

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA**

FLÁVIA MARTÃO FLÓRIO

Cirurgiã Dentista

**“PADRÃO DE COLONIZAÇÃO POR ESTREPTOCOCOS
GRUPO MUTANS EM CRIANÇAS SUBMETIDAS OU NÃO A
PROGRAMA EM PROMOÇÃO DE SAÚDE BUCAL”.**

Tese apresentada à Faculdade de Odontologia
de Piracicaba da Universidade Estadual de
Campinas, para a obtenção do título de
Doutora em Odontologia - área de
concentração em Cariologia.

PIRACICABA
2003

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA

FLÁVIA MARTÃO FLÓRIO

Cirurgiã Dentista

**“PADRÃO DE COLONIZAÇÃO POR ESTREPTOCOCOS
GRUPO MUTANS EM CRIANÇAS SUBMETIDAS OU NÃO A
PROGRAMA EM PROMOÇÃO DE SAÚDE BUCAL”.**

Tese apresentada à Faculdade de Odontologia de Piracicaba da Universidade Estadual de Campinas, para a obtenção do título de Doutora em Odontologia - área de concentração em Cariologia.

Orientador:

Prof. Dr. Antonio Carlos Pereira

Co- Orientador:

Prof. Dr. Reginaldo Bruno Gonçalves

Banca Examinadora:

Prof Dr Francisco Carlos Groppo

Profª Drª Marília Afonso Rabelo Buzalaf

Prof Dr Pedro Luiz Rosalen

Profª Drª Roberta Tarkany Basting Höfling

PIRACICABA
2003

Ficha Catalográfica

F664p	Flório, Flávia Martão. Padrão de colonização por estreptococos grupo mutans em crianças submetidas ou não a programa em promoção de saúde bucal. / Flávia Martão Flório. -- Piracicaba, SP : [s.n.], 2003. xiv, 111p. : il. Orientadores : Prof. Dr. Antonio Carlos Pereira, Prof. Dr. Reginaldo Bruno Gonçalves. Tese (Doutorado) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Odontologia de Piracicaba. 1. <i>Streptococcus mutans</i>. 2. Cáries dentárias. 3. Educação. 4. Promoção de saúde. 5. Pré-escolares. I. Pereira, Antonio Carlos. II. Gonçalves, Reginaldo Bruno. III. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Odontologia de Piracicaba. IV. Título.
-------	--

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca da Faculdade de Odontologia de Piracicaba - UNICAMP.

DEDICATÓRIA

*À Deus, por TODOS, por TUDO, por SEMPRE estar ao meu lado,
iluminando e me indicando o caminho correto...*

*Aos meus pais Cida e Rui, pelo exemplo de vida, por todo amor, incentivo,
confiança, apoio e paciência.*

*Aos meus irmãos, Neto e Ricardo, às princesas da minha vida Ana Carolina e
Maria Luíza e a todos os meus familiares pelo incentivo e confiança.*

*Ao meu amor Ricardo, por me acompanhar com tanta compreensão, paciência,
amizade, ajuda, incentivo e amor.*

Com carinho, dedico este trabalho.

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

Ao mestre e amigo, Prof. Dr. Antonio Carlos Pereira por tanta confiança e estímulo. Obrigada pelas oportunidades, pelos ensinamentos, pelo exemplo a ser seguido do ser orientador. Agradeço ainda pelo incentivo dado, pela inestimável orientação e contribuição à minha formação pessoal e profissional.

Ao Prof. Dr. Reginaldo Bruno Gonçalves, pelas oportunidades, pela confiança, respeito e incentivo sempre oferecidos.

Ao Prof. Dr. Jaime Aparecido Cury e à Profª Drª Altair Antoninha Del Bel Cury, pela oportunidade dada. A minha eterna gratidão pela confiança em meu trabalho e em minha responsabilidade profissional.

AGRADECIMENTOS

À Universidade Estadual de Campinas, na pessoa do Magnífico Reitor, **Prof. Dr. Carlos Henrique de Brito Cruz** e à Faculdade de Odontologia de Piracicaba, por meio do Diretor **Prof. Dr. Thales Rocha de Mattos Filho**.

Ao **Prof. Dr. Lourenço Correr Sobrinho**, coordenador dos cursos de Pós-Graduação da Faculdade de Odontologia de Piracicaba, Universidade Estadual de Campinas.

À **Profa. Dra. Maria Cristina Volpato**, coordenadora do curso de Pós-Graduação em Odontologia da Faculdade de Odontologia de Piracicaba, Universidade Estadual de Campinas.

Ao Centro Universitário Hermínio Ometto de Araras, na pessoa da Magnífica Reitora, **Profª Drª Maria Cristina Ferreira de Camargo** e à Faculdade de Odontologia, por meio da Coordenadora **Profª Drª Rose Mary Coser**.

À instituição de fomento **FAPESP**, pelo apoio financeiro instituído pela concessão de bolsa (99/12819-5) e Auxílio à Pesquisa (99/12819-5; 00/08350-0).

Ao **Prof. Dr. Marcelo Meneghin**, pela presença e participação constante em minha carreira acadêmica.

Ao **Prof. Dr. Francisco Carlos Groppo**, sempre pronto a ajudar, obrigada pela amizade e confiança.

A **Profª Drª Gláucia Maria Bovi Ambrosano**, por tanta amizade, paciência e ensinamentos decorrentes da minha incursão ao mundo da Bioestatística. Ainda, pelas importantes contribuições a esta tese na fase da qualificação, em conjunto com a **Profª Drª Cíntia Pereira Machado Tabchoury** e a **Profª Drª Regina Maria Puppini Rontani**.

Aos professores da área de Farmacologia **Pedro Luiz Rosalen**, **José Ranali**, **Maria Cristina Volpato**, **Eduardo Dias de Andrade** e **Thales Rocha de Mattos Filho**, pela enorme contribuição em minha formação profissional.

Ao professor **Fausto Berzin**, tutor do Programa Especial de Treinamento (PET), pelo incentivo nesta opção profissional;

Aos meus grandes e eternos amigos da Graduação **Sandra Regina, Lila, Rui Barbosa e Guto** e demais amigos da XXXVIII turma da FOP por dividirem comigo as conquistas e dificuldades durante nossa caminhada.

Às minhas grandes amigas da **Jú, Ynara, Giovana e Marlise**, pela convivência, pela ajuda incondicional e pela verdadeira amizade.

Aos amigos da Preventiva **Vanessa, Fábio M., Fábio K., Luciane, Andréa e Cristiane**, do laboratório de Micro, **Alessandra, Ana Cláudia, Daniel, Iriana, Janaína, Letícia, Magda, Marcelo N., Marcelo B., Marcelle, Priscila, Rafael, Regiane, Rita, Ruchele, Thais, Wagner** e os da FÁrmaco, **Aline, Ana Paula, Rogério, Regiane, Ramiro, Rodrigo, Simone, Roberta e Sinvaldo**, pela ajuda nunca negada e principalmente pela amizade.

À **Elisa**, secretária da Área de Farmacologia, Anestesiologia e Terapêutica Medicamentosa, pela eficiência e amizade que tornam sempre tudo mais fácil;

Aos amigos e funcionários da Área de Microbiologia e Imunologia, **Wilma e Anderson**, pela amizade, colaboração, disposição e ajuda sempre oferecida.

A todos os meus queridos **voluntários** que tornaram possível este trabalho.

Aos **Professores, Funcionários e Amigos** da FOP, sempre dispostos a auxiliar.

À todos os amigos, colegas e pessoas que direta ou indiretamente contribuíram para a realização desse trabalho.

Meu sincero agradecimento e gratidão!

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS.....	1
LISTA DE FIGURAS	3
LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E PALAVRAS EM OUTRO IDIOMA	5
RESUMO.....	7
ABSTRACT	9
1. INTRODUÇÃO.....	11
2. REVISÃO DE LITERATURA	13
2.1. Prevalência da cárie dentária durante a primeira infância	13
2.2. Preditores de risco à doença cárie.....	16
2.3. Aspectos microbiológicos da cárie dentária	20
2.4. Aquisição e colonização de estreptococos grupo mutans.....	23
2.5. Procedimentos de prevenção	30
3. PROPOSIÇÃO	39
4. METODOLOGIA.....	41
4.1. Procedimentos preliminares	41
4.2. Características da população envolvida no estudo	41
4.3. Procedimentos realizados nos grupos que compuseram a amostra	43
4.3.1. Integralização dos grupos de estudo.....	43
4.3.2. Procedimentos odontológicos.....	45
4.3.3. Procedimentos microbiológicos	48
4.3.4. Verificação da aquisição / colonização por EGM nas crianças do estudo	54
4.3.5. Forma de análise dos resultados	55
5. RESULTADOS	57
5.1. Caracterização da população de estudo	58
5.2. Aquisição de EGM nas crianças do grupo longitudinal	60
5.3. Característica do nicho de colheita na detecção da aquisição inicial	62
5.4. Estabilidade da colonização por EGM nas crianças do grupo longitudinal	63
5.5. Isolamento microbiano	65
5.6. Comparação da colonização por EGM entre os grupos de estudo	65
5.7. Achados clínicos.....	67
6. DISCUSSÃO.....	71
7. CONCLUSÃO.....	87
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	89
ANEXO 1	105
ANEXO 2	107
ANEXO 3	111

LISTA DE TABELAS

Tabela 4.1 - Número de pares em relação ao período de acompanhamento e ao sexo das crianças.	44
Tabela 4.2 – Distribuição das crianças do Grupo Transversal segundo subgrupos avaliados.	44
Tabela 4.3 - Primers utilizados para identificação <i>S. mutans</i> e de <i>S. sobrinus</i> pela técnica de PCR (Oho <i>et al.</i> , 2000):	53
Tabela 5.1 - Distribuição das mães de acordo com os aspectos pessoais analisados.	58
Tabela 5.2- Distribuição das mães de acordo com as questões relacionadas à maternidade da criança voluntária.	59
Tabela 5.3 - Distribuição das mães de acordo com as questões relacionadas aos cuidados odontológicos com a criança voluntária.	60
Tabela 5.4 - Característica da colonização por EGM após 24 meses de acompanhamento.	64
Tabela 5.5 - Distribuição das crianças dos grupos de estudo, em relação ao subgrupo etário, à presença e prevalência (ceo-d) de cárie dentária.	68

LISTA DE FIGURAS

Figura 5.1 – Relação entre a idade de verificação da erupção do primeiro dente decíduo e a idade em que foi verificada a aquisição por EGM.	61
Figura 5.2 - Relação entre o número de dentes erupcionados e a idade em que foi verificada a aquisição de EGM.	62
Figura 5.3 - Número de crianças com colheita positiva para EGM, durante a aquisição inicial, em função do sítio. Barras seguidas de letras distintas na horizontal diferem entre si pelo teste Exato de <i>Fisher</i> ($p < 0,05\%$).	63
Figura 5.4 - Comparação entre o percentual de crianças em que foi verificada a colonização por EGM em ambos os grupos de estudo.	66
Figura 5.5 - Níveis bucais de EGM das crianças dos grupos longitudinal e transversal, por subgrupo de estudo. As linhas representam o erro padrão da média.	67
Figura 5.6 – Distribuição percentual de crianças com placa bacteriana visível, por subgrupos etários, segundo os grupos de estudo.	69

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E PALAVRAS EM OUTRO IDIOMA

ATCC	American Type Culture Collection.
BHI	Brain Heart Infusion (infusão de cérebro e coração).
ceo-d	Dentes decíduos cariados, com extração indicada ou obturados.
cm	Centímetros.
CPO-D	Dentes permanentes cariados, perdidos ou obturados.
dNTP	Trifosfatos de desoxirribonucleotídeos.
EGM	Estreptococos grupo mutans.
<i>et al.</i>	E outros (abreviatura de “ <i>et alli</i> ”).
EMEIS	Escolas Municipais de Educação Infantil.
g	Gramas.
GL	Grupo longitudinal.
GT	Grupo transversal.
L	Litro.
min	Minuto.
mL	Mililitro.
mM	Milimolar.
MSB	<i>Ágar mitis salivarius</i> acrescido de bacitracina.
n	Número.
°C	Grau Celsius.
OMS	Organização Mundial da Saúde.
p	Nível de significância estatística.
pb	Pares de base.
pCO ₂	Pressão parcial de dióxido de carbono.

PCR	Sigla em inglês de Reação em Cadeia da Polimerase (<i>Polymerase Chain Reaction</i>).
pH	Potencial hidrogeniônico.
<i>Primers</i>	Oligonucleotídeo que inicia uma reação de polimerização a partir de sua hibridização com a cadeia molde à qual é complementar.
r.p.m.	Rotações por minuto.
seg	Segundo.
<i>Sm</i>	<i>Streptococcus mutans</i>
<i>Ss</i>	<i>Streptococcus sobrinus</i>
<i>Swab</i>	Dispositivo esterilizado utilizado para realização de coletas.
<i>Taq</i>	DNA polimerase isolada de <i>Termus aquaticus</i> .
U	Unidade (s).
U/L	Unidades por litro.
UFC	Unidades formadoras de colônia.
µg/mL	Microgramas por mililitro.
%	Porcentagem.
&	E.
ng	Nanogramas.
µL	Microlitros.
nm	Nanômetros.
µM	Micromolar.

RESUMO

O objetivo deste estudo foi avaliar a ação de um programa preventivo aplicado a 33 pares de mãe-filho em estudo longitudinal (GL), e verificar em um grupo transversal composto por 182 crianças (4 a 32 meses) (GT), sem interferência odontológica, o período correspondente à janela de infectividade *real* a que estariam submetidas as crianças do GL. Após colheita de saliva e adequação da cavidade bucal das mães do GL, amostras clínicas para análise microbiológica foram coletadas de sítios distintos da cavidade bucal (saliva, dorso da língua, rodete gengival e placa bacteriana, quando da presença de dentes; *pool* para GT), bimestralmente por 24 meses, das crianças do GL. As crianças do GT foram examinadas apenas em uma única ocasião. As amostras foram cultivadas sob condições de microaerofilia em meio de cultura MSB. Cepas com morfologia típica foram contadas, isoladas e posteriormente submetidas à técnica de PCR, para confirmação molecular da identidade de *S. mutans* e *S. sobrinus*. A primeira cultura positiva para EGM no GL ocorreu aos $15,3 \pm 4,6$ meses de vida, tendo sido considerada persistente em 76,9% da amostra, aos $17,3 \pm 4,8$ meses de vida. Após 24 meses, a prevalência de cárie no GL foi igual a $0,46 \pm 1,02$, caracterizada pela ausência de lesões cavitadas e por 77% das crianças livres de cárie. Conclui-se que a aquisição de EGM pelas crianças da amostra apresentou-se precoce em relação ao momento estabelecido na literatura como janela de infectividade, sendo que nenhuma das características maternas avaliadas apresentou influência na época de colonização por EGM nas crianças da amostra. A idade de erupção dos dentes e o número de dentes erupcionados mostraram-se importantes para a época de aquisição e colonização de EGM nas crianças. O padrão de colonização / higienização das crianças do GT mostrou-se semelhante ao verificado nas crianças do GL, demonstrando que a estratégia preventiva falhou em seu principal objetivo. Considerando-se a importância da precocidade da aquisição de EGM como preditor de risco para a cárie dentária, os resultados obtidos demonstram uma variação no período estabelecido como janela de infectividade sugerindo uma reconsideração nas diretrizes de alguns programas de odontologia precoce.

ABSTRACT

The aim of this study was to examine the effects of an educative health program applied to mother-child pairs in a longitudinal study (GL), and to verify in a control group (GT) composed of 182 children, without dentistry attention, the real time of mutans streptococci (MS) window of infectivity. After the mothers had their saliva collected and received complete restorative care, samples from different oral sites were collected from 33 edentulous nursery school infants (5.9 ± 1.5 month-old), using sterilized *swabs*, bi-monthly for 24 months. The samples of control group child were collected only once. The samples were cultivated under microaerophilic conditions on MSB. MS were counted and, if present, up to 30 typical morphotype colonies were isolated and identified by PCR. The first positive culture for MS occurred at 15.3 ± 4.6 months. At the end of the follow-up period, 76.9% of the children were classified as colonized. After 24 months, there were no dental caries cavities, and 77% of children remained caries free. These results indicate that MS colonization in this sample of these low-income pre-school children may begin earlier than suggested by some investigations. No one of the evaluated mother's characteristics shows influence on the MS colonization pattern. A positive correlation was found between the time of infant's MS acquisition and the number of erupted teeth, and the time of emergence of the first tooth. The pattern of colonization / oral hygiene was similar between the studied groups. Considering the importance of early MS infection as a caries predictor, these results demonstrate a variation in the window of infectivity, suggesting that the guidelines for some infant oral health programs should be reconsidered.

1. INTRODUÇÃO

A elevada prevalência da cárie dentária em pré-escolares ainda representa um significativo problema de saúde pública em muitos países do mundo (Wendt, Hallonsten, Koch & 1992; Mattos-Graner *et al.*, 1996; Radford *et al.*, 2000; Ramos-Gomez *et al.*, 2002), sendo o componente cariado o maior responsável pelo índice nesta faixa populacional (Radford *et al.*, 2000; São Paulo, 2002; Bonecker, Marcenes & Sheiham, 2002).

Como em muitas doenças infecciosas, para a sua iniciação e desenvolvimento, torna-se necessária a prévia colonização da cavidade bucal do hospedeiro por microrganismos com potencial patogênico (Tanner *et al.*, 2002). A cavidade bucal de recém nascidos é geralmente livre de microrganismos, porém imediatamente após o seu nascimento, inicia-se ao estabelecimento do ecossistema oral, representado por variedades de bactérias, fungos, protozoários e vírus, que permanecem presentes e sujeitos a um processo contínuo e dinâmico de sucessão microbiana por toda a vida do indivíduo (Carlsson *et al.*, 1970; Slavkin, 1997; Caufield *et al.*, 2000).

Apesar da vasta literatura a este respeito, a época precisa de colonização da cavidade bucal por estreptococos grupo mutans (EGM), o principal fator microbiano relacionado à iniciação da doença é ainda controverso (Wan *et al.*, 2001a), e o conhecimento da época em que estes patógenos colonizam a cavidade bucal irá certamente colaborar para o entendimento dos mecanismos de iniciação da doença e para o desenvolvimento de medidas preventivas e interceptivas em seu diagnóstico e tratamento (Seow, 1998; Tanner *et al.*, 2003).

É consagrado na literatura que os EGM apresentam um período ideal para a efetivação de sua colonização, especialmente durante um discreto intervalo de tempo, denominado janela de infectividade, que se inicia aos 19 e termina aos 31 meses de vida, com um momento médio representado pelo 26º mês de vida, época de erupção dos molares decíduos (Caufield, Cutter & Dasanayake, 1993).

Com relação ao aspecto temporal relacionado à colonização por EGM, torna-se necessário determinar se o período relacionado à janela de infectividade, uma vez determinada, poderá se alterar de acordo com as características da população estudada (Caufield, Cutter & Dasanayake, 1993; Horowitz, 1998). Em um estudo epidemiológico realizado em crianças brasileiras (Mattos-Graner *et al.*, 1998), verificou-se que a colonização foi precoce comparada ao período uma vez descrito por Caufield, Cutter & Dasanayake (1993), no entanto, devido à idade mínima das crianças para a inclusão na amostra do estudo (12 meses), a época inicial de aquisição não pode ser estabelecida.

Observando-se o panorama descrito e considerando-se que poucos estudos investigaram a efetividade de estratégias preventivas nos primeiros anos de vida de um ser humano e que a extrapolação de resultados obtidos com métodos preventivos utilizados em crianças em idade escolar é incorreta (Seow, 1998), é proposição deste trabalho avaliar a ação de um programa preventivo centrado nos preceitos de promoção de saúde, aplicado a pares de mãe-filho em estudo longitudinal, e verificar transversalmente, sem qualquer interferência odontológica, o período correspondente à janela de infectividade *real* a que estariam submetidas as crianças do grupo experimental, possibilitando a verificação da influência do programa na época de início da colonização da cavidade oral das crianças por EGM, possibilitando melhor eficácia e direcionamento dos programas preventivos.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Prevalência da cárie dentária durante a primeira infância

Dados nacionais sobre a cárie dentária tem sido escassos no Brasil. Somente a partir de 1986, pode-se obter dados de base nacional, com a participação de indivíduos de 6 a 12, 15 a 19, 35 a 44 e 50 a 69 anos de idade (MS, 1988). Após esta iniciativa, cita-se apenas mais duas experiências concluídas, em nível nacional. A primeira, o levantamento realizado pelo Serviço Social da Indústria (SESI) em 1993 em crianças de 3 a 12 anos de idade de escolas públicas e privadas (Pinto, 1996) e a segunda, conduzida pelo Ministério da Saúde em associação com algumas entidades de classe, em 1996, envolvendo crianças de 6 a 12 anos de idade (MS, 2001). Dentre os levantamentos epidemiológicos citados, nota-se uma importante diminuição na prevalência da doença cárie na população infantil de 6 a 12 anos de idade, entre 1986 e 1996, sem que este benefício possa ter sido observado para as demais faixas etárias índices (Oliveira, 1998).

A inclusão de crianças menores do que 3 anos em levantamentos de base nacional, está sendo pela primeira vez realizada no Brasil, através da execução do Projeto Saúde Bucal 2000, cujo objetivo é o levantamento de informações sobre as condições de saúde bucal em escolares de 5 e 12 anos de idade de escolas públicas e privadas do país e, através de levantamento domiciliar, de indivíduos das faixas etárias de 18 a 36 meses, 15 a 19 anos, 35 a 44 anos e 65 a 74 anos (Brasil, 1999). A amostra foi calculada para ser representativa em nível macro-regional, facultando a cada Estado a possibilidade de ampliação da amostra local para que se obtenha representatividade em nível estadual.

Este fato possibilitou o conhecimento das Condições de Saúde Bucal no Estado de São Paulo em 2002, dentre as quais, observou-se que 77% dos 1241 bebês examinados

estão livres de cárie e que a prevalência de cárie observada foi igual 0,76; com os dentes cariados representando 91% da composição do índice ceo-d (São Paulo, 2002).

Em nível municipal, foram diversas as iniciativas demonstrando uma significativa melhora nas condições de saúde bucal de escolares brasileiros (Weyne, 1997; Narvai, Castellanos & Frazão, 2000; Roncalli, 2000; Silva e Maltz, 2001; Traeberta *et al.*, 2001, Kozlowski, 2001), com conseqüente necessidade de modificação das prioridades de atenção das ações de saúde odontológica (Cypriano *et al.*, 2003), através da focalização tanto de faixas etárias distintas quanto de demais problemas de saúde das comunidades.

