SPP.

Numero de colônias	<i>Lactobacillus</i> spp ufc / ml de saliva	Resultado
0	0 a 1000 - grupo de baixa contagem	
< 100	1000 a 5000 - grupo de média contagem	
> 100	> 5000	

Presença de Halo de Inibição: A) *Lactobacillus* spp: 1. () Sim 2. () Não

APÊNDICE E - Formulário do grupo controle.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
MESTRADO EM CIÊNCIAS E SAÚDE

“Contagem de *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sobrinus* e *Lactobacillus* spp e Avaliação da Atividade Antagonista da Microbiota do Grupo Controle”.

Data: ___/___/___ N° da ficha: _____

INSTITUIÇÃO: _____

Identificação do Indivíduo do Grupo Controle:

Nome: _____

Idade (anos completos): ()

Gênero: (1) Masculino (2) Feminino ()

Identificação do Responsável:

Nome: _____

Hábitos de Higiene Bucal

Escova os dentes? () Não () Sim

Quando iniciou? 1.() Ao nascer 2.() Após nascer os dentes anteriores 3.() Após nascer os dentes posteriores

Quem escova? () Mãe () A própria criança () Outro: _____

Quantas vezes ao dia? () Uma () Duas () Três () Mais de três

Usa dentifrício? () Não () Sim

Usa fio dental para limpar entre os dentes (e não somente para remover restos de alimentos)?

Em caso afirmativo responder a questão seguinte. () Não () Sim () Às vezes

Quantas vezes ao dia? () Uma () Duas () Três () Mais de três

Quando foi a última vez que foi ao dentista?

- () Nunca foi
- () Menos de 6 meses
- () Entre 6 meses e 1 ano
- () Mais de 1 ano

Análise Microbiológica

NÚMERO DE UNIDADES FORMADORAS COLÔNIAS/ ML DE SALIVA (UFC/ML) DE S. MUTANS E S. SOBRINUS.

Numero de colônias	ufc S. mutans / ml de saliva	Resultado
0-20	< 10 ⁵ - grupo de baixa contagem	
21-100	10 ⁵ - 10 ⁶ - grupo de média contagem	
> 100	> 10 ⁶	

Presença de Halo de Inibição: A) S. Mutans: 1. () Sim 2. () Não

B) S. Sobrinus: 1. () Sim 2. () Não

NÚMERO DE UNIDADES FORMADORAS COLÔNIAS/ ML DE SALIVA (UFC/ML) DE *LACTOBACILLUS* SPP.

Numero de colônias	<i>Lactobacillus spp</i> ufc / ml de saliva	Resultado
0	0 a 1000 - grupo de baixa contagem	
< 100	1000 a 5000 - grupo de média contagem	
> 100	> 5000	

Presença de Halo de Inibição: A) *Lactobacillus spp*: 1. () Sim 2. () Não