Segundo Tomita *et al.* (1996), as condições de saúde bucal dos pré-escolares não têm sido documentadas na mesma extensão que as dos escolares, uma vez que a dentição decídua, com freqüência, acaba não sendo considerada tão importante quanto a permanente no planejamento de ações. Em muitos países, o ingresso na escola dá-se após os 6 anos de idade, o que explica serem os levantamentos epidemiológicos em crianças em idade escolar mais freqüentemente realizados, pois estas são de mais fácil localização e identificação (Holm, 1990).

A importância do conhecimento sobre a experiência de cárie na dentição decídua deve-se ao fato desta ser considerada o mais forte preditor de cárie na dentição permanente (Gavazzi *et al.*, 1995). Por outro lado, sugere-se que este preditor tenha valor reduzido na identificação de risco à doença em crianças menores de 3 anos de vida, devido à baixa prevalência de lesões nesta fase inicial (O'Sullivan & Thibodeau, 1996). Bönecker, Marcenes & Sheiham (2002) relatam a escassa publicação de estudos buscando-se verificar o padrão da doença em dentes decíduos, particularmente em crianças pré-escolares abaixo de 3 anos de idade. Além disso, segundo os autores, a maioria destes estudos foi delineada

com o objetivo de se testar uma hipótese em lugar de se informar o estado de saúde bucal, com as amostras não sendo calculadas com o intuito de serem representativas da população de crianças nesta faixa etária.

Mattos-Graner *et al.* (1996) avaliaram a prevalência de cárie dentária em 322 crianças matriculadas em creches de Piracicaba (SP - Brasil), com idades variando de 6 a 36 meses de vida. Observaram que as menores faixas etárias em que se verificou a presença de lesões de cárie iniciais foi a de 6 a 12 meses de vida e de lesões cavitadas foi de 13 a 18 meses de vida. A percentagem de crianças classificadas como livres de cárie foi igual a 65%, sendo que 17% apresentaram 46% do total de lesões, caracterizando assim, o fenômeno da polarização da cárie dentária e a necessidade da identificação precoce de crianças com maior risco para o desenvolvimento da doença.

Bönecker, Marcenes & Sheiham (2002) com o objetivo de verificar as alterações na prevalência e severidade da cárie dentária em pré-escolares do município de Diadema (SP- Brasil), utilizaram os resultados obtidos através da realização de levantamentos epidemiológicos em 1995, 1997 e 1999. O primeiro incluiu 548 crianças de 5 a 35 meses, e os segundo e terceiro, respectivamente incluíram 992 e 690 crianças de 5-59 meses, todas selecionadas durante o Dia Nacional de Vacinação. Verificou-se uma marcante redução na prevalência e severidade de lesões rampantes e coronárias entre 1995 e 1999. As reduções observadas foram de 36,5% nas crianças de 2 anos de idade entre 1995 e 1997 e de 36% entre 1997 e 1999. O índice médio para esta idade foi igual a 2,0 em 1995; 1,1 em 1997 e 1,0 em 1999. Concluiu-se que a saúde bucal de pré-escolares melhorou durante o período avaliado, no entanto foi verificado um aumento na percentagem de crianças com cáries e na

severidade das lesões diagnosticadas entre os anos avaliados, exceto para as crianças de 2 anos no período de 1995 a 1997.

Com o objetivo de verificar a prevalência de cárie, doença gengival e fluorose dentária, além de dimensionar as necessidades de tratamento de pré-escolares, Cypriano *et al.* (2003) examinaram 2.805 crianças de 5 e 6 anos, matriculadas em pré-escolas municipais de Piracicaba (SP – Brasil). Verificaram que 44,3% e 38,5% das crianças de 5 e 6 anos de idade, respectivamente, enquadraram-se no critério livres de cárie. O índice de cárie para a dentição decídua (ceo-d) foi 2,64 aos cinco anos e 3,07 aos seis anos, sendo que 31,9% e 37,9%, respectivamente, apresentaram ceo-d maior que 3.

2.2. Preditores de risco à doença cárie

Desde a década de 70, vêm sendo relatadas alterações nos processos de iniciação e desenvolvimento da doença cárie, que levaram à diminuição na velocidade de sua progressão e aos menores índices de incidência e prevalência relatados. Estas alterações são principalmente atribuídas à universalização da utilização de fluoretos, especialmente através do uso regular de dentifrícios e consumo de água fluoretada, além da reforma dos serviços de saúde, que acompanharam a implantação do Sistema Único de Saúde (Nadanovsky & Sheiham, 1995; Weyne, 1997; Nadanovsky, 2000).

A lenta progressão da doença, caracterizada por destruições localizadas dos tecidos dentários envolvendo desde perdas minerais em nível ultra-estrutural até a destruição total do dente (Thylstrup & Fejerskov, 1995), causou como consequência alterações no diagnóstico, que passou da simples enumeração de cavidades, para um diagnóstico mais abrangente e específico, onde a determinação do risco e atividade de cárie

individual é realizada, através da análise dos fatores etiológicos, determinantes e modificadores da doença (Maltz & Carvalho, 1997).

Durante a primeira infância, a realização deste amplo diagnóstico torna-se relativamente difícil, visto que é comum a procura por um profissional da área somente quando a doença já apresenta clinicamente sinais e sintomas (Martins *et al.*, 1998, Horowitz, 1998).

Além da procura tardia por tratamento e principalmente por educação em saúde, os mais indicados métodos para a determinação do risco para a iniciação/desenvolvimento da doença durante a primeira infância, vêm sendo uma preocupação de muitos pesquisadores que visam detectar os indivíduos sob risco, tratando-os de maneira individualizada e buscando a prevenção em seu sentido mais amplo como proposto por Leavell & Clark (1958) há várias décadas.

Esta detecção precoce possibilitaria a instituição racional de métodos preventivos/não invasivos (Flório *et al.*, 2001), que através de uma melhor relação custo benefício, poderiam reduzir a quantidade de recursos financeiros dedicados ao conseqüente tratamento curativo-restaurador (Radford *et al.*, 2000), além de principalmente proporcionar à criança o direito de crescer com saúde bucal.

Apesar da diminuição da prevalência média de cáries em pré-escolares observada nos últimos anos em muitas localidades, o número de crianças em seus primeiros anos de vida com quadros severos de cárie dentária está aumentando (Wendt, Hallonsten, Koch & 1992; Bönecker, Marcenes & Sheiham, 2002), como também a incidência de lesões em um restrito grupo de crianças (Mattos-Graner *et al.*, 1996), resultando no fenômeno da polarização da cárie dentária. Este fenômeno justifica a necessidade da precoce

identificação de crianças sob elevado risco, antes mesmo da erupção dos dentes ou do aparecimento dos estágios iniciais da doença.

Os dentes são altamente susceptíveis à incidência de cárie dentária nos primeiros anos após a erupção, em razão da insuficiente maturação do esmalte dentário, representada pela maior concentração de minerais altamente solúveis (Köhler, Andrén & Johsson, 1988; Sonju Clasen & Ruyter, 1997). Além disso, relata-se que a prevalência de cárie aumenta progressivamente de acordo com a idade da criança, devido à procura tardia por atendimento odontológico, à crescente infecção por microrganismos potencialmente patogênicos, ao aumento do número de superfícies expostas ao risco concomitante com a erupção dentária, à mudança nos hábitos dietéticos e a ausência do hábito precoce de higienização bucal (Berkowitz, Jordan & White, 1975; Walter *et al.*, 1987; Köhler, Andrén & Johsson, 1988; Alaluusua & Malmivirta, 1994; Mattos-Graner *et al.*, 1998). A magnitude destas justificativas, em última instância, determinará o risco de iniciação/desenvolvimento da doença cárie a que o indivíduo está exposto.

Segundo Hausen *et al.* (1995), história passada de cárie, hábitos alimentares e de higienização, fatores sócio-culturais, testes microbiológicos e a avaliação subjetiva e pormenorizada de um profissional experiente podem ser considerados preditores de risco para o desenvolvimento da doença. No entanto, devido às características de crianças nesta faixa etária, alguns destes preditores são inaplicáveis, seja pela momentânea ausência de experiência anterior de cárie (O'Sullivan & Thibodeau, 1996; Alaluusua & Malmivirta, 1996) seja pelas conseqüências do mito de que criança pequena não necessita de avaliação odontológica.

Através de investigações clínicas, alguns autores concluíram que variáveis sociais, a qualidade da higiene bucal verificada através da presença de placa dentária estagnada na face vestibular dos dentes incisivos superiores decíduos, o uso de mamadeira noturna, o tempo da amamentação materna da criança e a frequência de ingestão de alimentos adocicados são fatores de extrema importância para a determinação do risco de desenvolvimento de cárie durante a primeira infância (Alaluusua & Malmivirta, 1994; Tomita *et al.*, 1996; Freire, de Melo & Almeida e Silva, 1996; Mattos-Graner *et al.*, 1998; Barros *et al.*, 2001; Dini, Holt & Bedi, 2000; Santos & Soviero, 2002; Rosenblatt & Zarzar, 2002), constituindo parâmetros que devem ser levados em consideração no tratamento preventivo educacional do par mãe-filho.

Embora com algumas dificuldades operacionais para realização em larga escala fora do ambiente acadêmico, a detecção da presença e do nível bucal de EGM na saliva de pré-escolares apresenta importante valor como preditor de risco à doença nesta faixa etária (Alaluusua & Renkonen, 1983; Köhler, Andreén & Johnsson, 1988; Grindefjord *et al.*, 1996; Baehni & Guggenheim, 1996; Mattos-Graner *et al.*, 1998, Li, Wang & Caufield, 2000). Neste sentido, não se pode desconsiderar que devido à característica multifatorial da cárie, a simples colonização por estes microrganismos não justifica o desenvolvimento da doença (Burt *et al.*, 1983; Li, Wang & Caufield, 2000), havendo crianças livres de cárie com altos níveis destes microrganismos na saliva (Carlsson, Olsson & Bratthall, 1985; Mattos-Graner *et al.*, 2000; 2001c). No entanto, devido à importância deste preditor de cárie nesta faixa etária, este achado não deve ser subestimado (Köhler, Andreén & Johnsson, 1988; Baehni & Guggenheim, 1996, O'Sullivan & Thibodeau, 1996), sendo discutido nos próximos itens.

2.3. Aspectos microbiológicos da cárie dentária

A revolução nos conceitos relacionados a etiopatogenia da doença infecciosa cárie dentária iniciada na década de 60, norteou, ao nível atual, as investigações científicas na área da Cariologia, no qual, segundo Caufield (1997), as complexidades da doença estão apenas começando a ser desvendadas.

Implícita nos conceitos de Keyes e nos subseqüentes experimentos estava a noção de que o microrganismo responsável pelo início do processo carioso era transmitido vertical e diretamente entre as gerações, de indivíduos infectados para aqueles não infectados (Tanzer, 1995; Caufield 1997).

Com relação ao microrganismo responsável pela infecção cariiosa, a complexidade da microbiota presente no biofilme dificulta a determinação de um agente bacteriano único em sua etiologia (Gonçalves & Flório, 2003). No entanto, há evidências consideráveis de que microrganismos Gram positivos acidogênicos, acidúricos e com capacidade de aderência às superfícies dentárias, pertencentes a um grupo heterogêneo denominado estreptococos grupo mutans, são especialmente envolvidos na dinâmica do processo carioso (Loesche, 1986).

O grupo mutans de estreptococos orais é constituído por sete espécies: *Streptococcus cricetus*, *S. downei*, *S. ferus*, *S. macacae*, *S. mutans*, *S. rattus* e *S. sobrinus* (Whiley & Beighton, 1998), classificadas com base em diferenças nas características genéticas, antigênicas e bioquímicas. Dentre as espécies desse grupo, *S. mutans* e *S. sobrinus* são isolados com maior frequência da placa dental e estão fortemente associados à cárie dentária humana (Seow, 1998), além de fazerem parte da ecologia microbiana bucal da grande maioria dos seres humanos (Li, Wang & Caufield, 2000).

Estudos epidemiológicos têm relatado a prevalência de *S. mutans* (Sm) e *S. sobrinus* (Ss) na cavidade bucal humana, sendo que a frequência de isolamento de Sm na placa dental é maior do que a de Ss (van Palenstein Helderman, Ijsseldijk & Huis In't Veld 1983; Loesche, 1986; Stipp *et al.*, 2001). Entretanto, em um número seleto de indivíduos, foi reportada uma elevada frequência de Ss (Lindquist, 1991). Ainda, poucos estudos relataram ter isolado Ss como única espécie de EGM (Köhler, Andreén & Johnsson, 1988), sendo que indivíduos que albergam ambos Sm e Ss tendem a apresentar contagens maiores de EGM na saliva e maior prevalência de cárie dentária do que indivíduos que albergam apenas Sm (Köhler, Andreén & Johnsson, 1988).

A virulência dessas espécies está diretamente relacionada à sua característica acidogênica e acidúrica, além da capacidade de metabolização da sacarose em polissacarídeos intra e extracelulares e da produção de mutacinas; características estas, relacionadas à formação e manutenção da placa com potencial cariogênico na superfície dentária (Mattos-Graner *et al.*, 2000; Nobre dos Santos *et al.*, 2002).

Embora se acredite que a atividade de cárie na dentição decídua seja diretamente dependente do aumento nos níveis de EGM e do seu estabelecimento precoce na cavidade bucal (Alalluusua & Renkonen, 1983; Köhler, Andreén & Johnsson, 1984, 1988; Fujiwara *et al.*, 1991; Li, Wang & Caufield, 2000), em um grupo minoritário de crianças colonizadas por estes estreptococos, uma redução subsequente dos níveis bucais destes microrganismos parece estar relacionada ao não desenvolvimento da doença (Mattos-Graner *et al.*, 2001c). Além disso, EGM podem ser detectados em altos níveis até mesmo em crianças livres de cárie (Carlsson, Olsson & Bratthall, 1985; Mattos-Graner *et al.*, 2001c).

Devido à característica multifatorial da doença cárie, para que ocorra sua iniciação e desenvolvimento, é necessário que haja uma inter-relação entre tempo e fatores comportamentais, culturais, sociais e biológicos inerentes ao hospedeiro. Desta maneira, a coexistência harmônica com o hospedeiro é perturbada no momento em que alterações ambientais influenciam o equilíbrio do ecossistema bucal fazendo com que microrganismos com melhor capacidade adaptativa passem a agir como patógenos, predispondo o hospedeiro a doença (Marsh, 1991).

Para tanto, é necessário o metabolismo de carboidratos fermentáveis, dos quais o mais utilizado é a sacarose. A sacarose serve como substrato para diversas enzimas extracelulares que sintetizam polímeros importantes na colonização e na patogênese da cárie. Alguns destes polímeros promovem a aderência e o acúmulo bacteriano na superfície dentária. Outros fornecem uma fonte de carboidratos para a continuação do metabolismo durante períodos de escassez de nutrientes. A importância dos polissacarídeos extracelulares de *S. mutans* na cariogenicidade é suportada por pesquisas que mostram redução na virulência em mutantes incapazes de sintetizá-los (Schroeder *et al.*, 1989; Munro *et al.*, 1991; Yamashita *et al.*, 1993), e em estudo que comprova que o aumento da capacidade de aderência e estagnação da placa, propiciado pela capacidade de sua síntese, é um importante fator de virulência em crianças precocemente colonizadas (Mattos-Graner *et al.*, 2000).

Além dos polímeros citados, como resultado de seu metabolismo, têm-se a produção de ácidos, que na interface placa/esmalte-dentina poderão levar a desmineralização local do tecido dentário (de Stoppelaar *et al.*, 1970, Asikainen e Alaluusua, 1993), sendo a velocidade com que se atinge tal nível, dimensão de tal queda e

tempo necessário para retomada dos níveis de pH satisfatórios dependentes do tipo de açúcar, sua concentração e principalmente da frequência de sua ingestão.

A cárie é, portanto, uma doença infecciosa e transmissível (Keyes, 1960; Caufield, 1997) de origem multifatorial, caracterizada pela desmineralização dos tecidos que compõem a estrutura dentária, em decorrência de um desequilíbrio da microbiota residente da cavidade bucal pela presença freqüente de carboidratos fermentáveis (Marsh, 1991; Nyvad, 1993; Bowden & Edwardsson, 1995). Fenômeno este potencializado em um hospedeiro susceptível, cujos fatores que contribuam para a desorganização (Buischi & Axelsson, 1997) ou a “neutralização” (Seow, 1998) da placa dentária cariogênica acumulada sobre a superfície dentária não estejam sendo eficientes.

2.4. Aquisição e colonização de estreptococos grupo mutans

Com relação à colonização da cavidade bucal do ser humano, esta se inicia durante o nascimento e a sucessão de bactérias continua por toda a vida (Bowden & Edwardsson, 1995). Crianças com o ecossistema bucal em desenvolvimento são particularmente susceptíveis à colonização bacteriana. A aderência de microrganismos às diferentes superfícies, que ocorre de um modo seletivo, é o evento inicial na colonização bacteriana (Gibbons, 1984). O número de células bacterianas viáveis e sua habilidade de aderência são pré-requisitos fundamentais para o sucesso da colonização microbiana (Gibbons & van Houte, 1971; Gibbons & van Houte, 1975).

Na cavidade bucal, somente as superfícies mucosas (palato, rodete gengival, dorso de língua, mucosa jugal) estão susceptíveis à colonização durante os primeiros meses de vida. Após o irrompimento dos dentes, ocorre um aumento significativo do número de sítios disponíveis para a aderência (sulco gengival ou bolsa e superfícies duras dos dentes,

materiais restauradores ou elementos protéticos). As bactérias não se aderem somente às superfícies bucais, mas também a outras bactérias, formando comunidades multigenéricas onde o padrão de relação específica influencia sua composição e estabelecimento (Kolenbrander & Andersen, 1986). As bactérias encontradas na saliva constituem células bacterianas desalojadas provenientes dessas superfícies (Denepitya & Kleinberg, 1982).

Interações entre diferentes espécies bacterianas, que podem inibir ou estimular o crescimento de outras bactérias, também exercem uma influência significativa na composição e estabilidade da microbiota bucal (Loesche, 1986; Grenier & Maynard, 1986). A presença ou ausência de espécies antagonistas e os patógenos invasores pode determinar a característica de saúde ou doença (Hillman, Socransky & Shives, 1985; Socransky *et al.*, 1988).

Embora a maioria dos estudos sugira que estes microrganismos necessitam de uma superfície dura e não descamante para que possam obter sucesso em sua colonização (Berkowitz, Jordan & White, 1975; Caufield, Cutter & Dasanayake, 1993; Bowden & Edwardsson, 1995; Berkowitz, 1996; Horowitz, 1998), o que é conseguido com a erupção dos primeiros dentes decíduos, ao redor dos 8 meses de vida (± 2 meses) (Kreiborg, Rasmussen, Thesleff, 1991); existem relatos da presença destes microrganismos em amostras de saliva coletadas de crianças edêntulas (Edwardsson & Mejare, 1978; Milgrom *et al.*, 2000; Wan *et al.*, 2001a,b; Tanner *et al.*, 2002; Ramos-Gomez *et al.*, 2002). Um maior número de dentes irrompidos parece aumentar a frequência de isolamento de EGM (Berkowitz, Jordan & White, 1975; Catalonato, Shklair & Keene, 1975; Köhler, Andreén & Johnsson, 1988; Fujiwara *et al.*, 1991; Caufield, Cutter & Dasanayake, 1993; Karn, O'Sullivan & Tinanoff, 1998).

Sugere-se que o sucesso na colonização da cavidade bucal da criança apresenta grande dependência da precoce erupção dos dentes decíduos (Li & Caufield, 1995), da magnitude e frequência de inoculação direta ou indireta (Krasse *et al.*, 1967; Aaltonen & Tenovu, 1994; Korestein, Echeverri & Keene, 1995), dos níveis salivares maternos (Köhler & Bratthall, 1978; Berkowitz, Turner & Green, 1980; Berkowitz, Turner & Green, 1981; Köhler & Andréen, 1994; Berkowitz, 1996; Wan *et al.*, 2001b), do desenvolvimento imunológico da criança (Smith *et al.*, 1998), da presença de hipoplasias de esmalte (Li, Navia & Caufield, 1994; Milgrom *et al.*, 2000) e de nódulos de Bohn (Wan *et al.*, 2001a), além do padrão de consumo de sacarose pela criança (Köhler & Bratthall, 1978, Van Houte, Gibbs & Butera, 1982). Estes fatores podem influenciar o tempo e a intensidade da colonização observada em diferentes populações (Caufield, Cutter & Dasanayake, 1993; Fujiwara *et al.*, 1991; Grindejord *et al.*, 1991; Mattos-Graner *et al.*, 1998; Smith *et al.*, 1998).

A época em que ocorre a infecção por EGM é importante para prevenção da doença cárie, porém, diferenças nas populações estudadas e na sensibilidade das análises microbiológicas utilizadas podem contribuir para taxas de detecção diversas dessas espécies (Mohan *et al.*, 1998; Milgrom *et al.*, 2000).

Caufield, Cutter & Dasanayake (1993) observaram, através do método de cultura, que a aquisição inicial de EGM por 82,6% das crianças da amostra de seu estudo (38/46), residente em uma área urbana, ocorreu em um período delimitado denominado “janela de infectividade” entre os 19º e 31º meses de vida (26º de vida em média). Este período apresentou coincidência com a erupção dos molares decíduos, cujas superfícies oclusais retentivas favorecem a colonização por estes microrganismos. Este fato já tinha sido

observado em estudos com modelos animais (Ooshima, 1988), tendo sido demonstrada uma relação entre a emergência dos dentes posteriores decíduos e a suscetibilidade da colonização.

Entretanto, contrariando estes achados Edwardsson & Mejäre (1978); Milgrom *et al.* (2000); Wan *et al.* (2001a,b), Tanner *et al.* (2002), reportaram a presença de *S. mutans* em crianças mais jovens do que as idades relacionadas ao período descrito. Além disso, se existem relatos da ocorrência de lesões de cárie em crianças de 12 meses de vida, é plausível que EGM sejam adquiridos muito antes do que se relata (Mohan *et al.*, 1998; Mattos-Graner *et al.*, 1998; Wan *et al.*, 2001a).

Edwardsson & Mejäre (1978) avaliaram grupos de crianças divididos em razão da ausência (n=21) ou do número de dentes erupcionados presentes (2 a 8 dentes, n = 16 e 20 dentes, n = 16), buscando relacionar a presença de *Streptococcus milleri* com a de outros estreptococos. A presença de EGM foi verificada em 3 das crianças edêntulas, no entanto em baixas concentrações, sugerindo que o ambiente edêntulo possa não ser adequado para a sua efetiva retenção e crescimento, podendo ser considerada um achado transitório, já que a colheita de confirmação realizada de 1 a 4 semanas após a inicial não pode ser realizada na grande maioria das crianças.

Masuda *et al.* (1979) buscaram estudar o estabelecimento de Sm na cavidade bucal de 22 bebês com idades variando de 5 a 13 meses de vida. Colheita de placa bacteriana e exames clínicos foram realizados por um período de 30 meses. Embora não se tenha encontrado relação entre a iniciação da doença e a prévia detecção do microrganismo, verificou-se que Sm estava presente nas 12 crianças com cárie. A iniciação da doença foi

verificada em algumas situações em que os Sm representavam até 1% do total de estreptococos bucais.

Uma avaliação da prevalência de EGM em 142 crianças brasileiras com 12 a 31 meses de idade e residentes em Piracicaba (SP), mostrou que 70,8% das crianças já estavam infectadas antes dos 19 meses de idade, havendo uma correlação significativa entre a prevalência de cárie e elevadas contagens de EGM na cavidade bucal (Mattos-Graner *et al.*, 1998).

Mohan *et al.* (1998) avaliaram, através da técnica de cultura, a relação entre colonização por EGM em 122 crianças de 6 a 24 meses de vida, com fatores que podem influenciar o padrão de aquisição, tais como idade, número de dentes, frequência e conteúdo de amamentação artificial. Verificaram que aproximadamente 20% das crianças com menos de 14 meses de vida, incluindo 4 crianças das 22 com 6 a 9 meses de vida estavam colonizadas por estes microrganismos.

Karn, O'Sullivan & Tinanoff (1998) exploraram a relação entre a idade e a colonização por EGM em 149 crianças de 8 a 15 meses de vida. Verificaram a presença da espécie do microrganismo em crianças com 10 meses de vida. Encontrou-se 25% de bebês menores de 12 meses de vida colonizados (n=80). Para crianças com mais de um ano este valor foi de 60%.

Milgrom *et al.* (2000) avaliaram 199 crianças com idades variando de 6 a 36 meses de vida, buscando relacionar a prevalência de cárie com a presença de hipoplasias, hábitos de higiene e dieta e infecção por EGM através de técnicas moleculares. A prevalência de cárie na população estudada mostrou-se elevada (46,8% e 39,1% de crianças

com MB e cavidades respectivamente), tendo sido verificada a presença de Sm em 25% das amostras coletadas do dorso da língua dos bebês edêntulos e de Ss em 60%.

Wan *et al.* (2001a), utilizando o método de cultura, detectaram a presença de Sm em edêntulos, tendo sido verificada uma prevalência de colonização de 30% das 188 crianças avaliadas, inicialmente com 3 meses de vida. Buscou-se uma relação entre a colonização por Sm e a presença de Nódulos de Bohn. A colheita de confirmação realizada 3 meses após a avaliação inicial, demonstrou que apenas as crianças que possuíam o nódulo na cavidade bucal apresentaram resultado positivo nesta avaliação, o que poderia estar relacionado à menor taxa de descamação do tecido mucoso e conseqüente melhoria da capacidade de aderência do microrganismo. Através da mesma metodologia, Wan *et al.* (2001b) correlacionaram a presença de Sm com a prematuridade ou não de nascimento da criança. Verificaram que 50% das 60 crianças prematuras e 60% das 112 crianças com tempo normal de gestação, examinadas durante a $26,7 \pm 3,8$ semana de vida, apresentavam-se colonizadas, mesmo na colheita de confirmação 3 meses após a primeira, estando a infecção diretamente relacionada às características maternas tais como pobre higienização, elevada prevalência de doença periodontal e consumo de açúcar, além da amamentação natural da criança, especialmente quando utilizada em livre demanda.

Tedjosongko & Kozai (2002), buscando determinar a idade de colonização inicial por EGM e a possibilidade de transmissão vertical entre crianças de mesma creche, com intervalos mensais por um período de 30 meses, coletaram amostras de 39 crianças, com idades variando de 0 a 5 anos, inicialmente não colonizadas. Amostras de alguns dos pais e funcionárias da creche foram também obtidas. Verificou-se que a probabilidade da criança ser colonizada por EGM aumenta significativamente entre os 12 e 25 meses de

vida, após a erupção dos dentes posteriores. A transmissão entre crianças e/ou fontes não identificadas foi verificada em 58,4% dos casos estudados, enquanto que entre mãe/filho e entre pai/filho, estes valores foram de 33,3% e 8,3%, respectivamente. Não se encontrou similaridade entre cepas isoladas de crianças e atendentes das creches.

Já, o estudo de Tanner *et al.* (2002), utilizando técnicas moleculares, detectou a presença de Sm e Ss em respectivamente, 70% e 72% das 57 crianças menores de 18 meses, sendo que de 14 crianças edêntulas, 6 e 9 crianças apresentaram crescimento positivo de Sm e Ss, respectivamente. Ramos-Gomez *et al.* (2002), através da técnica de cultura verificaram a presença de EGM em quase 2/3 das 146 crianças de 3 a 55 meses de vida avaliadas, tendo sido verificada sua presença em crianças com menos de 3 meses de vida.

Dando continuidade a sua linha de pesquisa, Wan *et al.* (2003) buscaram, através de acompanhamento longitudinal, monitorar a colonização por Sm nas crianças de seu estudo anterior (Wan *et al.*, 2001a) após a erupção dentária. Observaram que a prevalência de colonização aumentou com a idade, de modo que aos 24 meses de vida, 84% das crianças albergava Sm em sua cavidade bucal. A idade média de aquisição do microrganismo na população estudada foi de 15,7 meses de vida, apresentando relação com, dentre outros, a utilização noturna de bebidas adoçadas, frequência de exposição à sacarose e a contagem microbiana materna. Em contraste, a não colonização mostrou-se relacionada com a frequência de escovação e excessiva utilização de antibióticos.

Estes estudos comprovam que a época de contaminação por EGM pode variar de acordo com características epidemiológicas, sociais e culturais da população estudada (Alaluusua, 1991; Horowitz, 1998).

2.5. Procedimentos de prevenção

De acordo com Buischi & Axelsson (1997), o encorajamento do autocuidado através da educação em saúde, é particularmente favorável no manuseio de doenças crônicas dependentes do estilo de vida, como é o caso da cárie dentária, especialmente em populações onde o envolvimento do setor público em tratamento é baixo.

A Academia Americana de Odontologia Pediátrica – AAOP (1998) sugere que a primeira consulta odontológica da criança deve ser realizada por volta dos seis meses de vida, para que possam ser realizados procedimentos de educação dos pais objetivando a prevenção da instalação das doenças bucais.

Especificamente com relação à primeira infância, este é o período que pode ser considerado o mais importante para o futuro da saúde bucal do indivíduo, já que neste momento, as noções e hábitos de cuidados com a saúde bucal devem começar a se formar (Alaluusua & Malmivirta, 1994). E neste contexto, a mãe é a principal responsável pela transferência das práticas de higiene bucal para seus filhos, além de terem fundamental influência nos hábitos e em suas escolhas alimentares (Ismail, 1998).

A noção de que a mãe é a fonte principal da transmissão de microrganismos orais para os seus filhos foi inicialmente sugerida por Keyes (1960) através da utilização de modelos animais, onde verificou-se que o microrganismo responsável pelo início do processo carioso era transmitido vertical e diretamente entre as gerações, de indivíduos infectados para aqueles não infectados (Tanzer, 1995; Caufield, 1997). Desde então, estudos vêm sendo realizados buscando embasar esta afirmação.

Estudos de tipagem fenotípica e/ou genotípica têm mostrado que as cepas de Sm e Ss transmitidas às crianças podem ser provenientes principalmente da mãe, ou de outros

indivíduos que mantenham contato com a criança durante as atividades e hábitos diários, ou mesmo provir do ambiente em que a criança vive (Li & Caufield, 1995; van Loveren, Buijs & Ten Cate, 2000; Redmo Emanuelsson & Thorqvist, 2000; Mattos-Graner *et al.*, 2001b; Klein *et al.*, 2002). Várias espécies bacterianas que são transmitidas colonizam a cavidade bucal transitoriamente, entretanto, se encontrarem uma superfície favorável para sua aderência podem ter a sua colonização efetivada (Socransky & Manganiello, 1971).

Os estudos para o conhecimento das vias de infecção por estreptococos cariogênicos sugeriram que a via mais provável de transmissão dessas bactérias ocorria nos pares mãe-filho (Köhler & Bratthal, 1978; van Houte, Yanover & Brecher, 1981; Köhler, Bratthall & Krasse, 1983; Zickert *et al.*, 1983; Köhler, Andréen & Jonsson, 1984; Brown, Junner & Liew, 1985; Alaluusua, Myllarniemi & Kallio, 1989; Matee *et al.*, 1992; Aaltonen & Tenovu, 1994). O estudo de Thorild, Lindau-Jonson & Twetman (2002) procurou estabelecer a prevalência e a possível relação da colonização bucal por Sm em pares mãe-filho (crianças com 18 meses e 3 anos de idade), sustentando através de seus resultados o conceito de transmissão vertical, enfatizando a importância dos componentes dietéticos e justificando medidas preventivas primárias de ação direta nas mães com altos níveis de colonização.

Corroborando com estes achados, Klein *et al.* (2003) verificaram através do acompanhamento por 20 meses de 16 pares mãe-filho, cujas crianças tinham inicialmente 6±2 meses de vida, que as mães foram as principais fontes de infecção por EGM de seus filhos, havendo uma taxa de ocorrência de transmissão vertical de *S. mutans* e de *S. sobrinus* em 81,3% e 83,3%, respectivamente entre os pares. Além disso, não se verificou a

ocorrência de transmissão horizontal entre as crianças que compartilhavam o mesmo ambiente (EMElS de Piracicaba) (Emídio *et al.*, 2003).

O conhecimento relacionado à etiologia da doença transmissível cárie dentária e o papel da mãe nesta transmissão possibilitou a compreensão de que a redução nos níveis de microrganismos orais maternos, durante o período de erupção dos dentes decíduos, apresenta uma grande influência na colonização da microbiota oral da criança e em sua futura experiência de cárie (Köhler, Andréen & Jonsson, 1984; Köhler & Andréen, 1994; Dasanayake *et al.*, 1993; Soderling *et al.*, 2000; Isokangas *et al.*, 2000; Dasanayake *et al.*, 2002).

Através da utilização racional de gel contendo digluconato de clorexidina 1,0%, por 2 semanas com aplicações diárias de 5 minutos, em apenas 17% das mães em que não se conseguiu atingir o número estabelecido de EGM salivar (3×10^5 UFC/mL), Köhler *et al.* (1982) utilizaram procedimentos preventivos básicos de promoção de saúde bucal focados em mães mutans milionárias, incluindo a adequação do meio bucal com conseqüente eliminação dos nichos de estagnação de placa e verificaram que foi possível manter a microbiota sob controle em mais de metade da amostra (n=87).

Seguindo o mesmo raciocínio, Köhler, Andréen & Jonsson (1984) realizaram este procedimento em um grupo de 37 mães buscando verificar o seu efeito na presença de microrganismos na cavidade bucal das crianças, comparando-se os resultados com um grupo controle de 40 pares, sem tratamento. Foram realizadas, a partir dos 15 meses de vida da criança, colheitas de amostras salivares para análise microbiológica em intervalos de 4 meses até os 3 anos de idade, idade em que o programa foi descontinuado. No final do período de acompanhamento, 70% das crianças do grupo controle e 41% das do grupo

tratado apresentaram Sm nas amostras coletadas, havendo relação entre a época de aquisição verificada e a experiência de cárie aos 3 anos. Resultados de acompanhamento destas crianças quando completaram 7 anos de idade demonstraram que o procedimento adotado durante a fase de erupção dos dentes decíduos foi eficaz em prevenir ou atrasar a colonização por Sm, influenciando no desenvolvimento de cárie nestas crianças (Köhler & Andréen, 1994).

Dasanayake *et al.* (1993), após a aplicação de curta duração (5 minutos diários por 2 semanas) de fluoreto de sódio iodado 1% à dentição das mães na época em que geralmente ocorre a erupção do primeiro dente da criança, observaram uma significativa redução na contagem microbiana na saliva materna, no entanto, não foi verificada nenhuma influência na época de contaminação por EGM e na experiência de cárie nas crianças, com relação ao grupo controle sem tratamento antimicrobiano. Concluíram que o tratamento experimental realizado nas mães foi de curta duração e muito precoce, uma vez que seus efeitos distanciaram-se muito do período referente à janela de infectividade relacionada à amostra do estudo. Sugerem, portanto que uma intervenção para a redução da transmissibilidade de potenciais patógenos entre pares mãe e filho, pode ser mais efetiva se o tratamento antimicrobiano nas mães for realizado próximo à época em que as crianças são efetivamente colonizadas (janela de infectividade).

Avaliou-se também a utilização do Xilitol na influência da época de colonização por EGM entre pares mãe-filho, uma vez que sua utilização parece prejudicar os mecanismos de adesão dos EGM (Soderling *et al.*, 2000; Isokangas *et al.*, 2000).

Soderling *et al.* (2000) acompanharam 169 pares por 2 anos buscando-se correlacionar a frequência de consumo habitual de Xilitol na transmissão vertical de EGM.

Todas as mães selecionadas apresentaram altas contagens de EGM durante a gestação, sendo divididas em grupo teste (n = 106), com utilização de goma de mascar com Xilitol (65%v/v) de 2 a 3 vezes por dia, a partir do 3º mês de vida da criança. Nos dois controles avaliados, as mães foram tratadas com verniz de clorexidina 40% (n = 30) ou de flúor (n = 33; Duraphat®), aplicados 6, 12 e 18 meses após o parto. Colheitas para análise microbiológica foram realizadas semestralmente nas mães e anualmente nas crianças. Os níveis salivares maternos permaneceram elevados e sem diferença entre os grupos de estudo. Aos dois anos de idade, 9,7% das crianças do grupo tratado, 28,6% do grupo clorexidina e 48,5% do grupo verniz fluoretado apresentaram níveis detectáveis de EGM.

Isokangas *et al.* (2000), utilizando a mesma metodologia em 195 mães altamente infectadas por EGM, observaram que a utilização da goma de mascar com Xilitol (65%v/v) resultou em menores contagens microbianas nas crianças em que verificou-se a presença de EGM aos 2 anos de idade.

Dasanayake *et al.* (2002) avaliaram o efeito da utilização de um verniz de clorexidina a 10% na transmissão de Sm entre 38 pares mãe-filho e a subsequente experiência de cárie, comparados com um grupo de 37 pares em que foi utilizado um verniz placebo. A aplicação inicial dos vernizes nas mães foi realizada na fase de erupção dos dentes decíduos, seguidas de mais três aplicações com intervalos semanais e subseqüentes aplicações semestrais até o quarto aniversário das crianças. Embora os níveis salivares maternos de Sm tenham permanecido significativamente mais baixos do que os do grupo controle nos primeiros 12 meses do estudo, a aplicação do verniz antimicrobiano não apresentou influência na época de colonização da criança e na incidência de cárie no par.

Gripp & Schlagenhauf (2002) buscaram verificar a influência na colonização por EGM em crianças de 2 anos através da utilização de verniz de clorexidina 40% em 16 mães mutans milionárias, em comparação com um grupo controle de 13 pares mãe-filho, submetidos a tratamento placebo e outro, composto por pares com mães com baixas contagens microbianas. Verificaram que o tratamento resultou em uma menor prevalência de crianças colonizadas aos dois anos de idade no grupo tratado, comparado ao grupo placebo, no entanto, sem diferenças com o grupo cujas mães apresentavam baixas contagens microbianas.

Mudando o foco de atuação, em estudo duplo cego, Wan *et al.* (2003) avaliaram o efeito da aplicação semanal de um verniz de clorexidina a 0,2% em bebês de $10 \pm 2,6$ meses de vida, por 12 semanas. Os bebês foram selecionados logo após o nascimento, e amostras microbiológicas foram coletadas em intervalos trimestrais, juntamente com a investigação da história médica e relacionada aos hábitos de higienização e dieta. Verificou-se que nas crianças que apresentavam inicialmente uma baixa contagem de EGM, houve uma importante redução nos níveis comparando-se os grupos teste e controle depois de 3 meses de utilização semanal do gel, no entanto, após 15 meses de acompanhamento não se verificou mais esta diferença. A redução dos níveis de EGM mostrou-se relacionada com a frequência relatada de higienização e de ingestão de carboidratos, além do uso de dentifrícios.

Estudos realizados no Brasil (Walter *et al.*, 1987; Mattos-Graner *et al.*, 1996) e em países desenvolvidos como a Suécia (Grindefjord *et al.*, 1996) sugerem que a idade inicial na qual se observam lesões de cárie cavitadas está entre 12 e 18 meses de idade. Mattos-Graner *et al.* (1996) verificaram que 46% de todas as lesões de cárie observadas

restringiam-se a 17% das crianças de 6 a 36 meses de idade que compuseram a amostra, na qual 65% eram livres de cáries. Estes resultados demonstram a urgente necessidade de detecção de grupos de polarização para a cárie dentária, culminando com a instauração precoce de métodos preventivos efetivos e individualizados.

Do ponto de vista psicológico a primeira infância é o momento ideal para a instalação de hábitos saudáveis, devido a maior receptividade por parte da família com relação a aquisição de novos hábitos de higiene e dieta, importantes para a manutenção da harmonia entre microbiota bucal normal e os tecidos do hospedeiro (Flório & Pereira, 2003).

Estudos enfocando a prevenção de cárie em crianças jovens, praticamente restringiram seus esforços no controle químico da placa dentária da mãe (Dasanayake *et al.*, 1993; Soderling *et al.*, 2000; Isokangas *et al.*, 2000; Dasanayake *et al.*, 2002; Gripp & Schlagenhauf, 2002), ou da criança (Wan *et al.*, 2003) sem terem relatado maiores preocupações com os procedimentos básicos de promoção de saúde, como a motivação para higienização bucal pessoal da mãe e a de seus filhos.

A adequação do meio bucal, com remoção de focos de infecção como principal procedimento, apresenta resultados satisfatórios, porém não duradouros relacionados aos níveis salivares de microrganismos bucais. Wright *et al.* (1992) avaliaram o efeito do tratamento restaurador convencional nos níveis salivares de EGM, lactobacilos e estreptococos totais em 52 mulheres adultas selecionadas em decorrência das elevadas contagens microbianas. O impacto da redução inicial obtida mostrou-se de pequena longevidade provavelmente em função da habilidade dos microrganismos em colonizar rapidamente uma superfície restaurada. Desta maneira, a realização do tratamento

restaurador por si só é insuficiente para alterar o curso da doença, sendo necessário associar aos procedimentos clínicos à educação do paciente para a saúde, com aconselhamento dietético, ensino, treinamento e motivação das técnicas de higienização bucal, uso de agentes antimicrobianos e de materiais restauradores menos suscetíveis à aderência microbiana.

No único estudo encontrado na literatura, relatando a utilização da filosofia da promoção de saúde relacionada a aquisição de EGM, Seow, Cheng & Wan (2003), avaliaram o efeito da educação para a saúde e de procedimentos relacionados à remoção mecânica da placa bacteriana em crianças de elevado nível sócio econômico na infecção por EGM. Participaram do estudo 107 crianças, com idade média de 20,5 meses. Após exame da cavidade bucal, amostras de placa foram obtidas com *swabs* e submetidas a um teste microbiológico comercial. As mães foram instruídas para que realizassem a remoção de placa. Após 4 semanas, as crianças foram rechamadas para nova avaliação e colheita de microrganismos. Verificou-se que neste período, 29% das crianças inicialmente colonizadas deixaram de sê-lo.

3. PROPOSIÇÃO

Através da revisão de literatura, verifica-se que conhecimentos relacionados à aquisição, colonização, estabilidade de EGM nos primeiros anos de vida e ações preventivas direcionadas a estes acontecimentos podem ser essenciais para o desenvolvimento de adequadas estratégias para a prevenção da cárie dentária. Deste modo, este trabalho de tese foi realizado com o objetivo de:

- Detectar e monitorar através de estudo longitudinal de 24 meses a aquisição e a estabilidade da colonização de estreptococos grupo mutans (*S. mutans* e *S. sobrinus*) em crianças saudáveis brasileiras, submetidas a programa de promoção de saúde bucal;

- Verificar se características da mãe (níveis salivares de EGM e história passada e presente de cárie) e da criança (época de erupção dos dentes decíduos, número de dentes erupcionados presentes), podem ser relevantes na influência da época de colonização por estes microrganismos;

- Avaliar transversalmente a prevalência de colonização por EGM de crianças sem interferência do programa odontológico proposto, e expostas ao mesmo ambiente das crianças avaliadas longitudinalmente.

4. METODOLOGIA

4.1. Procedimentos preliminares

Autorização para a realização do estudo em questão foi solicitada aos responsáveis tanto pela Secretaria de Saúde e Educação da cidade de Piracicaba (SP) quanto pelas escolas municipais de ensino infantil (EMEIIs) envolvidas no estudo.

Este estudo foi conduzido de acordo com os preceitos determinados pela resolução 196 de 10/10/96 do Conselho Nacional de Saúde do Ministério da Saúde e pelo Código de Ética Profissional Odontológico, segundo a resolução CFO 179/93 tendo sido aprovado pelo Comitê de Ética da Faculdade de Odontologia de Piracicaba – UNICAMP sob protocolo número 57/2000 (Anexo 1).

Sendo assim, foi entregue ao responsável legal por cada criança, previamente ao início do trabalho, o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido para a realização de pesquisas em humanos, tendo sido o par mãe-filho considerado voluntário do estudo apenas após a devolução da via assinada do termo da pesquisadora.

Previamente à realização dos exames clínicos nos voluntários do estudo, houve um treinamento da examinadora responsável envolvendo a discussão teórica dos códigos, critérios e técnicas referentes aos exames realizados. Os exames foram realizados em 4 mulheres e 4 crianças não participantes do estudo, de mesma faixa etária dos voluntários que participariam do estudo.

4.2. Características da população envolvida no estudo

O estudo foi realizado com a participação de pares mãe/filho oriundos de 07 EMEIIs, aleatoriamente selecionadas de instituições de ensino de Piracicaba (São Paulo), município localizado em uma das mais desenvolvidas regiões brasileiras e que possui

fluoretação artificial das águas de abastecimento público desde 1971 (0,7 ppm F). As EMEIs são responsáveis pelo atendimento de famílias de baixo nível econômico, sendo que as crianças permanecem nas creches 5 dias por semana, 10 horas por dia (das 7 horas da manhã às 17 horas da tarde). O estudo foi delineado através da participação de dois grupos:

- Grupo Longitudinal – GL (experimental): formado por 33 *pares mãe/filho* (19 crianças do sexo feminino e 14 do sexo masculino), submetidos a um programa preventivo com base nos preceitos de Educação para Saúde Bucal cujos resultados foram verificados através de avaliações bimestrais clínicas e microbiológicas nas crianças por um período de acompanhamento de 24 meses.

- Grupo Transversal – GT (controle): devido à impossibilidade de se ter um grupo controle sem a realização de qualquer tipo de procedimento, através do qual poderia se determinar a real janela de infectividade para crianças com as características das da amostra, optou-se por obter as informações necessárias para a realização deste estudo através da participação de um grupo transversal, formado por 182 *crianças*, (89 do sexo feminino e 93 do sexo masculino com idades variando de 4 a 32 meses) matriculadas nas mesmas EMEIs aleatoriamente selecionadas. Como critério de comparação, estas crianças foram divididas em sete subgrupos (SG) em função de sua idade em meses de vida, sendo estes grupos etários coincidentes com as idades em que as crianças do GL tiveram o acompanhamento do programa preventivo proposto iniciado e terminado. Os exames clínico e microbiológico foram realizados em uma única ocasião durante o período do estudo.

4.3. Procedimentos realizados nos grupos que compuseram a amostra

4.3.1. Integralização dos grupos de estudo

Inicialmente, optou-se por integralizar a amostra do grupo longitudinal em virtude do tempo de acompanhamento necessário. Para tanto, foram examinados todos os pares-mãe filho cujas crianças estivessem matriculadas nos Berçários I e II das 07 creches previamente sorteadas, em função das características necessárias para a inclusão no estudo:

- Mães que não apresentassem mais do que 4 dentes posteriores ausentes (sendo no máximo um dente por quadrante) ou excessiva necessidade de tratamento restaurador e/ou periodontal (Wright *et al.*, 1992);

- Mães residentes há pelo menos dez anos no município de Piracicaba;

- Crianças cujos dentes decíduos não estivessem erupcionados durante a primeira visita para coleta de amostras e ao término da adequação da cavidade bucal da mãe.

- Indivíduos que não estivessem fazendo ou tivessem feito uso de alguma substância antimicrobiana ou imunossupressora pelo menos três meses antes do início do estudo (Wright *et al.*, 1992).

Trinta e três pares foram incluídos na amostra deste grupo. A idade média das crianças no momento de inclusão na amostra do estudo foi de $5,9 \pm 1,5$ meses de vida. A idade média das mães no início do estudo foi de $26,5 \pm 5,3$ anos. Durante o período de 24 meses de acompanhamento 7 pares foram perdidos, em razão da desistência das mães em levar as crianças às creches. Destes, 2 pares tiveram apenas a primeira avaliação bimestral realizada, 1 par foi avaliado em duas ocasiões e os 4 restantes foram acompanhados por

13,5 $\pm$ 2,3 meses. A Tabela 4.1 resume a amostra deste grupo por período de acompanhamento.

Tabela 4.1 - Número de pares em relação ao período de acompanhamento e ao sexo das crianças. Grupo Longitudinal.

INÍCIO	PERÍODO DE ACOMPANHAMENTO (MESES)			
	2	10	12	24
33 (19/14) ^{ϕ}	31 (18/13)	30 (17/13)	29 (16/13)	26 (16/10)

ϕ (sexo feminino / sexo masculino)

O grupo transversal foi formado durante o decorrer do estudo e teve como critério de inclusão a não utilização pelas crianças de alguma substância antimicrobiana ou imunossupressora pelo menos três meses antes do início do estudo. A Tabela 4.2 descreve a amostra deste grupo por sexo e subgrupo de avaliação.

Tabela 4.2 – Distribuição das crianças do Grupo Transversal segundo subgrupos avaliados.

SG 1 (4 a 8 ^{δ})	SG 2 (8,1 a 12 ^{δ})	SG 3 (12,1 a 16 ^{δ})	SG 4 (16,1 a 20 ^{δ})	SG 5 (20,1 a 24 ^{δ})	SG 6 (24,1 a 28 ^{δ})	SG 7 (28,1 a 32 ^{δ})
38 (21/17) ^{ϕ}	36 (20/16)	24 (12/12)	20 (7/13)	25 (17/8)	14 (3/11)	25 (9/16)

δ meses de vida da criança.

ϕ (sexo feminino / sexo masculino)

Solicitou-se que as mães de todas as crianças participantes do estudo preenchessem um questionário contendo aspectos relacionados à demografia, hábitos de amamentação, alimentação e higiene bucal, histórias pré e peri-natais, acesso a cuidados

odontológicos, medicamentos receitados pelo obstetra à mãe ou pediatra ao filho, dentre outros (Anexo 2).

4.3.2. Procedimentos odontológicos

Os exames clínicos e as colheitas de amostras para avaliação microbiológica foram realizados por um único examinador previamente treinado e calibrado.

As mães do grupo longitudinal foram examinadas em consultório odontológico padrão, localizado no prédio da escola técnica da Faculdade de Odontologia de Piracicaba – UNICAMP. Após anamnese, realização de profilaxia profissional, secagem e sob iluminação do refletor do equipo odontológico, verificou-se a história de cárie tomando-se o dente como unidade de estudo conforme metodologia preconizada pela OMS (1997). Utilizou-se sonda exploradora com ponta romba para a suave remoção de vestígios da pasta profilática utilizada. A experiência de cárie foi obtida através da soma de dentes cariados, perdidos e obturados (CPO-D), dividindo-se a soma dos valores individuais pelo número de pessoas examinadas.

4.3.2.1. Programa educativo-preventivo

Em um primeiro momento, todas as mães deste grupo tiveram suas cavidades bucais adequadas de modo que todos os procedimentos periodontais e restauradores fossem realizados antes da erupção do primeiro dente da criança (Wright *et al.*, 1992). A adequação do meio bucal buscou a remoção dos focos iatrogênicos de estagnação do biofilme.

Terapia restauradora foi realizada em todas as lesões de cárie evidentes clínica e/ou radiograficamente, através da utilização de técnicas convencionais com amálgama ou compósitos fotopolimerizáveis de acordo com a indicação. Lesões de mancha branca foram

submetidas a tratamento não invasivo baseado no autocontrole (Flório *et al.*, 2001), sem qualquer tipo de intervenção antimicrobiana.

Na primeira consulta a mãe recebeu instruções para Educação em Saúde Bucal, envolvendo os conceitos relacionados à transmissibilidade da cárie dentária, à importância da manutenção da saúde bucal e da transferência de hábitos saudáveis de higiene e alimentação para a criança. Na frente de um espelho foi ensinada a técnica para a utilização do fio dental e como deve ser realizada a escovação atentando-se aos locais em que a higiene estava deficiente, locais estes verificados durante o exame clínico. A noção de criação do *hábito* de limpeza tanto na mãe quanto na criança foi enfatizada, solicitando-se que a higienização bucal da criança fosse realizada na hora do banho. Foram entregues às mães conjuntos de higiene contendo uma escova de dente para cada residente da casa, um dentífrico, um fio dental e um folheto ilustrativo, contendo informações importantes relacionadas às causas e às medidas de prevenção da cárie, da doença periodontal e aos cuidados relacionados à cavidade bucal de bebês edêntulos.

Em cada consulta, questionou-se a cooperação da criança durante os procedimentos de limpeza. Com o término do tratamento, a examinadora se colocou à disposição para o esclarecimento de dúvidas ou para o agendamento de consultas que se fizessem necessárias durante o período do estudo. As voluntárias que necessitaram de tratamentos endodônticos, cirurgias periodontais e extrações dentárias foram encaminhadas para a clínica de graduação ou foram acompanhadas no plantão de urgências da Faculdade de Odontologia de Piracicaba (UNICAMP).

Com a ajuda das agentes de saúde, por 24 meses, foi entregue bimestralmente às mães, acompanhado de um novo conjunto de higienização, com folheto ilustrativo

direcionado à condição bucal da criança (dentes erupcionados), um bilhete relatando a qualidade de higiene bucal verificada no dia de cada uma das visitas de acompanhamento, objetivando-se a motivação para a melhora ou um reforçamento positivo em situações adequadas (Anexo 3).

4.3.2.2. Exames clínicos odontológicos

As crianças foram examinadas nas próprias creches durante todas as visitas bimestrais de acompanhamento ou durante a única visita caso pertencessem ao GT. Os parâmetros do exame foram: presença e número de dentes erupcionados, presença de placa visível na superfície vestibular dos incisivos superiores, presença de opacidades e/ou cavidades resultantes da doença cárie e colonização por EGM.

Um dente foi considerado erupcionado quando qualquer parte de sua coroa estivesse irrompida na cavidade bucal (OMS, 1997). A época de erupção do primeiro dente decíduo foi considerada aquela em que a erupção foi clinicamente detectada durante as visitas bimestrais.

Após a erupção dentária, a presença de placa estagnada visível e a história de cárie das crianças foi verificada.

Os incisivos superiores das crianças foram clinicamente examinados, sob luz artificial, atentando-se à presença de placa bacteriana estagnada, sem a utilização de evidenciadores de placa conforme preconizado por Alaluusua & Malmivirta (1994), tendo sido considerada presente quando visível em uma ou mais destas superfícies.

O exame foi realizado apenas através do método visual, devido à idade das crianças e às condições do exame, buscando importuná-las o mínimo possível (Radford *et al.*, 2000). Luz artificial foi utilizada e a remoção de placa foi realizada através da

escovação dentária. O número de dentes cariados foi expresso como c-d, uma vez que nenhum dente perdido (com extração indicada) ou restaurado foi observado durante o período do estudo. Como critérios para a realização do exame clínico, optou-se por distinguir lesões iniciais daquelas já cavitadas.

Lesões iniciais foram definidas como desmineralizações que resultam em alterações na opacidade/translucência do esmalte das superfícies dentárias (lesões opacas de mancha branca associadas a locais de estagnação do biofilme e/ou evidências de inflamação gengival). Lesões cavitadas foram consideradas como aquelas em que uma lesão de fóssula ou fissura ou de superfície lisa apresentasse uma cavidade evidente, esmalte socavado, ou um amolecimento detectável do assoalho ou das paredes (OMS, 1997). Em caso de dúvida, não se registrou a presença da doença (OMS, 1997). Opacidade de origens diversas que não as decorrentes de lesões de cárie foram desconsideradas. Exploradores não foram utilizados nestes exames.

4.3.3. Procedimentos microbiológicos

4.3.3.1. Colheita das amostras para análise microbiológica

Nas crianças, durante todas as visitas bimestrais, amostras para cultivo microbiológico foram obtidas de sítios distintos da cavidade bucal, pelo menos uma hora após a última ingestão de alimentos ou bebidas através da utilização de *swabs*^o esterilizados (Dasanayake *et al.*, 1993; Wan *et al.*, 2001a,b; Wan *et al.*, 2003). Enquanto a criança permaneceu edêntula, foram três os sítios de colheita: região sublingual, dorso da língua e rodets gengivais. A partir da erupção do primeiro dente, verificada nas colheitas de

^o Greiner Labortechnik (Austria)

acompanhamento, foi realizada também a colheita da placa bacteriana além dos três sítios acima citados.

Amostras de saliva foram obtidas através da colocação do *swab* na região sublingual da criança até a completa saturação. Em fase preliminar, avaliou-se a capacidade de absorção do *swab* utilizado (Dasanayake *et al.*, 1993; Wan *et al.*, 2001a,b) e verificou-se que o volume absorvido foi constante e igual a 0,17 mL.

Amostras das mucosas maxilares e mandibulares dos rodets gengivais e do dorso da língua foram obtidas através da passagem do dispositivo sobre o tecido. Para a amostragem do dorso da língua, o *swab* foi posicionado o mais posterior possível preservando o conforto do indivíduo (Tanner *et al.*, 2003). Amostras de placa bacteriana das crianças em cujo algum dente havia erupcionado foram obtidas através da passagem do dispositivo sobre a região cervical e superfícies oclusais de todos os dentes erupcionados.

Nas crianças do grupo transversal, a colheita das amostras foi resultado de um *pool* entre os três ou quatro sítios acima descritos, em função da presença ou não de dentes erupcionados (Caufield, Cutter & Dasanayake, 1993; Dasanayake *et al.*, 1993).

Após a colheita, cada um dos *swabs* teve sua ponta imediatamente cortada e depositada no interior de tubos tipo *Eppendorf* contendo 830µL de solução salina a 0,9% que foram, por sua vez, armazenados devidamente codificados em geladeira de transporte em banho de gelo.

A saliva integral das mães foi coletada, em um tubo com rosca esterilizado, antes da realização da adequação do meio bucal, conforme a metodologia utilizada por Dasanayake *et al.* (1995). A voluntária deveria estar em jejum de uma hora antes da

colheita, além de não ter fumado ou realizado exercício físico. O fluxo salivar foi estimulado através da mastigação de um pedaço de Parafilm® (4 X 2 cm), durante 2 minutos quando a saliva formada foi deglutida. Em seguida iniciou-se a colheita em um dispositivo previamente autoclavado. Após a obtenção de aproximadamente 2 mL de saliva estimulada, o tubo foi flambado, codificado e devidamente acondicionado em banho de gelo.

4.3.3.2. Processamento do material coletado

Logo após o término das colheitas, todas as amostras foram acondicionadas em banho de gelo e imediatamente transportadas ao laboratório de Microbiologia (FOP/UNICAMP), em um período máximo de 2 horas. A maioria das amostras foi inoculada em até 90 minutos, nunca excedendo o período de 3 horas após a colheita.

Visando a obtenção de uma suspensão uniforme, submeteu-se as amostras a 60 segundos de vibração em um agitador de tubos (Phoenix - AT 56) (Wan *et al.*, 2001a,b; Wan *et al.*, 2003), para posterior diluição em série decimal de 10^{-1} a 10^{-4} , em solução salina a 0,9% esterilizada.

Em seguida, procedeu-se a inoculação das amostras. Para o cultivo de EGM, alíquotas de 5µL de cada diluição foram inoculadas em duplicata em placas de Petri (5 x 2 cm), contendo 5 mL de meio MSB (ágar *Mitis Salivarius*^δ com bacitracina^ε 200 U/L, 15% de sacarose^θ e telurito de potássio^ε a 1%) (Gold *et al.*, 1973) e espalhadas com auxílio de alça de *Drigalski* esterilizada. Além disso, antes de serem descartados, os *swabs* de todas as

^δ Difco Co, EUA.

^ε Sigma Co, EUA.

^θ Synth, Brasil.

amostras das crianças foram estriados sobre placas de petri contendo MSB, objetivando-se uma maior probabilidade de crescimento positivo das amostras (Caufield, Cutter & Dasanayake, 1993, Dasanayake *et al.*, 2002).

O volume restante das amostras clínicas foi armazenado a - 70°C, codificado de acordo com o par e o número da colheita para posterior utilização.

Após incubação a 37°C por 48 horas em atmosfera com pCO₂ de 10% (Water-Jacked CO₂ Incubators/Cole Parmer Instruments – USA), foi estabelecido, em microscópio estereoscópico, através de contagem manual de acordo com as características morfológicas das colônias, o número de unidades formadoras de colônias (UFCs). *Streptococcus* grupo mutans apresentam características morfológicas peculiares no crescimento em meio de cultura rico em sacarose conforme o utilizado. Eles são distinguidos de demais espécies bacterianas por sua forma de amora, superfície de vidro moído, crescimento aderente no ágar e produção de polissacarídeos que se localizam ao redor e/ou sobre a colônia bacteriana (Emilson, 1983; van Palenstein Helderma, Ijsseldijk & Huis in't Veld, 1983).

4.3.3.3. Isolamento bacteriano

Após a contagem das UFCs, havendo crescimento positivo de EGM, até 30 colônias de morfologia característica foram isoladas das placas inoculadas com amostras oriundas de todos sítios coletados nas crianças do GL, sendo proporcional o número de isolados obtidos de cada sítio. Nas placas das mães e nas das crianças do GT isolou-se até 15 cepas. Observou-se neste momento, além da morfologia celular, a produção de enzima catalase através do gotejamento de peróxido de hidrogênio a 3% sobre uma colônia de cada tipo morfológico depositada sobre uma lâmina de vidro (Whittenbury, 1964). A morfologia celular também foi examinada microscopicamente em esfregaços das culturas coradas pelo

método de Gram. Apenas células que apresentaram morfologia colonial e celular típica de EGM e que apresentaram resultado negativo na prova de produção de enzima catalase foram isoladas.

As UFCs com tais características foram transferidas individualmente para tubos contendo 3 mL de caldo de infusão de cérebro e coração (BHI^δ) e incubadas em condições ótimas para seu desenvolvimento celular (37°C, 10% CO₂). Após o crescimento bacteriano, alíquotas de 500 µL do subcultivo foram armazenadas a -70°C em BHI-Glicerol 20%, para análises posteriores. A pureza dos isolados armazenados foi conferida através de coloração pelo método de Gram (Coykendall, 1974).

4.3.3.4. Identificação por PCR

Para obtenção do DNA bacteriano, os isolados conservados a -70°C em BHI-Glicerol, foram reativados em meio BHI e incubados a 37°C por 24 horas em atmosfera com pCO₂ de 10% . Após o crescimento bacteriano, as células foram centrifugadas (10.000 r.p.m./2 min), o sobrenadante foi descartado e o precipitado foi lavado com 800 µL de tampão TE (10mM Tris-HCl, 1mM EDTA, pH 8,0). Após agitação e nova centrifugação nas mesmas condições, as células foram ressuspensas e lavadas por mais duas vezes, para então serem submetidas a um banho de fervura por 10 minutos em 100µL de tampão TE (modificado de Welsh & McClelland, 1990; Saarela *et al.*, 1996). Após centrifugação (10.000 r.p.m./10 seg) e transporte do sobrenadante para outro tubo tipo *ependorf* obteve-se as amostras de DNA.

^δ Difco Co, EUA.

As amostras de DNA foram submetidas à Reação de Polimerização em Cadeia (PCR) para confirmação molecular da identidade de *S. mutans* e, posteriormente, de *S. sobrinus* na presença de pares *primers* específicos para a porção do gene correspondente a glicosiltransferase (*gtfB* de *S. mutans*, *gtfI* de *S. sobrinus*) listados na tabela 4.3.

Tabela 4.3 - Primers utilizados para identificação *S. mutans* e de *S. sobrinus* pela técnica de PCR (Oho *et al.*, 2000):

Espécie	Primers: Sequência	Posição
<i>S. mutans</i>	GTfB-F: 5' - ACT ACA CTT TCG GGT GGC TTG G - 3'	(517 pb)
	GTfB-R: 5' - CAG TAT AAG CGC CAG TTT CAT C -3'	
<i>S. sobrinus</i>	GTfI-F: 5' - GAT AAC TAC CTG ACA GCT GAC T - 3'	(712 pb)
	GTfI-R: 5' - AAG CTG CCT TAA GGT AAT CAC T -3'	

A reação de PCR foi processada em 25µL de uma mistura de reagentes contendo 1x solução tampão (10x Reaction Buffer Taq Polymerase^λ), 1,5 mM de MgCl₂^λ, 0,1 mM de dNTP^λ (DNA Polymerization Mix), 0,2 µM de cada *primer*^λ, 1,5 U de Taq DNA Polymerase^λ e uma alíquota de 2,5 µL de cada amostra de DNA. Além das amostras, em cada reação de PCR, foram utilizados como controles positivos, DNA extraído de *S. mutans* (CCT 3440) e de *S. sobrinus* (ATCC 27607) e como negativo, água bi-destilada deionizada esterilizada.

Esta mistura reagente foi submetida a um aparelho termociclador convencional (GeneAmp PCR System 2400 – Perkin Elmer, Applied Biosystem, Singapura) com o *primer* para *S. mutans* de acordo com as seguintes condições térmicas: 30 ciclos de

desnaturação do DNA a 95°C por 30 segundos, seguida da fase de hibridização dos *primers* a 59° C por 30 segundos e fase de extensão a 72°C por 1 minuto (Oho *et al.*, 2000).

Para a confirmação molecular da identidade de *S. sobrinus*, realizada quando da ausência de banda que caracterizasse *S. mutans* na reação anterior, outra alíquota da amostra de DNA foi submetida a uma nova reação de PCR, conforme programação supracitada, utilizando-se o *primer* específico para detecção de *S. sobrinus* (Oho *et al.*, 2000).

Os produtos da PCR foram analisados imediatamente, ou armazenados em freezer a -20°C. A análise dos produtos da PCR foi realizada por eletroforese em gel de agarose^λ 1,5% em tampão Tris-Borato-EDTA (pH 8,0). Em cada gel foi incluído um padrão de peso molecular de 100 pb^λ. Após o término da corrida (60 volts por 1 hora), o gel foi corado com brometo de etídio^λ a 0,5 µg/mL (Sambrook, Fritsch, Maniatis, 1989) e as bandas observadas com auxílio de um transluminador de luz ultravioleta (Pharmacia LKB – MacroVue; Pharmacia Biotech - Image Master –VDS).

4.3.4. Verificação da aquisição / colonização por EGM nas crianças do estudo

A idade em que cada criança do grupo longitudinal foi considerada como colonizada por EGM (colonização permanente) foi aquela a partir da qual verificou-se o crescimento positivo, em qualquer sítio de colheita, de cepas identificadas como tais microrganismos em pelo menos duas visitas consecutivas de acompanhamento (Caufield, Cutter & Dasanayake, 1993). Havendo crescimento positivo irregular, intercalado durante o acompanhamento, a presença destes microrganismos foi considerada como sendo

^λ INVITROGEN® – Life Technology, São Paulo, Brasil.

transitória (colonização transitória). Uma criança foi considerada como não colonizada baseada em colheitas com crescimento negativo de EGM durante os 24 meses de acompanhamento. A colheita de confirmação de colonização por EGM foi realizada 2 semanas após a primeira colheita positiva.

Foram consideradas colonizadas as crianças do grupo transversal que apresentaram crescimento positivo de cepas morfolologicamente típicas nas placas inoculadas com o *pool* de material coletado (Tanner *et al.*, 2003). Não houve colheita de confirmação neste grupo. A identificação das cepas foi realizada através da morfologia colonial e celular (método de Gram) e da produção de enzima catalase. As cepas isoladas foram armazenadas para posterior utilização.

4.3.5. Forma de análise dos resultados

Após a tabulação, realizou-se a estatística descritiva de todos os dados. As contagens de EGM/mL de amostra de saliva ou do *pool* coletado foram convertidas em logaritmos ($\log_{10}$). O Coeficiente de Correlação de *Spearman* foi utilizado para se verificar a relação entre a época de aquisição de EGM nas crianças e: a) idade da erupção do primeiro dente decíduo, b) o número de dentes erupcionados na primeira colheita com crescimento positivo, c) os níveis salivares maternos de EGM. Também, através da utilização deste coeficiente de correlação, buscou-se a relação entre os níveis salivares maternos de EGM e: a) a prevalência de cárie dentária nas mães (CPO-D) e b) a idade em que foi verificada a colonização permanente por EGM nas crianças do grupo longitudinal. O teste Exato de *Fisher* foi utilizado para verificar: a) a sensibilidade para a detecção da aquisição de EGM dentre os sítios de colheita de amostras no GL, b) a relação entre o sexo

^λ INVITROGEN® - Life Technology do Brasil

das crianças e a característica da colonização por EGM verificada ao término do acompanhamento (transitória ou efetiva). O Teste t de *Student* para uma amostra foi utilizado para comparar-se a época de aquisição verificada nas crianças deste estudo com a janela de infectividade reportada na literatura. O teste de *Mann Whitney* comparou as contagens microbianas salivares das mães de crianças com colonização permanente ou transitória.

Para a comparação com os subgrupos etários do GT, os dados obtidos através do acompanhamento longitudinal das crianças do GL foram divididos em função da idade das crianças na época de realização dos exames. Quanto aos resultados microbiológicos, considerou-se a média dos valores obtidos através da contagem dos nichos de colheita, obtendo-se um valor de *pool* para os subgrupos do GL. A presença de EGM, transitória ou não, foi classificada como colonização.

O teste Exato de *Fisher* foi utilizado para se comparar: a) a diferença entre o número de crianças com placa estagnada presente nas superfícies avaliadas, dentro dos subgrupos de estudo, b) o número de crianças com lesões de cárie dentária em cada um dos subgrupos de estudo. O teste de *Mann Whitney* buscou examinar a relação, para cada subgrupo, dentre os grupos de estudo entre: a) contagens microbianas, b) prevalência de cárie dentária avaliada pelo índice *ceo-d*.

O nível de significância adotado foi de 5% ($p=0,05$), considerando-se o valor de p-bicaudal.

5. RESULTADOS

Inicialmente será descrito o perfil da população estudada, com relação aos aspectos pessoais e características econômico-demográficas, obtidas através da tabulação dos dados dos questionários entregues. Ressalta-se que os dados referem-se à situação em que os pares se encontravam durante a sua inclusão no estudo.

5.1. Caracterização da população de estudo

A tabela 5.1 apresenta a distribuição das mães das crianças de ambos os grupos de estudo de acordo com dados relativos aos aspectos pessoais.

Tabela 5.1 - Distribuição das mães de acordo com os aspectos pessoais analisados.

	GRUPO TRANSVERSAL		GRUPO LONGITUDINAL	
	n	%	n	%
Grupo etário da mãe				
17 – 21 anos	17	9,3	4	12,1
21,1 – 25 anos	34	18,7	9	27,3
25,1 – 29 anos	41	22,5	11	33,3
29,1 – 32 anos	25	13,7	3	9,1
32,1 – 36 anos	26	14,3	3	9,1
36,1 – 40 anos	13	7,1	2	6,1
40,1 – 44 anos	7	3,8	0	0,0
NR (não respondeu)	19	10,4	1	3,0
Escolaridade materna relatada				
1º grau incompleto	39	21,4	8	24,2
1º grau completo	41	22,5	10	30,3
2º grau incompleto	31	17,0	5	15,2
2º grau completo	33	18,1	6	18,2
3º grau completo	17	9,3	3	9,1
NR	21	11,5	1	3,0
Situação conjugal materna				
Amasiada	67	36,8	12	36,4
Casada	77	42,3	17	51,5
Separada	9	4,9	1	3,0
Solteira	20	11,0	2	6,1
Viúva	1	0,5	0	0,0
NR	8	4,4	1	3,0
Mãe trabalha fora?				
Não	17	9,3	5	15,2
Sim	157	86,3	28	84,9
NR	8	4,4	0	0,0
TOTAL	182	100,0	33	100,0

A tabela 5.2 caracteriza os dados relativos à maternidade das mães envolvidas no estudo.

Tabela 5.2- Distribuição das mães de acordo com as questões relacionadas à maternidade da criança voluntária.

	GRUPO TRANSVERSAL		GRUPO LONGITUDINAL	
	n	%	n	%
A criança voluntária é o primogênito?				
Não	104	57,1	21	63,6
Sim	67	36,8	12	36,4
NR	11	6,0		0,0
Houve acompanhamento pré-natal?				
Não	4	2,2	1	3,0
À partir do 2º trimestre	4	2,2	0	0,0
À partir do 3º trimestre	1	0,5	0	0,0
Sim	166	91,2	32	97,0
NR	7	3,8	0	0,0
Número de filhos nascidos e vivos				
1	53	29,1	12	36,4
2	51	28,0	9	27,3
3 ou mais	48	26,4	12	36,4
NR	30	16,5	0	0,0
Frequência de contato diário com a criança voluntária				
1 período	136	74,7	20	60,6
2 períodos	38	20,9	12	36,4
3 períodos	2	1,1	1	3,0
NR	6	3,3		0,0
A criança está na creche desde quantos meses de vida?				
3 a 7 meses	102	56,0	33	100,0
8 a 12 meses	39	38,2	0	0,0
13 a 18 meses	18	17,6	0	0,0
19 a 24 meses	9	8,8	0	0,0
> 24 meses	1	1,0	0	0,0
NR	13	12,7	0	0,0
TOTAL	182	100,0	33	100,0

A tabela 5.3 apresenta os dados referentes às questões relacionadas aos cuidados odontológicos dispensados às crianças.

Tabela 5.3 - Distribuição das mães de acordo com as questões relacionadas aos cuidados odontológicos com a criança voluntária.

	GRUPO TRANSVERSAL		GRUPO LONGITUDINAL	
	n	%	n	%
Você recebeu informações sobre os cuidados relacionados à saúde bucal do seu filho?				
Não	85	46,7	20	60,6
Sim	89	48,9	12	36,4
NR	8	4,4	1	3,0
Quem foi o responsável por estas informações?				
Não recebeu informações	85	46,7	20	60,6
Família	4	2,2	1	3,0
RH odontológico	37	20,3	6	18,2
Equipe de saúde	33	18,1	3	9,1
Equipe de saúde e família	1	0,5	1	3,0
Televisão	1	0,5	0	0,0
Pastoral da criança	1	0,5	0	0,0
NR	20	11,0	2	6,1
Você costuma limpar os dentes / as gengivas de seu filho?				
Sim	95	52,2	10	30,3
Às vezes	12	6,6	1	3,0
Não	64	35,2	18	54,5
NR	11	6,0	4	12,1
TOTAL	182	100,0	33	100,0

5.2. Aquisição de EGM nas crianças do grupo longitudinal

Das 33 crianças que iniciaram o acompanhamento longitudinal, 29 apresentaram pelo menos 1 colheita positiva para EGM, em média aos $15,3 \pm 4,6$ meses de vida, variando de no mínimo 6,0 a no máximo 30,9 meses de vida. Nesta população, considerando-se a idade em que a aquisição foi verificada para cada uma das crianças a *abertura* e o *fechamento* da janela de infectividade foram respectivamente 12,8 e 17,5 meses de vida.

Com relação à época de erupção dos dentes nas crianças da amostra, a verificação clínica durante as visitas de acompanhamento ocorreu aos $9,9 \pm 2,1$ meses de vida, variando de 5,1 a 14 meses. Como pode ser visualizado na Figura 5.1, a época de erupção dentária apresentou uma correlação positiva com a época em que ocorreu o primeiro contato com a espécie dos microrganismos avaliados ($r = 0,51$; $p = 0,0048$; correlação de *Spearman*).

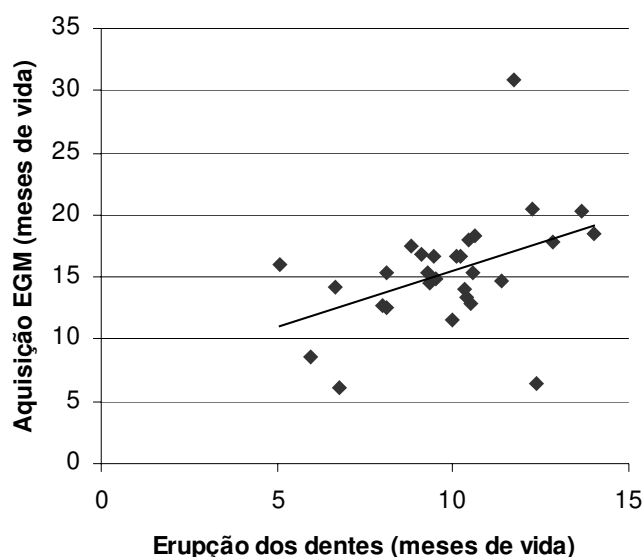


Figura 5.1 – Relação entre a idade de verificação da erupção do primeiro dente decíduo e a idade em que foi verificada a aquisição por EGM.

Durante o primeiro contato com a espécie de microrganismo, as crianças apresentavam $8,7 \pm 4,7$ dentes erupcionados, variando de 0 a 19 dentes, sendo que duas crianças eram edêntulas, 11 apresentavam apenas dentes do grupo dos incisivos erupcionados e as 16 restantes possuíam dentes molares erupcionados. A colheita de

confirmação nas crianças edêntulas foi negativa. Conforme pode ser visualizado na Figura 5.2, verificou-se uma relação positiva entre a época da aquisição inicial de EGM e o número de dentes erupcionados na cavidade bucal ($r = 0,68$; $p = 0,0000$; correlação de *Spearman*).

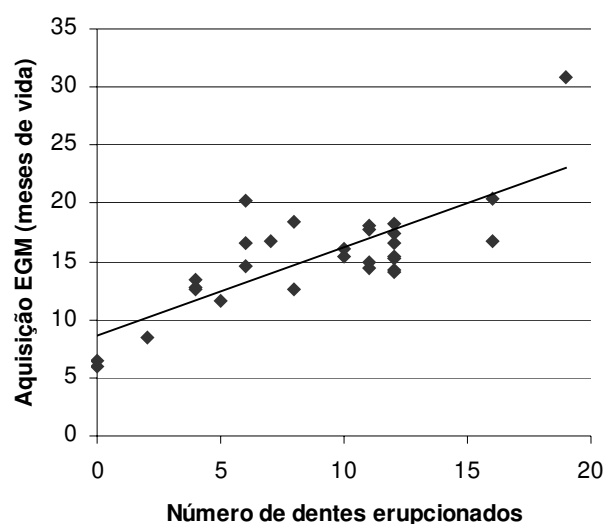


Figura 5.2 - Relação entre o número de dentes erupcionados e a idade em que foi verificada a aquisição de EGM.

5.3. Característica do nicho de colheita na detecção da aquisição inicial

Considerando-se os 4 nichos selecionados para a colheita de amostras, procurou-se avaliar aquele que apresentou a melhor sensibilidade para a detecção da aquisição inicial de EGM nas 29 crianças que apresentaram ao menos uma colheita positiva durante o estudo. Conforme pode ser visualizado na figura 5.3, dentre os quatro nichos selecionados, a placa bacteriana mostrou-se numericamente um importante sítio para a detecção da colonização

inicial, seguido da saliva, dorso de língua e rodete gengival, apresentando, no entanto diferença significativa na sensibilidade de detecção apenas com relação ao rodete gengival ($p = 0,0165$; Teste Exato de *Fisher*). Oito crianças apresentaram crescimento positivo concomitantemente nos quatro sítios coletados.

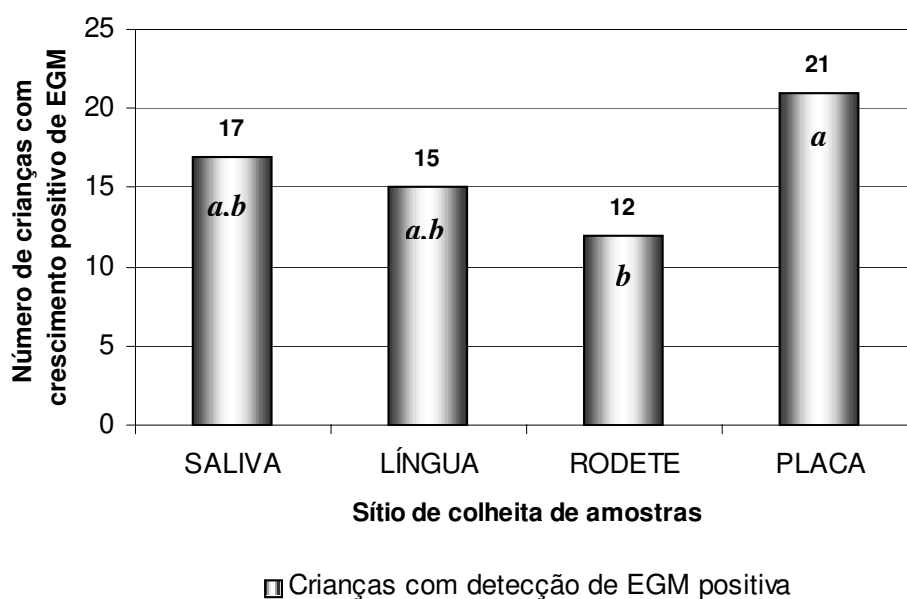


Figura 5.3 - Número de crianças com colheita positiva para EGM, durante a aquisição inicial, em função do sítio. Barras seguidas de letras distintas na horizontal diferem entre si pelo teste Exato de *Fisher* ($p < 0,05\%$).

5.4. Estabilidade da colonização por EGM nas crianças do grupo longitudinal

Das 33 crianças inicialmente selecionadas, 26 terminaram o acompanhamento de dois anos do estudo, podendo portanto ser utilizadas na descrição da estabilidade de colonização. Seis crianças foram classificadas como colonizadas transitoriamente em razão da ocorrência de apenas uma colheita positiva (4 crianças) ou mais de uma colheita positiva, porém não consecutiva (2 crianças).

Considerando-se a colonização efetiva verificada nas 20 crianças acompanhadas bimestralmente por 24 meses, diz-se que a abertura e o fechamento da janela de infectividade seriam respectivamente 14,0 e 20,3 meses de vida, com média de $17,3 \pm 4,8$ meses de vida, variando de no mínimo 11,6 a no máximo 30,9 meses de vida. Este período verificado foi anterior ao período descrito na literatura para a implantação de EGM (26 meses de vida) ($p=0,0000$, teste t para uma média). Considerando-se a idade relatada para a abertura da janela (19 meses), a relação é estatisticamente significativa ao nível de 10% ($p=0,0812$, teste t para uma média).

Das 33 mães que iniciaram o programa, todas apresentaram níveis detectáveis de EGM em suas salivas ($6,24 \times 10^6 \pm 2,43 \times 10^7$ UFC/mL). A tabela 5.4 resume a característica de colonização das crianças após o período de acompanhamento, em função do sexo da criança e do nível salivar médio de EGM das mães. Não foi encontrada diferença entre os níveis salivares de EGM para as mães de crianças com colonização permanente ou transiente (Teste *Mann Whitney*, $p = 0,4289$).

Tabela 5.4 - Característica da colonização por EGM após 24 meses de acompanhamento.

Colonização	Sexo da criança		Níveis salivares de EGM na mãe ^δ
	Masculino	Feminino	
Permanente ^α	9	11	$2,71 \times 10^6 \pm 4,58 \times 10^6$ a
Transiente ^β	1	5	$2,45 \times 10^7 \pm 5,66 \times 10^7$ a

^α Isolamento regular após a primeira colheita positiva.

^β Isolamento irregular após a primeira colheita positiva.

^δ Média $\pm$ DP UFC/mL saliva; antes da adequação do meio bucal. Valores seguidos de letras iguais na vertical não diferem entre si pelo Teste de *Mann Whitney* ($p=0,4289$).

A experiência de cárie verificada no grupo de mães através do índice CPO-D foi igual a $10,4 \pm 6,3$ dentes. A quantidade de EGM na saliva materna não apresentou correlação com a sua prevalência de cárie materna ($r = -0,01$; $p = 0,95$; Correlação de *Spearman*), tão pouco com a época de aquisição de EGM pelas crianças ($r = 0,11$; $p = 0,56$; Correlação de *Spearman*) ou com a época de verificação da colonização efetiva das crianças por EGM ($r = 0,22$; $p = 0,33$; Correlação de *Spearman*).

Não se verificou relação significativa entre a característica da colonização e o sexo das crianças ($p=0,2245$, Teste Exato de *Fisher*).

5.5. Isolamento microbiano

Durante os 24 meses de acompanhamento foram isoladas 1667 cepas identificadas como EGM, 1340 das amostras das crianças do GL (1238 Sm e 102 Ss) e 334 das amostras de saliva das mães (306 Sm e 28 Ss). Com base nos resultados obtidos após a identificação, no final do período de acompanhamento, 16 crianças apresentaram isolamento positivo de ambos Sm e Ss em suas amostras, 7 apresentaram-se colonizadas apenas por Sm e 3 apenas por Ss. Das 6 crianças que desenvolveram lesões de cárie iniciais, 4 eram colonizadas por ambos Sm e Ss e as outras duas possuíam apenas Sm dentre os isolados.

5.6. Comparação da colonização por EGM entre os grupos de estudo

Com o intuito de comparar o percentual de crianças, por subgrupo etário, em que foi verificada a colonização por EGM em ambos os grupos de estudo, optou-se por subdividir as crianças do GL em função da idade de acordo com os resultados obtidos durante as

avaliações bimestrais. Como pode ser visualizada na figura 5.4, a prevalência de crianças colonizadas aumenta em função da idade, sendo que para o GL este aumento foi verificado intensivamente a partir dos 12 meses de vida (SG3) e para o GT o aumento foi gradual a partir dos 8 meses de vida. O teste Exato de *Fisher* mostra que existe diferença entre a quantidade de crianças colonizadas e não colonizadas nos subgrupos 3 ($p=0,0439$) e 4 ($0,0029$) dentre os grupos de estudo.

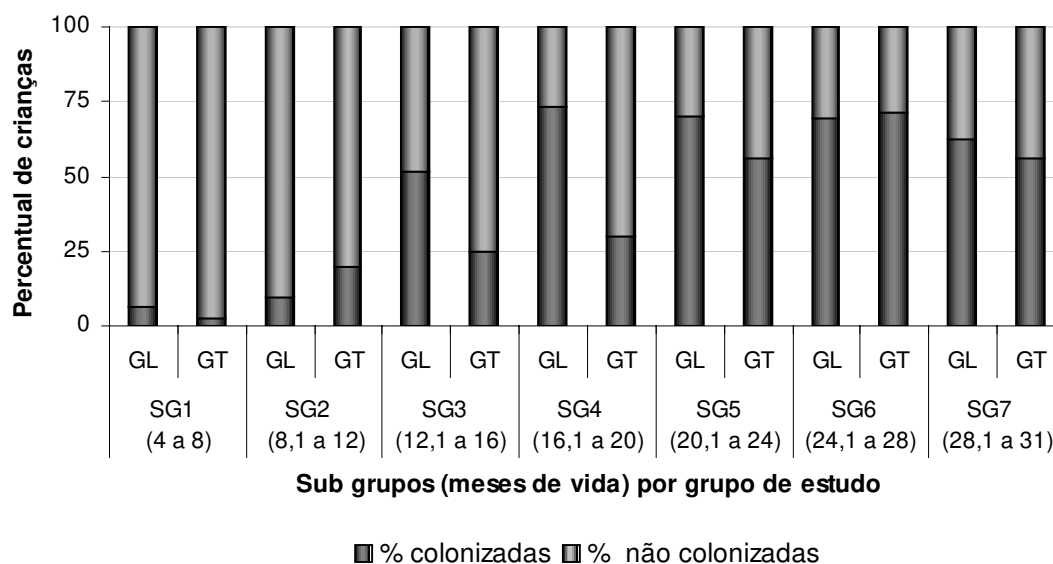


Figura 5.4 - Comparação entre o percentual de crianças em que foi verificada a colonização por EGM em ambos os grupos de estudo.

Com relação aos valores obtidos através das contagens das UFC de EGM, para a comparação entre os grupos, utilizou-se o valor médio das contagens obtidas nos sítios coletados no GL, obtendo-se um único valor. Verifica-se que com o aumento da idade das crianças, há um aumento na contagem de EGM em ambos os grupos. A figura 5.5 representa os níveis bucais de EGM para cada um dos grupos de estudo. A análise dos

valores através do Teste de *Mann Whitney* mostrou que não houve diferença significativa entre as contagens verificadas nos subgrupos etários entre os grupos de estudo ($p>0,05$).

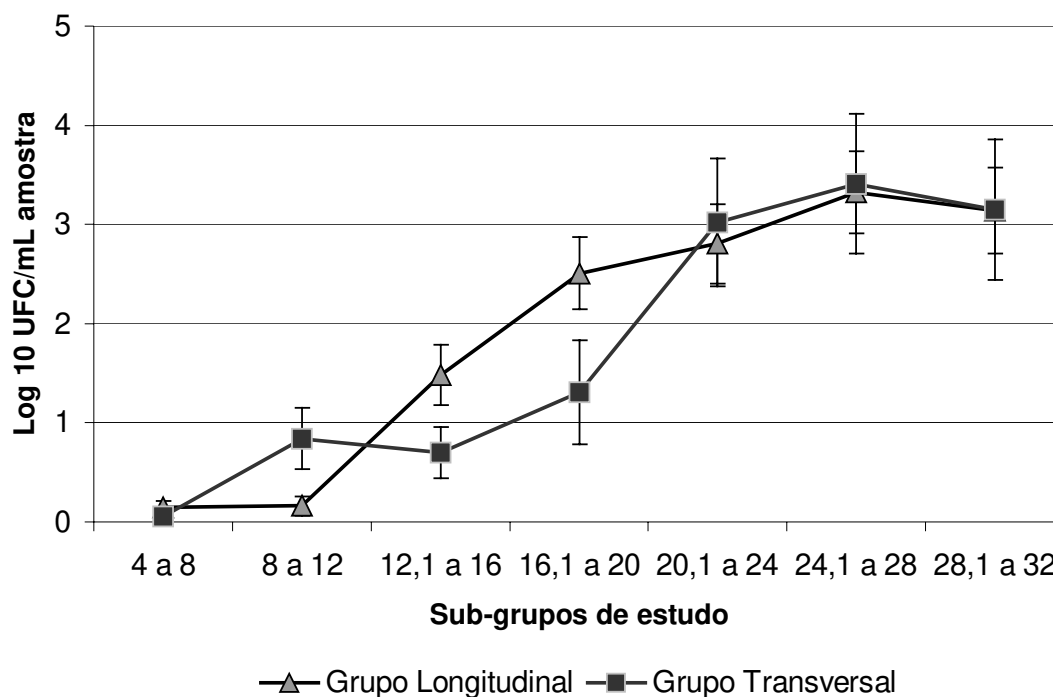


Figura 5.5 - Níveis bucais de EGM das crianças dos grupos longitudinal e transversal, por subgrupo de estudo. As linhas verticais representam o erro padrão da média.

5.7. Achados clínicos

Ao final de 24 meses de acompanhamento, não foi verificada a presença de cavidades de cárie nas crianças do GL, no entanto 6 delas apresentaram lesões em estágio inicial. A idade em que as lesões de cárie puderam ser diagnosticadas clinicamente variou de 21,5 a 31,1 meses de vida, com média de $27 \pm 3,4$ meses. A proporção de crianças livres de cárie ao final de 24 meses de acompanhamento foi de 77%. Apenas crianças colonizadas efetivamente desenvolveram lesões de cárie.

Das 182 crianças examinadas no GT, 130 apresentavam pelo menos um dente erupcionado na cavidade bucal, sendo que 43 tinham apenas dentes do grupo dos incisivos e 87 de 1 a 8 molares erupcionados. Quatro crianças da amostra apresentaram lesões de cárie cavitadas e 16 crianças apresentaram lesões de cárie iniciais. A tabela 5.5 mostra a distribuição das crianças, nos diferentes subgrupos dos grupos de estudo, em relação ao número de crianças afetadas e prevalência de cárie dentária (manchas brancas para GL e manchas brancas e/ou cavidades para GT).

Tabela 5.5 - Distribuição das crianças dos grupos de estudo, em relação ao subgrupo etário, à presença e prevalência (c-d) de cárie dentária.

SUBGRUPO (meses de vida)	GRUPO LONGITUDINAL			GRUPO TRANSVERSAL		
	n	Presença ^γ n ^α (%)	c-d (média±DP)	n	Presença ^φ n ^α (%) / n cav ^κ (%)	c-d (média±DP)
1 (4 a 8)	33	0 (0,0)	0 ± 0	38	0 (0,0)	0 ± 0
2 (8,1 a 12)	31	0 (0,0)	0 ± 0	36	0 (0,0)	0 ± 0
3 (12,1 a 16)	29	0 (0,0)	0 ± 0	24	2 (8,3)	0,12 ± 0,45
4 (16,1 a 20)	30	0 (0,0)	0 ± 0	20	2 (10,0)	0,2 ± 0,7
5 (20,1 a 24)	27	1 (3,7)	0,07 ± 0,38	25	4 (16,0) / 1 (4,0)	0,6 ± 1,8
6 (24,1 a 28)	26	3 (11,5)	0,31 ± 0,93	14	2 (14,3)	0,7 ± 2,2
7 (28,1 a 32)	24	6 (25,0)	0,33 ± 0,76	22	6 (27,3) / 3 (13,6)	1,4 ± 2,7

^γ Apenas presença de manchas brancas.

^φ Presença de manchas brancas e cavidades.

^α Número de crianças em que foram diagnosticadas lesões de cárie – manchas brancas.

^κ Número de crianças em que foram diagnosticadas lesões de cárie - cavidades.

O teste Exato de *Fisher* não aponta diferença entre o número de crianças com e sem lesões de cáries nos subgrupos dentro dos grupos de estudo (p>0,05). Quanto à

prevalência de cárie, medida pelo índice c-d, não se verificou diferença nos valores encontrados dentro dos subgrupos estudados (teste de *Mann Whitney*, $p>0,05$).

Com relação à presença de placa bacteriana estagnada na superfície vestibular dos incisivos superiores, verifica-se um aumento concomitante com o grupo etário da percentagem de crianças com a presença deste critério, para ambos os grupos de estudo conforme pode ser visualizado na figura 5.6.

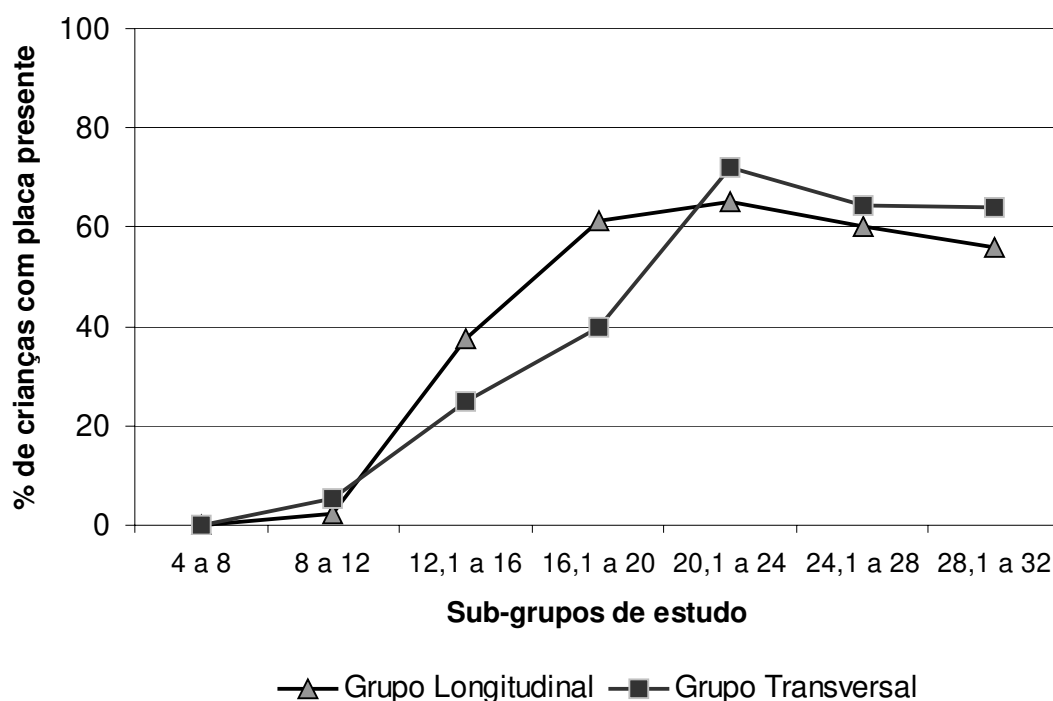


Figura 5.6 – Distribuição percentual de crianças com placa bacteriana visível, por subgrupos etários, segundo os grupos de estudo.

O teste Exato de *Fisher* não aponta diferença entre o número de crianças com placa estagnada presente nos subgrupos dentro dos grupos de estudo ($p>0,05$).

6. DISCUSSÃO

Este estudo foi delineado com o intuito de se detectar e monitorar a aquisição e a estabilidade da colonização de EGM em uma população de crianças proveniente de famílias de baixo nível econômico. Estas crianças foram submetidas a um programa de promoção de saúde bucal, baseado no estímulo à rotina de higienização bucal freqüente. Suas mães foram envolvidas no programa, através da adequação odontológica de sua cavidade bucal, do ensinamento dos conceitos relacionados à importância da rotina de higiene bucal como parte da saúde geral, do recebimento bimestral do material necessário para a adequada realização da higienização para todos os membros da família residentes na mesma casa, além de serem comunicadas, durante os exames bimestrais, a respeito da condição de higienização da cavidade bucal de seus filhos. Como controle, optou-se por selecionar crianças submetidas às mesmas condições de alimentação e cuidados nas creches e que estivessem enquadradas na faixa etária correspondente ao início e ao término do programa preventivo realizado nas crianças do grupo longitudinal, sem, contudo terem passado, inicialmente, pelos procedimentos relacionados ao programa preventivo.

Através da tabulação das respostas obtidas com o preenchimento dos questionários, as mães de ambos os grupos de estudo apresentam semelhanças quanto aos aspectos pessoais e características econômico-demográficas. Caracterizam-se por ser uma população jovem, com nível de escolaridade predominante variando de até 1º grau a até 2º grau. A maioria das mães divide a vida e suas responsabilidades com um companheiro, sendo esta união legal ou informal, além de exercerem uma atividade remunerada, o que

torna o contato com a criança, para a maioria das mães em ambos os grupos de estudo restrito a um período do dia.

Com relação ao grupo longitudinal, a metodologia e o protocolo aplicados neste estudo, com colheitas bimestrais de amostras para análise microbiológica, de vários sítios da cavidade bucal, diferem consideravelmente dos estudos realizados anteriormente, em que geralmente foram coletadas, em uma única ocasião, apenas amostras de um ou dois sítios da cavidade bucal (Milgrom *et al.*, 2000; Ramos-Gomez *et al.*, 2002; Tanner *et al.*, 2002) ou em dois momentos distintos (Wan *et al.*, 2001a,b). Apenas Caufield, Cutter & Dasanayake (1993) realizaram colheitas de saliva e placa bacteriana com intervalos de 3 meses durante 3 anos de acompanhamento; Tedjosasongko & Kozai (2002) colheitas mensais de placa bacteriana por 30 meses, Gripp & Schlagenhauf (2002) colheitas semestrais de saliva e placa bacteriana interproximal por 2 anos de acompanhamento e Wan *et al.* (2003) colheitas trimestrais por 21 meses de amostras de placa bacteriana e do dorso da língua.

A opção por esta metodologia de avaliação longitudinal teve como fundamental objetivo o conhecimento da estabilidade ou não da colonização microbiana na criança. Verificou-se a presença de EGM em edêntulos em ambos os grupos de estudo. Neste sentido, uma vez que o risco de cárie aumenta com a precocidade da aquisição destes microrganismos (Köhler *et al.*, 1988 Baehni & Guggenheim, 1996; Mattos-Graner *et al.*, 1998; Wan *et al.*, 2001b), sua presença na cavidade bucal antes da erupção dos primeiros dentes traz informações significantes aos conceitos da etiologia da cárie dentária.

Berkowitz, Jordan & White (1975); Caufield, Cutter & Dasanayake (1993); Bowden & Edwardsson (1995); Berkowitz (1996); Horowitz (1998) e Karn, O'Sullivan &

Tinanoff (1998) verificaram que *S. mutans* só poderiam ser detectados através do método de cultura após a erupção dentária, sugerindo que para sua efetiva colonização seja necessária uma superfície dura e não descamante para a aderência bacteriana, como a oferecida após a erupção dentária. Nesta linha de raciocínio, Berkowitz, Jordan & White (1975) detectaram EGM em duas de dez crianças com palatos fissurados que utilizavam obturadores palatinos de acrílico, suportando a idéia de que para a efetiva colonização seja necessária a presença de superfícies que não descamem, permitindo assim a aderência dos microrganismos e a sua sucessão.

Estudo com modelo animal, realizado por Ooshima (1988), verificou uma coincidência da época da aquisição inicial de EGM com a erupção dos molares decíduos, fato também observado em estudo de Caufield, Cutter & Dasanayake (1993) e de Tedjosongko & Kozai (2002) envolvendo populações de bebês saudáveis.

No entanto, outros estudos, utilizando a cultura para checagem microbiana, sugerem que esta espécie pode colonizar crianças na mais precoce idade, sem a presença de dentes erupcionados, em uma prevalência relatada que varia de 30 a 60% (Wan *et al.*, 2001a,b; Ramos-Gomez *et al.*, 2002). Estudos em que a presença de microrganismos nas amostras coletadas foi avaliada através de técnicas moleculares também confirmam este achado, com prevalências variando de 25% a 64% da amostra (Milgrom *et al.*, 2000; Tanner *et al.*, 2002).

Os dados deste trabalho, porém, indicam que a presença de EGM em cavidades bucais edêntulas foi apenas transitória, uma vez que a sua detecção não pôde ser verificada durante a colheita subsequente utilizada para a confirmação da aquisição no GL. Deste modo é possível que em outros estudos, envolvendo apenas uma visita para a colheita de

amostras, a presença de EGM em edêntulos possa ter sido um achado ocasional, erroneamente interpretado como uma colonização (Milgrom *et al.*, 2000; Ramos-Gomez *et al.*, 2002; Tanner *et al.*, 2002).

No entanto, estudos verificaram a presença de *S. mutans* em edêntulos, mesmo durante a colheita de confirmação subsequente, relacionando-a com características singulares nas crianças, como a presença Nódulos de Bohn (Wan *et al.*, 2001b) e amamentação natural sob livre demanda (Wan *et al.*, 2001a); ou com condições maternas específicas, como indicadores positivos de doença periodontal, reduzidas frequências relatadas de higienização bucal, maior consumo de carboidratos fermentáveis e baixos níveis econômico e de instrução formal (Wan *et al.*, 2001a). Com base na literatura, nota-se que este é um ponto que ainda merece investigação, atentando-se especialmente ao tempo entre a colheita de diagnóstico e a de confirmação, pois no intervalo considerado nos estudos acima relatados (3 meses) deve-se considerar a possibilidade de reinfecção da cavidade bucal das crianças avaliadas.

Com relação aos métodos para cultivo de microrganismos utilizados, a técnica de coleta de amostras em mais de um dos sítios bucais em adição à colheita de saliva, permitiu uma maior probabilidade de cultura positiva de EGM. Berkowitz, Jordan & White (1975) relatam que a escolha do sítio de colheita é um importante parâmetro para a detecção da aquisição inicial destes microrganismos. De acordo com Milgrom *et al.* (2000) e Tanner *et al.* (2002), a frequência de detecção da aquisição inicial de EGM no dorso da língua confirma a idéia de que este sítio representa um importante reservatório de microrganismos potencialmente patogênicos. No entanto, devido à variabilidade na detecção em relação aos nichos, considerando-se individualmente cada criança, aconselha-se a colheita de amostras

em mais de um sítio concomitante provendo assim uma maior probabilidade da detecção da época inicial de aquisição, o que está de acordo com os achados de Grönroos & Alaluusua (2000).

A microbiota oral de infantes é considerada menos complexa do que a de adultos, com o número de espécies detectadas aumentando concomitante à idade das crianças (Tanner *et al.*, 2003). Das 33 crianças que iniciaram o acompanhamento longitudinal, 29 apresentaram pelo menos 1 colheita positiva para EGM. Nesta ocasião, duas (7,0%) eram edêntulas, 11 (37,9%) apresentavam apenas dentes do grupo dos incisivos erupcionados e 16 (55,1%) apresentavam pelo menos um dos molares irrompidos. O número de dentes irrompidos relacionou-se com a época de verificação da aquisição inicial por EGM, o que está de acordo com os dados obtidos em estudos realizados por Berkowitz, Jordan & White (1975); Catalonato, Shklair & Keene (1975); Köhler, Andreén & Johnsson (1988); Fujiwara *et al.* (1991); Caufield, Cutter & Dasanayake (1993); Karn, O'Sullivan & Tinanoff (1998) e Mohan *et al.* (1998). Os achados relacionados ao grupo transversal complementam este princípio, já que se verifica que 20,9% das crianças apenas com os incisivos erupcionados apresentavam-se colonizadas, enquanto que 52,9% daquelas com pelo menos um molar decíduo presente na boca tiveram colheita positiva para EGM.

Com relação à época de erupção dentária, a correlação verificada neste estudo complementa as informações encontradas em estudos anteriores (Caufield, Cutter & Dasanayake, 1993; Dasanayake *et al.*, 1993; Li & Caufield, 1995; Mohan *et al.*, 1998).

É relatado na literatura que os EGM apresentam um período ideal para a efetivação de sua colonização. O clássico estudo de Caufield, Cutter & Dasanayake (1993) indica que os EGM são transmitidos em um período definido de tempo denominado janela

de infectividade. Com relação a este aspecto temporal, de posse do conhecimento de que o período relacionado à janela pode se alterar de acordo com as características epidemiológicas, sociais e culturais da população estudada (Alaluusua, 1991; Caufield, Cutter & Dasanayake, 1993; Horowitz, 1998), achou-se necessário determinar esta alteração em crianças brasileiras de baixo nível econômico e restrito contato materno desde a mais tenra idade.

Em um estudo epidemiológico realizado em crianças brasileiras (Mattos-Graner *et al.*, 1998), verificou-se que a colonização foi precoce comparada ao período uma vez descrito, sugerindo uma antecipação da janela de infectividade. Considerando-se a possibilidade da ocorrência de contato transitório com a espécie de microrganismo estudada, a verificação da estabilidade da colonização de EGM no grupo longitudinal, pôde ser analisada através dos dados de 26 voluntários que terminaram o acompanhamento bimestral de dois anos. Estes resultados permitiram observar que o intervalo de 2 meses entre as colheitas foi fundamental para o discernimento entre colonização efetiva e transitória, pois em alguns casos na colheita subsequente àquela que se mostrou positiva para *S. mutans* e/ou *S. sobrinus* pela primeira vez, tais espécies não foram detectadas, classificando-se como transitório o contato com o microrganismo isolado.

A ocorrência de uma única colheita positiva ou de colheitas positivas não consecutivas pode ser explicada tanto pela fase de desenvolvimento da microbiota das crianças (Könönen, 2000) quanto pela possibilidade de que os níveis de microrganismos presentes nos microambientes bucais avaliados estivessem abaixo do limite de sensibilidade do método utilizado para o diagnóstico microbiológico (Alaluusua, Myllarniemi & Kallio, 1989; Redmo Emanuelsson & Thornqvist, 2001, Tanner *et al.*, 2003). Porém, isto não

exclui o fato de que o período de 2 meses entre as colheitas possa ser insuficiente para avaliar as variações no padrão de colonização das espécies em análise. Deste modo, para um monitoramento mais específico da dinâmica de colonização por *S. mutans* e *S. sobrinus*, talvez seja necessária a realização de um acompanhamento com intervalos entre as colheitas ainda menores.

Dentre as 20 crianças classificadas como colonizadas, observou-se que o período em que foi verificada a colonização foi anterior ao período médio consagrado na literatura (Caufield, Cutter & Dasanayake, 1993), o que está de acordo com estudos que relatam a iniciação da cárie dentária em idades anteriores à abertura da janela relatada (Mohan *et al.*, 1998; Mattos-Graner *et al.*, 1998; Wan *et al.*, 2001a), já que a presença da infecção bacteriana, embora não suficiente, é necessária para a iniciação da doença (Burt *et al.*, 1983; Carlsson, Olsson & Bratthall, 1985; Li, Wang & Caufield, 2000; Mattos-Graner *et al.*, 2001a).

Esta precocidade da aquisição foi também relatada por inúmeros estudos, com acompanhamento longitudinal da colonização (Matsuda *et al.*, 1979; Tedjosongko & Kozai, 2002; Wan *et al.*, 2003), ou naqueles em que a colonização verificada foi considerada através da presença ou ausência de EGM apenas na colheita de diagnóstico (Mohan *et al.*, 1998; Karn, O'Sullivan & Tinanoff, 1998; Milgrom *et al.*, 2000; Tanner *et al.*, 2002).

EGM não são normalmente encontrados livres na natureza. É provável que os recém nascidos sejam infectados por indivíduos com elevados níveis de EGM em sua cavidade bucal que têm um contato freqüente com a criança (Alaluusua, 1991). Contatos salivares diretos ou indiretos durante as atividades diárias fornecem oportunidade para a

repetida transferência de bactérias entre as pessoas, constituindo uma importante rota para a colonização bucal bacteriana (Könönen, 2000). Resultados de muitos estudos sugerem que a mãe é a principal fonte de infecção infantil destes microrganismos, havendo uma relação diretamente proporcional entre a magnitude da contagem salivar materna e o potencial de infecção de seu filho (Berkowitz, Turner & Green, 1980; Wan *et al.*, 2001b; Li & Caufield, 1995; Caufield, 1997).

Considerando-se a participação das mães apenas no grupo de acompanhamento longitudinal, uma vez que elas são fundamentais para a realização do programa preventivo proposto, das 33 mulheres que iniciaram o estudo, todas apresentaram níveis detectáveis de EGM em suas salivas estimuladas. Das 26 mães que completaram o período de acompanhamento, a diferença dos níveis salivares médios daquelas que os filhos apresentaram colonização permanente ou transiente, pode aparentemente, representar um paradoxo.

A relação encontrada entre a contagem microbiana materna e o potencial de infecção do bebê por Berkowitz *et al.* (1980), Wan *et al.* (2001a) e Thorild, Lindau-Jonson & Twetman (2002) não pode ser verificada neste estudo, provavelmente porque as mães do grupo longitudinal possuíam quantidades elevadas dos microrganismos em suas salivas, e tenham tido sua cavidade bucal adequada, porém sem a prescrição de soluções antimicrobianas. Köhler & Bratthall (1978), Aaltonen & Tenovuo (1994) e Redmo Emanuelsson, Li & Bratthall (1998) verificaram que não houve transmissão entre pares com a mãe altamente infectada, o que está de acordo com os resultados deste estudo, já que o contato transitório não pode ser caracterizado como uma colonização bem sucedida.

O sucesso da colonização é dependente de inúmeros outros fatores tais como as características culturais e ambientais da população estudada (Li, Wang, Caufield, 2000), o número de dentes erupcionados (Berkowitz, Jordan & White, 1975; Catalonato, Shklair & Keene, 1975; Köhler, Andreén & Johnsson, 1988; Fujiwara *et al.*, 1991; Caufield, Cutter & Dasanayake, 1993; Karn, O'Sullivan & Tinanoff., 1998; Mohan *et al.*, 1998; Tedjosongko & Kozai, 2002), a precocidade de erupção dos dentes decíduos (Caufield, Cutter & Dasanayake, 1993; Dasanayake *et al.*, 1993; Li & Caufield, 1995; Mohan *et al.*, 1998; Tedjosongko & Kozai, 2002), a magnitude e frequência de inoculação direta ou indireta (Krasse, 1967; Aaltonen & Tenovu, 1994; Korenstein, Echeverri & Keene, 1995), o desenvolvimento imunológico da criança (Smith *et al.*, 1998), a ação de fatores salivares do sistema imunológico inespecíficos presentes na saliva e mucosas (Caufield, 1997), a presença de hipoplasias de esmalte (Li, Navia & Caufield, 1994) e de nódulos de Bohn (Wan *et al.*, 2001b), o padrão de consumo de sacarose (Köhler & Bratthall, 1978, Van Houte, Gibbs & Butera, 1982), a sobrevivência dos microrganismos durante a transmissão e sua taxa de crescimento (Tedjosongko & Kozai, 2002), além da presença de nutrientes disponíveis para o crescimento bacteriano, carga microbiana nas atendentes da creche e disponíveis para transmissão, além de um período propício para a infecção (Könönen, 2000).

Também se deve atentar às possibilidades citadas por Aaltonen & Tenovu (1994) e Redmo Emanuelsson, Li & Bratthall (1998) de que o contato mãe-criança é bastante variável entre as famílias, além do fato de que estas mães não são as principais responsáveis pela frequência do contato social diário com as crianças, o que pode ser visualizado pela frequência de contato relatada nos questionários entregues.

Crianças que freqüentam creches são expostas a uma maior variedade de espécies bacterianas quando comparadas àquelas que são cuidadas em suas casas (Könönen, 2000).

A possibilidade de ter ocorrido transmissão vertical de EGM nestas crianças deve então ser considerada, uma vez que estas crianças permanecem nas creches por aproximadamente 10 horas por dia, e são cuidadas por outras pessoas que não as suas mães por mais de 50 horas semanais desde o seu quarto mês de vida. Neste sentido, cita-se os resultados encontrados por Klein *et al.* (2003) e Emídio *et al.* (2003) envolvendo os voluntários do presente estudo. O acompanhamento por 20 meses de 16 pares mãe-filho permitiu a conclusão de que as mães foram as principais fontes de infecção por EGM de seus filhos, havendo uma taxa de ocorrência de transmissão vertical de *S. mutans* e de *S. sobrinus* igual a 81,3% e 83,3% respectivamente entre os pares (Klein *et al.*, 2003). Buscando verificar a ocorrência de transmissão horizontal entre as crianças que compartilhavam a mesma sala de uma das EMEIs avaliadas neste estudo, Emídio *et al.*, (2003) não conseguiram encontrar genótipos idênticos entre as crianças, sugerindo que além das mães, fontes alternativas de transmissão devem continuar a ser investigadas.

Em relação aos achados clínicos do presente estudo, 6 crianças do GL apresentaram, ao final de 24 meses de acompanhamento, lesões de cárie iniciais. A população do GT apresentou prevalências de lesões iniciais e/ou cavitadas, crescentes em função do subgrupo de estudo, e com desenvolvimento precoce quando comparadas à idade em que se diagnosticou lesões nas crianças do GL. Em comparação aos resultados obtidos por Mattos-Graner *et al.* (1996), houve uma melhoria do padrão de acometimento da doença para ambos os grupos deste estudo, o que está de acordo com os dados obtidos nos

últimos anos apontando para melhorias nos padrões de saúde bucal em populações brasileiras (Oliveira, 1998, São Paulo, 2002).

Os resultados de isolamento e identificação de EGM neste estudo mostram que *S. mutans* foi mais prevalente em relação ao *S. sobrinus*. Estes dados estão de acordo com o que a literatura tem relatado (Loesche, 1986; Carlsson *et al.*, 1987; van Palenstein Helderma, Ijsseldijk & Huis In't Veld 1983; Stipp *et al.*, 2001). A técnica de PCR foi selecionada para identificação dos isolados em virtude de sua sensibilidade e rapidez em relação aos métodos tradicionais de identificação bioquímica. Ainda, estudos conduzidos neste laboratório, comparando PCR e testes bioquímicos para identificação, mostraram não haver diferenças entre os métodos (Stipp *et al.*, 2001; Matos Nascimento, 2002).

No final do período de acompanhamento, 16, 7 e 3 crianças apresentaram, respectivamente, isolamento positivo de ambos Sm e Ss, apenas Sm e apenas Ss. Dentre as 6 crianças que desenvolveram lesões de cárie iniciais pertencentes ao GL, todas tiveram a colonização por EGM classificada como permanente, sendo que 4 eram colonizadas por ambos Sm e Ss e as outras duas possuíam apenas Sm dentre os isolados. Em acordo com estes resultados, estudos mostram que crianças colonizadas com Sm e Ss apresentam maior prevalência de cárie do que aquelas em que se verificou uma ou outra espécie de microrganismo (Hirose *et al.*, 1993; Nie, Fan & Bian, 2002). Seow, Cheng & Wan (2003) verificaram em estudo longitudinal que desenvolveram lesões de cárie apenas as crianças colonizadas por Sm. Em alguns estudos, Ss não foi detectado em associação com a presença de cárie dentária (Matee *et al.*, 1992), enquanto em outros, sua presença indicava um maior risco para o desenvolvimento de lesões de superfícies lisas quando comparado com a presença de Sm (Hirose *et al.*, 1993). Neste estudo, as crianças que albergavam

apenas Ss não desenvolveram lesões clinicamente detectáveis, no entanto, em função da pequena amostra destas crianças, conclusões poderiam ser prematuras.

Optou-se, no grupo transversal pela identificação de EGM com base nas características morfológicas das cepas, uma vez que, em um primeiro momento, buscava-se apenas o conhecimento da prevalência de colonização neste grupo. Ressalta-se que as cepas isoladas estão armazenadas adequadamente para posterior identificação, o que poderá vir a complementar as informações acima discutidas, visto que no momento da colheita, as crianças apresentavam-se sem influência direta do programa.

Uma vez detectados, os microrganismos estudados estão presentes e em maior número nas colheitas subseqüentes, provavelmente devido ao sucesso da colonização decorrente das recém erupcionadas superfícies dentárias, contribuindo com os achados de Catalonato, Shklair & Keene (1975); Köhler, Andreén & Johnsson (1988) e Wan *et al.* (2003). Deve-se também considerar para este fato as mudanças dos hábitos dietéticos, incluindo o aumento do consumo de sacarose, verificado com o incremento etário (Köhler, Andreén & Johnsson, 1988).

Resultados relativos à qualidade de higienização, avaliada através da presença ou ausência de placa bacteriana estagnada nas superfícies vestibulares dos dentes incisivos superiores apontam que não houve diferença relacionada a este aspecto entre os grupos de estudo, indicando que a estratégia utilizada para a motivação da rotina de higienização não surtiu efeito. Seow, Cheng & Wan (2003), atribuíram o sucesso de seu programa preventivo ao fornecimento gratuito de conjuntos de higienização, fato este realizado bimestralmente, por 2 anos, aos pares pertencentes ao GL. Deve-se considerar que a estratégia de estímulo à prática freqüente de higienização deveria ter sido direcionada também às professoras e

auxiliares das creches, em consonância com os preceitos da educação em saúde bucal, de que para a efetividade do esforço educativo torna-se necessária uma abordagem integrada e multiprofissional incluindo os meios de comunicação social, os profissionais de saúde em geral, o pessoal não-odontológico (Sheiham, 1992) além de professores, especialmente os do ensino infantil e fundamental (Saliba & Saliba, 1970, Rocha & Pereira, 1994).

A tardia iniciação clínica da doença e a ausência de lesões cavitadas em comparação com a condição encontrada no GT e com a verificada em crianças com as mesmas características das deste estudo (Mattos-Graner *et al.*, 1996; Mattos-Graner *et al.*, 1998), mesmo considerando-se que a época de colonização por EGM e a qualidade de higienização não tenham sofrido influência relacionada ao programa preventivo proposto, são pontos bastante positivos que devem ser considerados.

Segundo Tanner *et al.* (2003), medidas preventivas que busquem prevenir ou retardar a colonização de patógenos orais devem ser direcionadas aos cuidadores, ao invés de ser focalizada na seleção de um período no qual a criança deve ser tratada. Busca-se na literatura verificar a ação de procedimentos que visem reduzir os níveis salivares maternos de EGM visando o atraso da colonização de seus filhos (Köhler, Andréen & Jonsson, 1984; Köhler & Andréen, 1994; Dasanayake *et al.*, 1993; Soderling *et al.*, 2000; Isokangas *et al.*, 2000; Dasanayake *et al.*, 2002; Gripp & Schlagenhauf, 2002), no entanto verificou-se que a época em que estes procedimentos são realizados assume importância crucial para o sucesso da conduta (Köhler & Andréen, 1994; Dasanayake *et al.*, 1993; Dasanayake *et al.*, 2002). Busca-se também a aplicação de antimicrobianos na cavidade bucal da criança através da escovação dentária semanal com gel de clorexidina a 0,2% (Wan *et al.*, 2003), no entanto, os resultados obtidos relacionados às contagens microbianas foram fugazes.

Uma vez estabelecidos, os EGM são dificilmente eliminados da cavidade bucal (Könönen, 2000). Sua prevalência é elevada tanto em adultos quanto em escolares, sendo praticamente impossível prevenir a sua disseminação entre a população. A prevalência de crianças colonizadas neste estudo foi elevada em ambos os grupos de estudo, no entanto a prevalência de cárie mostrou-se inferior aos estudos realizados há alguns anos nesta mesma população (Mattos-Graner *et al.*, 1996; Mattos-Graner *et al.*, 1998), o que denota que a simples presença de microrganismos potencialmente cariogênicos na microbiota do indivíduo não é condição *sine qua non* para a iniciação da doença (Burt *et al.*, 1983; Carlsson, Olsson & Bratthall, 1985; Li, Wang & Caufield, 2000; Mattos-Graner *et al.*, 2001a).

Devido a característica multifatorial da doença, para que ocorram sua iniciação e desenvolvimento, é necessário que haja uma inter-relação entre tempo e fatores comportamentais, culturais, sociais e biológicos inerentes ao hospedeiro. A coexistência harmônica com o hospedeiro é perturbada no momento em que alterações ambientais influenciem o equilíbrio do ecossistema bucal fazendo com que microrganismos com melhor capacidade adaptativa passem a agir como patógenos, predispondo o hospedeiro a doença (Marsh, 1991).

Neste contexto, deve-se repensar se o mais importante seria a prevenção da infecção por EGM ou a sua manutenção compatível com a saúde. Neste estudo, todas as mães foram submetidas à adequação odontológica na fase em que suas crianças ainda estavam edêntulas, além disso, foram incluídas em um programa educativo focalizado no tratamento da cárie como uma doença multifatorial, considerando-se a possibilidade de seu

controle através da remoção freqüente do agente etiológico com o estímulo à realização freqüente da remoção de placa bacteriana.

Segundo Wright *et al.* (1992), o tratamento restaurador convencional, medida amplamente utilizada para lidar com a doença, baseia-se na remoção do tecido cariado seguida de sua substituição por materiais restauradores. É adequado para o restabelecimento da função, porém não especificamente focalizado no controle da infecção desequilibrada, apresentando uma transiente capacidade de redução de níveis salivares de EGM.

Buscam-se, portanto, procedimentos que consigam manter em equilíbrio a microbiota do indivíduo. Além do efeito cárie preventivo, estudos clínicos demonstraram que o controle e a reversão da doença cárie depende principalmente da contínua supressão da atividade microbiana pelo impedimento de seu depósito e crescimento, sendo razoável concluir que a remoção mecânica freqüente do biofilme bacteriano é a única razão para o controle e a paralisação do processo carioso (Nyvad e Fejerskov, 1986; Holmen, Thylstrup & Årtun., 1987a,b).

Com este objetivo, a família, as crianças e especialmente o profissional responsável pelos cuidados diários da criança devem ser constantemente motivados para manterem sua saúde bucal, realizando com freqüência e qualidade os procedimentos de remoção de placa. A motivação do paciente foi abordada por König (1994) que considera que a prevenção e o tratamento da doença devem ser baseados em ações freqüentes e constantes, onde o profissional de saúde tem a função de motivar seus pacientes na tentativa de levar a uma consciente mudança de comportamento em direção à condutas de baixo risco. Fatores como conhecimento, motivação e cooperação são pré-requisitos

indispensáveis para a efetividade da educação em saúde, através do incentivo à higiene oral pessoal como principal objetivo. Ressalta-se que a frequência de contato odontológico neste grupo de estudo, pode representar um importante obstáculo para a implementação de programas de prevenção com este enfoque (Kay & Locker, 1996), no entanto se estes profissionais forem utilizados na capacitação de pessoal não odontológico, torna-se viável esta realização.

Deve-se salientar que os níveis orais de EGM são a melhor variável para identificar pré-escolares sob elevado risco para o desenvolvimento da doença (Mattos-Graner *et al.*, 2000) e a época de aquisição mostra-se relacionada com o risco para o desenvolvimento da doença nesta faixa etária (Mattos-Graner *et al.*, 1998, Baehni & Guggenheim, 1996). Assim, programas materno-infantis bem organizados e um efetivo aconselhamento dos pais devem ser estimulados, envolvendo rotas de infecção e o papel da dieta na infecção bacteriana, que apresentam uma grande importância no controle de uma complexa doença como a cárie dentária, especialmente em populações onde o contato com profissional odontológico é bastante raro. Considerando a importância da precocidade da aquisição de EGM como um preditor de cárie, estes resultados demonstram uma antecipação na janela de infectividade uma vez relatada, sugerindo a necessidade de reconsideração em alguns programas de odontologia para bebês, que priorizam os ensinamentos relacionados à janela uma vez delimitada.

7. CONCLUSÃO

Através dos resultados obtidos neste estudo, é válido concluir que:

- A aquisição de EGM pelas crianças da amostra apresentou-se precoce em relação ao momento estabelecido na literatura como janela de infectividade;
- Ao final de 24 meses de acompanhamento bimestral, a estabilidade da colonização por EGM foi verificada em 20 crianças, das 26 que completaram o período de acompanhamento do estudo.
- Nenhuma das características maternas avaliadas apresentou influência na época de colonização por EGM nas crianças da amostra. A idade de erupção dos dentes e o número de dentes erupcionados mostraram-se importantes para a época de aquisição e colonização de EGM nas crianças.
- O padrão de colonização das crianças do GT mostrou-se semelhante ao verificado nas crianças do GL.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS^γ

1. AALTONEN AS, TENOVUO J. Association between mother-infant salivary contacts and caries resistance in children: a cohort study. *Pediatr Dent*. 1994;16(2):110-6.
2. ALALUUSUA S, MALMIVIRTA R. Early plaque accumulation--a sign for caries risk in young children. *Community Dent Oral Epidemiol*. 1994;22(5 Pt 1):273-6.
3. ALALUUSUA S, MYLLARNIEMI S, KALLIO M. Streptococcus mutans infection level and caries in a group of 5-year-old children. *Caries Res*. 1989;23(3):190-4.
4. ALALUUSUA S, RENKONEN OV. Streptococcus mutans establishment and dental caries experience in children from 2 to 4 years old. *Scand J Dent Res*. 1983; 91(6):453-7.
5. ALALUUSUA S. Transmission of mutans streptococci. *Proc Finn Dent Soc*. 1991;87(4):443-7.
6. AMERICAN ACADEMY OF PEDIATRIC DENTISTRY: Guidelines for behaviour management. *Paediatric Dentistry*. 1998, 20(6).
7. ARROW P. Oral hygiene in the control of occlusal caries. *Community Dent Oral Epidemiol*. 1998;26(5):324-30.
8. BAEHNI PC, GUGGENHEIM B. Potential of diagnostic microbiology for treatment and prognosis of dental caries and periodontal diseases. *Crit Rev Oral Biol Med*. 1996;7(3):259-77.
9. BERKOWITZ R. Etiology of nursing caries: a microbiologic perspective. *J Public Health Dent*. 1996;56(1):51-4.
10. BERKOWITZ RJ, JORDAN HV, WHITE G. The early establishment of Streptococcus mutans in the mouths of infants. *Arch Oral Biol*. 1975;20(3):171-4.
11. BERKOWITZ RJ, TURNER J, GREEN P. Primary oral infection of infants with Streptococcus mutans. *Arch Oral Biol*. 1980;25(4):221-4.

^γ Com base no modelo *Vancouver*. Abreviatura dos Periódicos em conformidade com o *Medline*.

12. BONECKER M, MARCENES W, SHEIHAM A. Caries reductions between 1995, 1997 and 1999 in preschool children in Diadema, Brazil. *Int J Paediatr Dent*. 2002;12(3):183-8.
13. BOWDEN G, EDWARDSSON S. Ecologia oral e a cárie dentária. In: *Cariologia Clínica* Ed Santos p.45-62, 1995.
14. BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Políticas de Saúde. Departamento de Atenção Básica. Área Técnica de Saúde Bucal. Projeto SB2000: condições de saúde bucal da população brasileira no ano 2000. Ante projeto para discussão. 1999.39 p.
15. BROWN JP, JUNNER C, LIEW V. A study of *Streptococcus mutans* levels in both infants with bottle caries and their mothers. *Aust Dent J*. 1985;30(2):96-8.
16. BUISCHI YP, AXELSSON P. Controle mecânico da placa dental realizado pelo paciente. In: *ABOPREV - Promoção de Saúde Bucal*. São Paulo: Artes Médicas, 1a Edição, p.113-29, 1997.
17. BURT BA, LOESCHE WJ, EKLUND SA, EARNEST RW. Stability of *Streptococcus mutans* and its relationship to caries in a child population over 2 years. *Caries Res*. 1983;17(6):532-42.
18. CARLSSON J, GRAHNEN H, JONSSON G, WIKNER S. Early establishment of *Streptococcus salivarius* in the mouth of infants. *J Dent Res*. 1970;49(2):415-8.
19. CARLSSON P, OLSSON B, BRATTHALL D. The relationship between the bacterium *Streptococcus mutans* in the saliva and dental caries in children in Mozambique. *Arch Oral Biol*. 1985;30(3):265-8.
20. CATALANOTTO FA, SHKLAIR IL, KEENE HJ. Prevalence and localization of *Streptococcus mutans* in infants and children. *J Am Dent Assoc*. 1975;91(3):606-9.
21. CAUFIELD PW, CUTTER GR, DASANAYAKE AP. Initial acquisition of mutans streptococci by infants: evidence for a discrete window of infectivity. *J Dent Res*. 1993 Jan;72(1):37-45.
22. CAUFIELD PW, DASANAYAKE AP, LI Y, PAN Y, HSU J, HARDIN JM. Natural history of *Streptococcus sanguinis* in the oral cavity of infants: evidence for a discrete window of infectivity. *Infect Immun*. 2000;68(7):4018-23.

23. CAUFIELD PW. Dental caries--a transmissible and infectious disease revisited: a position paper. *Pediatr Dent*. 1997;19(8):491-8.
24. CYPRIANO S, SOUSA MLR, RIHS LB, WADA RS. Saúde bucal dos pré-escolares, Piracicaba, Brasil, 1999 *Rev Saúde Pública* 2003;37(2):247-53.
25. DASANAYAKE AP, CAUFIELD PW, CUTTER GR, ROSEMAN JM, KOHLER B. Differences in the detection and enumeration of mutans streptococci due to differences in methods. *Arch Oral Biol*. 1995;40(4):345-51.
26. DASANAYAKE AP, CAUFIELD PW, CUTTER GR, STILES HM. Transmission of mutans streptococci to infants following short term application of an iodine-NaF solution to mothers' dentition. *Community Dent Oral Epidemiol*. 1993;21(3):136-42.
27. DASANAYAKE AP, WIENER HW, LI Y, VERMUND SV, CAUFIELD PW. Lack of effect of chlorhexidine varnish on *Streptococcus mutans* transmission and caries in mothers and children. *Caries Res*. 2002;36(4):288-93.
28. DE BARROS SG, ALVES AC, PUGLIESE LS, REIS SR. Contribution to the study of dental caries in 0-30-month-old infants. *Pesqui Odontol Bras*. 2001;15(3):215-22.
29. DE STOPPELAAR JD, VAN HOUTE J, BACKER DIRKS O. The effect of carbohydrate restriction on the presence of *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sanguis* and iodophilic polysaccharide-producing bacteria in human dental plaque. *Caries Res*. 1970;4(2):114-23.
30. DENEPITIYA L, KLEINBERG I. A comparison of the microbial compositions of pooled human dental plaque and salivary sediment. *Arch Oral Biol*. 1982;27(9):739-45.
31. DINI EL, HOLT RD, BEDI R. Caries and its association with infant feeding and oral health-related behaviours in 3-4-year-old Brazilian children. *Community Dent Oral Epidemiol*. 2000;28(4):241-8.
32. EDWARDSSON S, MEJARE B. *Streptococcus milleri* (Guthof) and *Streptococcus mutans* in the mouths of infants before and after tooth eruption. *Arch Oral Biol*. 1978;23(9):811-4.

33. EMANUELSSON IR, THORNQVIST E. Genotypes of mutans streptococci tend to persist in their host for several years. *Caries Res.* 2000;34(2):133-9.
34. EMÍDIO TCS, FLÓRIO FM, KLEIN MI, PEREIRA AC, HÖFFLING JF, GONÇALVES RB. Investigação genotípica de isolados de *Streptococcus mutans* provenientes de crianças que freqüentam creches In: 20ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de pesquisa Odontológica - SBPqO, 2003, Águas de Lindóia. *Revista de Pesquisa Odontológica Brasileira*, 17: 62, 2003.
35. EMILSON CG. Prevalence of *Streptococcus mutans* with different colonial morphologies in human plaque and saliva. *Scand J Dent Res.* 1983;91(1):26-32.
36. FLORIO FM, PEREIRA AC, MENEHIM MDE C, RAMACCIATO JC. Evaluation of non-invasive treatment applied to occlusal surfaces. *ASDC J Dent Child.* 2001;68(5-6):326-31, 301.
37. FLÓRIO FM, PEREIRA AC. Alicerce para a promoção de saúde bucal – o início precoce. In PEREIRA AC & Colaboradores, *Odontologia em saúde coletiva: planejando ações e promovendo saúde*. 1ª edição – Porto Alegre: Artmed, 2003.
38. FREIRE M DO C, DE MELO RB, ALMEIDA E SILVA S. Dental caries prevalence in relation to socioeconomic status of nursery school children in Goiania-GO, Brazil. *Community Dent Oral Epidemiol.* 1996;24(5):357-61.
39. FUJIWARA T, SASADA E, MIMA N, OOSHIMA T. Caries prevalence and salivary mutans streptococci in 0-2-year-old children of Japan. *Community Dent Oral Epidemiol.* 1991;19(3):151-4.
40. GAVAZZI JC, HÖFLING JF, BEN HUR WM, PETERS CF, USBERTI AC. Previsores do incremento de cárie em crianças escolares brasileiras. *Rev Assoc Paul Cir Dent.* 1995; 49(1):40-6.
41. GIBBONS RJ. Microbial ecology. Adherent interactions which may affect microbial ecology in the mouth. *J Dent Res.* 1984; 63(3): 378-85.
42. GIBBONS, R.J.; VAN HOUTE, J. Bacterial adherence in oral microbial ecology. *Ann Rev Microbiol.* 1975; 29: 19-44.

43. GIBBONS, R.J.; VAN HOUTE, J. Selective bacterial adherence to oral epithelial surfaces and its role as an ecological determinant. *Infect Immun*, Washington. 1971; 3: 567-573.
44. GOLD OC, JORDAN HV, VAN HOUTE J. A selective medium for *S. mutans*. *Arch Oral Biol* 1973; 18:1356-64.
45. GONÇALVES RB, FLÓRIO FM. Ecologia microbiana da cavidade bucal. In PEREIRA AC & Colaboradores, *Odontologia em saúde coletiva: planejando ações e promovendo saúde*. 1ª edição – Porto Alegre: Artmed, 2003.
46. GRENIER D, MAYRAND D. Nutritional relationship between oral bacteria. *Infect Immun*. 1986;53(3): 616-620.
47. GRINDEFJORD M, DAHLLOF G, NILSSON B, MODEER T. Stepwise prediction of dental caries in children up to 3.5 years of age. *Caries Res*. 1996;30(4):256-66.
48. GRINDEFJORD M, DAHLLOF G, WIKNER S, HOJER B, MODEER T. Prevalence of *mutans streptococci* in one-year-old children. *Oral Microbiol Immunol*. 1991;6(5):280-3.
49. GRIPP VC, SCHLAGENHAUF U. Prevention of early *mutans streptococci* transmission in infants by professional tooth cleaning and chlorhexidine varnish treatment of the mother. *Caries Res*. 2002;36(5):366-72.
50. GRÖNROOS L, ALALUUSUA S. Site-specific oral colonization of *mutans streptococci* detected by arbitrarily primed PCR fingerprinting. *Caries Res*, 2000;34(6):474-480.
51. HAUSEN H, SEPPÄ L, FEJERSKOV O. A cárie dentária pode ser previsível? In: THYLSTRUP A, FEJERSKOV O. *Cariologia Clínica*. São Paulo: Livraria e Editora Santos Ltda. 2a Edição, 1995. p.407-11.
52. HILLMAN JD, SOCRANSKY SS, SHIVERS M. The relationships between streptococcal species and periodontopathic bacteria in human dental plaque. *Arch Oral Biol*. 1985;30(11-12):791-5.

53. HIROSE H, HIROSE K, ISOGAI E, MIURA H, UEDA I. Close association between *Streptococcus sobrinus* in the saliva of young children and smooth-surface caries increment. *Caries Res.* 1993;27(4):292-7.
54. HOLM AK. Caries in the preschool child: international trends. *J Dent.* 1990;18(6):291-5.
55. HOLMEN L, THYLSTRUP A, ARTUN J. Clinical and histological features observed during arrestment of active enamel carious lesions in vivo. *Caries Res.* 1987;21(6):546-54.
56. HOROWITZ HS. Research issues in early childhood caries. *Community Dent Oral Epidemiol.* 1998;26(1 Suppl):67-81. Review.
57. ISMAIL AI. Prevention of early childhood caries. *Community Dent Oral Epidemiol.* 1998;26(1 Suppl):49-61.
58. ISOKANGAS P, SODERLING E, PIENIHAKKINEN K, ALANEN P. Occurrence of dental decay in children after maternal consumption of xylitol chewing gum, a follow-up from 0 to 5 years of age. *J Dent Res.* 2000;79(11):1885-9.
59. KARN TA, O'SULLIVAN DM, TINANOFF N. Colonization of mutans streptococci in 8- to 15-month-old children. *J Public Health Dent.* 1998;58(3):248-9.
60. KAY EJ, LOCKER D. Is dental education effective? A systematic review of current evidence. *Community Dent Oral Epidemiol.* 1996;24:231-35.
61. KEYES PH. The infectious and transmissible nature of experimental dental caries. *Arch Oral Biol.* 1960; 1: 304-20.
62. KLEIN MI, FLÓRIO FM, HÖFLING JF, PEREIRA AC, GONÇALVES RB. Perfil de colonização da cavidade bucal de crianças por *Streptococcus mutans* e por *Streptococcus sobrinus*. In: 20ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de pesquisa Odontológica - SBPqO, 2003, Águas de Lindóia. *Revista de Pesquisa Odontológica Brasileira*, 17: 180, 2003.
63. KLEIN MI, FLÓRIO FM, HÖFLING JF, PEREIRA AC, GONÇALVES RB. Transmission, diversity and stability of *S. mutans* genotypes: a longitudinal study in children. *J Dent Res* 2002; 81 (spec iss B): 1345.

64. KOHLER B, ANDREEN I, JONSSON B, HULTQVIST E. Effect of caries preventive measures on *Streptococcus mutans* and lactobacilli in selected mothers. *Scand J Dent Res*. 1982;90(2):102-8.
65. KOHLER B, ANDREEN I, JONSSON B. The earlier the colonization by mutans streptococci, the higher the caries prevalence at 4 years of age. *Oral Microbiol Immunol*. 1988;3(1):14-7.
66. KOHLER B, ANDREEN I, JONSSON B. The effect of caries-preventive measures in mothers on dental caries and the oral presence of the bacteria *Streptococcus mutans* and lactobacilli in their children. *Arch Oral Biol*. 1984;29(11):879-83.
67. KOHLER B, ANDREEN I. Influence of caries-preventive measures in mothers on cariogenic bacteria and caries experience in their children. *Arch Oral Biol*. 1994;39(10):907-11.
68. KOHLER B, BRATTHALL D, KRASSE B. Preventive measures in mothers influence the establishment of the bacterium *Streptococcus mutans* in their infants. *Arch Oral Biol*. 1983;28(3):225-31.
69. KOHLER B, BRATTHALL D. Intrafamilial levels of *Streptococcus mutans* and some aspects of the bacterial transmission. *Scand J Dent Res*. 1978;86(1):35-42.
70. KOLENBRANDER PE, ANDERSEN RN. Multigeneric aggregations among oral bacteria: a network of independent cell-to-cell interactions. *J Bacteriol*. 1986;168(2):851-9.
71. KONIG KG. Implications of changes in caries prevalence on research. *Int Dent J*. 1994;44(4 Suppl 1):451-6.
72. KÖNÖNEN E. Development of oral bacterial flora in young children. *Ann Med* 2000; 32:107-12.
73. KORENSTEIN K, ECHEVERRI EA, KEENE HJ. Preliminary observations on the relationship between mutans streptococci and dental caries experience within black, white, and Hispanic families living in Houston, Texas. *Pediatr Dent*. 1995;17(7):445-50.

74. KOZLOWSKI FC. Relação entre o fator socioeconômico e a prevalência e severidade de fluorose e cárie dentária. Piracicaba, SP. Tese de Mestrado, Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Odontologia de Piracicaba., 2001.
75. KRASSE B, EDWARDSSON S, SVENSSON I, TRELL L. Implantation of caries-inducing streptococci in the human oral cavity. *Arch Oral Biol.* 1967;12(2):231-6.
76. KREIBORG S, RASMUSSEN P, THESLEFF I. Normal dental and occlusal development. In: *Pedodontics – A clinical approach*. Koch G, Modéer T, Poulsen S, Rasmussen P. eds. Munksgaard: Copenhagen 1991, 48p.
77. LEAVELL HR, CLARK EG. Preventive medicine for the doctor in his community. An epidemiological approach. New York, Mc Graw Hill, 1958, p.20-29.
78. LI Y, CAUFIELD PW. The fidelity of initial acquisition of mutans streptococci by infants from their mothers. *J Dent Res.* 1995;74(2):681-5
79. LI Y, NAVIA JM, CAUFIELD PW. Colonization by mutans streptococci in the mouths of 3- and 4-year-old Chinese children with or without enamel hypoplasia. *Arch Oral Biol.* 1994;39(12):1057-62.
80. LI Y, WANG W, CAUFIELD PW. The fidelity of mutans streptococci transmission and caries status correlate with breast-feeding experience among Chinese families. *Caries Res.* 2000;34(2):123-32.
81. LINDQUIST B. Mutans streptococci in human dentition. Thesis, Göteborg, University of Göteborg, 1991.
82. LOESCHE WJ. Role of *Streptococcus mutans* in humans decay. *Microbiol Review.* 1986, 50: 353-80. LOESCHE WJ. Role of *Streptococcus mutans* in humans decay. *Microbiol Review.* 1986, 50: 353-80.
83. MALTZ M, CARVALHO J. Diagnóstico da doença cárie in: *ABOPREV - Promoção de Saúde Bucal*, São Paulo: Artes Médicas, 1997, p.69-92.
84. MARSH PD. Sugar, fluoride, pH and microbial homeostasis in dental plaque. *Proc Finn Dent Soc.* 1991;87(4):515-25.

85. MARTINS ALCF, FERNÁNDEZ FRC, CORRÊA MSNP, GUERRERA AC. A cárie dentária. In: CORRÊA MSNP. Odontopediatria na primeira infância. São Paulo: Santos, 1998. 679 p., Cap. 17, p. 195 – 207.
86. MASUDA N, TSUTSUMI N, SOBUE S, HAMADA S. Longitudinal survey of the distribution of various serotypes of Streptococcus mutans in infants. J Clin Microbiol. 1979 Oct;10(4):497-502.
87. MATEE MI, MIKX FH, MASELLE SY, VAN PALENSTEIN HELDERMAN WH. Mutans streptococci and lactobacilli in breast-fed children with rampant caries. Caries Res 1992; 26(3):183-7.
88. MATOS NASCIMENTO, M. Polimorfismo genético de Streptococcus mutans isolados da cavidade oral de indivíduos com lesões de cáries coronária e radicular. Tese de Mestrado, Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Odontologia de Piracicaba, 2002.
89. MATTOS-GRANER RO, JIN S, KING WF, CHEN T, SMITH DJ, DUNCAN MJ. Cloning of the Streptococcus mutans gene encoding glucan binding protein B and analysis of genetic diversity and protein production in clinical isolates. Infect Immun. 2001a;69(11):6931-41.
90. MATTOS-GRANER RO, LI Y, CAUFIELD PW, DUNCAN M, SMITH DJ. Genotypic diversity of mutans streptococci in Brazilian nursery children suggests horizontal transmission. J Clin Microbiol. 2001b;39(6):2313-6.
91. MATTOS-GRANER RO, RONTANI RMP, GAVIÃO MBD, BOCATTO, HARC. Caries prevalence in 6-36-month-old Brazilian children. Community Dental Health 1996; 13: 96-8.
92. MATTOS-GRANER RO, SMITH DJ, KING WF, MAYER MP. Water-insoluble glucan synthesis by mutans streptococcal strains correlates with caries incidence in 12- to 30-month-old children. J Dent Res 2000; 79(6): 1371-7.
93. MATTOS-GRANER RO, ZELANTE F, LINE RCSR, MAYER MPA. Association between caries prevalence and clinical, microbiological and dietary variables in 1.0 to 2.5-year-old Brazilian children. Caries Res 1998; 32: 319-23.

94. MILGROM P, RIEDY CA, WEINSTEIN P, TANNER ACR, MANIBUSAN L, BRUSS J. Dental caries and its relationship to bacterial infection, hypoplasia, diet, and oral hygiene in 6- to 36-month-old children. *Community Dent Oral Epidemiol* 2000, 28: 295-306.
95. MOHAN A, MORSE DE, O'SULLIVAN DM, TINANOFF N. The relationship between bottle usage/content, age, and number of teeth with mutans streptococci colonization in 6-24-month-old children. *Community Dent Oral Epidemiol* 1998; 26(1):12-20.
96. MS (Ministério da Saúde). Área Técnica de Saúde Bucal. Levantamento Epidemiológico em Saúde Bucal: Cárie Dental, Capitais, 1996, 26 março 2001 <<http://www.saude.gov.br/>>, 2001.
97. MS (Ministério da Saúde). Levantamento Epidemiológico em Saúde Bucal: Brasil, Zona Urbana, 1986. Brasília: Divisão Nacional de Saúde Bucal, Centro de Documentação, Ministério da Saúde, 1988.
98. MUNRO C, MICHALEK SM, MACRINA FL. Cariogenicity of *Streptococcus mutans* V403 glucosyltransferase and fructosyltransferase mutants constructed by allelic exchange. *Infect Immun*. 1991;59(7):2316-23.
99. NADANOVSKY P, SHEIHAM A. Relative contribution of dental services to the changes in caries levels of 12-year-old children in 18 industrialized countries in the 1970s and early 1980s. *Community Dent Oral Epidemiol*. 1995 Dec;23(6):331-9.
100. NADANOVSKY P. O declínio da cárie. In: *Saúde Bucal Coletiva* (V.G. Pinto org.), pp. 341-351, São Paulo, Editora Santos, 2000.
101. NARVAI PC, CASTELLANOS RA, FRAZÃO P. Prevalência de cárie em dentes permanentes de escolares do Município de São Paulo, SP, 1970-1996. *Rev. Saúde Pública*, 2000; 34 (2): 196-200.
102. NIE M, FAN M, BIAN K. Transmission of mutans streptococci in adults within a Chinese population. *Caries Res* 2002; 36(3):161-6.
103. NOBRE DOS SANTOS M, MELO DOS SANTOS L, FRANCISCO SB, CURY JA. Relationship among dental plaque composition, daily sugar exposure and caries in the primary dentition. *Caries Res*. 2002;36(5):347-52.

104. NYVAD B, FEJERSKOV O. Active root surface caries converted into inactive caries as a response to oral hygiene. Scand J Dent Res. 1986;94(3):281-4.
105. NYVAD B. Microbial colonization of human tooth surfaces. APMIS Suppl. 1993;32:1-45.
106. OHO T, YAMASHITA Y, SHIMAZAKI Y, KUSHIYAMA M, KOGA T. Simple and rapid detection of *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sobrinus* in human saliva by Polymerase Chain Reaction. Oral Microbiol Immunol. 2000; 15: 258-62.
107. OLIVEIRA AGRC. Perfil Epidemiológico de Saúde Bucal no Brasil - 1986-1996. 1998. <http://www.angelonline.cjb.net>.
108. OOSHIMA T, SUMI N, IZUMITANI A, SOBUE S. Maternal transmission and dental caries induction in Sprague-Dawley rats infected with *Streptococcus mutans*. Microbiol Immunol. 1988, 32: 785-94.
109. ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE – World Health Organization – Oral Health Surveys: Basic methods, 4th ed, p.66, 1997.
110. O'SULLIVAN DM, THIBODEAU EA. Caries experience and mutans streptococci as indicators of caries incidence. Pediatr Dent. 1996;18(5):371-4.
111. PINTO VG. Estudo epidemiológico sobre prevalência de cárie dental em crianças de 3 a 14 anos: Brasil, 1993. Brasília: SESI-DN, 1996: 53.
112. RADFORD JR, BALLANTYNE HM, NUGENT Z, BEIGHTON D, ROBERTSON M, LONGBOTTOM C, PITTS NB. Caries-associated micro-organisms in infants from different socio-economic backgrounds in Scotland. J Dent. 2000;28(5):307-12.
113. RAMOS-GOMEZ FJ, WEINTRAUB JA, GANSKY SA, HOOVER CI, FEATHERSTONE JD. Bacterial, behavioral, and environmental factors associated with early childhood caries. J Clin Pediatr Dent 2002; 26 (2): 165-73.
114. ROCHA DG, PEREIRA, I.M.T.B. Educação em saúde bucal: uma experiência com escolares. Rev Bras Saude Escolar. 1994;3 (1/4): 126-129.
115. ROSENBLATT A, ZARZAR P. The prevalence of early childhood caries in 12- to 36-month-old children in Recife, Brazil. ASDC J Dent Child. 2002;69(3):319-24, 236.

116. SAARELA M, HANNULA J, MATTO J, ASIKAINEN S, ALALUUSUA S. Typing of mutans streptococci by arbitrarily primed polymerase chain reaction. Arch Oral Biol 1996; 41(8/9): 821-6.
117. SALIBA NA, SALIBA O. A educação em saúde oral e a professora primária. Estomatol Cult, 1970, 4(1):83-104.
118. SAMBROOK J, FRITSCH EF, MANIATIS T. Molecular cloning: a laboratory manual. 2nd ed. Cold Spring Harbor Press. New York. 1989.
119. SANTOS AP, SOVIERO VM. Caries prevalence and risk factors among children aged 0 to 36 months. Pesqui Odontol Bras. 2002;16(3):203-8.
120. SÃO PAULO (Estado). Secretaria de Estadual da Saúde. Condições de saúde bucal no Estado de São Paulo, em 2002 (Projeto SB 2000 – Ampliação da amostra para o Estado de São Paulo).
121. SCHROEDER VA, MICHALEK SM, MACRINA FL. Biochemical characterization and evaluation of virulence of a fructosyltransferase-deficient mutant of Streptococcus mutans V403. Infect Immun. 1989;57(11):3560-9.
122. SEOW WK, CHENG E, WAN V. Effects of oral health education and tooth-brushing on mutans streptococci infection in young children. Pediatr Dent. 2003;25(3):223-8.
123. SEOW WK. Biological mechanisms of early childhood caries. Community Dent Oral Epidemiol. 1998;26(1 Suppl):8-27.
124. SHEIHAM A. The role of the dental team in promoting dental health and general ealth through oral health. Int Dent J. 1992; 42: 223-228.
125. SILVA B B, MALTZ M. Prevalência de cárie, gengivite e fluorose em escolares de 12 anos de Porto Alegre - RS, Brasil, 1998/1999. Pesqui Odontol Bras. 2001, 15(3): 208-214.
126. SLAVKIN HC. First encounters: transmission of infectious oral disease from mother to child. J Am Dent Assoc 1997; 128: 773-8.
127. SMITH DJ, KING WF, AKITA H, TAUBMAN MA. Association of salivary immunoglobulin A antibody and initial mutans streptococcal infection. Oral Microbiol Immunol 1998; 13(5):278-85.

128. SOCRANSKY SS, HAFFAJEE AD, DZINK JL, HILLMAN JD. Associations between microbial species in subgingival plaque samples. *Oral Microbiol Immunol*. 1988;3(1):1-7.
129. SOCRANSKY SS, MANGANIELLO SD. The oral microbiota of man from birth to senility. *J Periodontol*. 1971;42(8):485-96.
130. SODERLING E, ISOKANGAS P, PIENIHAKKINEN K, TENOVUO J. Influence of maternal xylitol consumption on acquisition of mutans streptococci by infants. *J Dent Res*. 2000;79(3):882-7.
131. SONJU CLASEN AB, RUYTER IE. Quantitative determination of type A and type B carbonate in human deciduous and permanent enamel by means of Fourier transform infrared spectrometry. *Adv Dent Res*. 1997;11(4):523-7.
132. STIPP RN, FLÓRIO FM, PEREIRA AC, HÖFLING JF, GONÇALVES RB. Estreptococos grupo mutans em crianças com cárie ativa ou paralisada. *Rev Pesq Odontol Bras*, São Paulo, v.15, p.25,2001 (Abstract).
133. TANNER ACR, MILGROM PM, KENT R JR, MOKEEM SA, PAGE RC, RIEDY CA, WEINSTEIN P, BRUSS J. The microbiota of young children from tooth and tongue samples. *J Dent Res*. 2002;81(1):53-7.
134. TANNER ACR, MILGROM PM, KENT R JR, MOKEEM SA, PAGE RC, LIAO SIA, RIEDY CA, BRUSS J. Similarity of the oral microbiota of pre-school children with that of their caregivers in a population-based study. *Oral Microbiol Immunol* 2002; 17: 379–387.
135. TANZER JM. Dental caries is a transmissible infectious disease: the Keyes and Fitzgerald revolution. *J Dent Res*. 1995;74(9):1536-42.
136. TEDJOSASONGKO U, KOZAI K. Initial acquisition and transmission of mutans streptococci in children at day nursery. *ASDC J Dent Child*. 2002;69(3):284-8, 234-5.
137. TENOVUO J, LAGERLÖF F. Saliva, in Thylstrup A, Fejerskov O: *Cariologia clínica*. São Paulo: Santos, p. 17-43, 1995.

138. THORILD I, LINDAU-JONSON B, TWETMAN S. Prevalence of salivary *Streptococcus mutans* in mothers and their preschool children. *Int J Paediatr Dent* 2002; 12(1): 2-7.
139. THYLSTRUP A, FEJERSKOV O. Características clínicas e patológicas da cárie dentária, in Thylstrup A, Fejerskov O. *Cariologia Clínica*. 2ª ed. São Paulo: Santos, 1995, p.111-57.
140. TOMITA NE, BIJELLA VT, LOPES ES, FRANCO LJ. Prevalence of dental caries in children from 0 to 6 years old attending nursery: the influence of socioeconomic factors. *Rev Saude Publica*. 1996;30(5):413-20.
141. TRAEBERTA JL, PERESB MA, GALESSOC ER, ZABOTD NE, MARCENESE W. Prevalência e severidade da cárie dentária em escolares de seis e doze anos de idade. *Rev. Saúde Pública*. 2001, 35(3).
142. VAN HOUTE J, GIBBS G, BUTERA C. Oral flora of children with "nursing bottle caries". *J Dent Res*. 1982;61(2):382-5.
143. VAN HOUTE J, YANOVER L, BRECHER S. Relationship of levels of the bacterium *Streptococcus mutans* in saliva of children and their parents. *Arch Oral Biol*. 1981;26(5):381-6.
144. VAN LOVEREN C, BUIJS JF, TEN CATE JM. Similarity of bacteriocin activity profiles of *mutans streptococci* within the family when the children acquire the strains after the age of 5. *Caries Res*. 2000;34(6):481-5.
145. VAN PALENSTEIN HELDERMAN WH, IJSSELDIJK M, HUIS IN'T VELD JHJ. A selective medium for the two major subgroups of bacterium *Streptococcus mutans* isolated from human dental plaque and saliva. *Arch Oral Biol* 1983; 7: 599–603.
146. WALTER LRF, FERELLE A, HOKANA N, PELANDA VLG, FRANCO MPSF, IEIGA R. Cárie em crianças de 0 a 30 meses de idade e sua relação com hábitos alimentares. *Enc Bras Odontol*. 1987, 5(12): 129-36.
147. WAN AK, SEOW WK, PURDIE DM, BIRD PS, WALSH LJ, TUDEHOPE DI. A longitudinal study of *Streptococcus mutans* colonization in infants after tooth eruption. *J Dent Res*. 2003;82(7):504-8.

148. WAN AK, SEOW WK, PURDIE DM, BIRD PS, WALSH LJ, TUDEHOPE DI. Oral colonization of *Streptococcus mutans* in six-month-old predentate infants. *J Dent Res* 2001a; 80(12): 2060-5.
149. WAN AK, SEOW WK, PURDIE DM, BIRD PS, WALSH LJ, TUDEHOPE DI. The effects of chlorhexidine gel on *Streptococcus mutans* infection in 10-month-old infants: a longitudinal, placebo-controlled, double-blind trial. *Pediatr Dent*. 2003;25(3):215-22.
150. WAN AKL, SEOW WK, WALSH LJ, BIRD P, TUDEHOPE DI, PURDIE DM. Association of *Streptococcus mutans* infection and oral developmental nodules in pre-dentate infants. *J Dent Res* 2001b; 80(10): 1945-8.
151. WELSH J, MCCLELLAND DL. Fingerprinting genomes using PCR with arbitrary primers. *Nucleic Acids Res* 1990; 18(24): 7213-8.
152. WENDT LK, HALLONSTEN AL, KOCH G. Oral health in preschool children living in Sweden. Part II – A longitudinal study. Findings at three years of age. *Swed Dent J* 1992; 16 (1-2): 41-9.
153. WEYNE, S.C. A construção do paradigma de promoção de saúde - Um desafio para as novas gerações, in: ABOPREV - Promoção de Saúde Bucal. São Paulo: Artes Médicas, 1997, p. 1-27.
154. WHILEY RA, BEIGHTON D. Current classification of the oral streptococci. *Oral Microbiol Immunol*. 1998;13(4):195-216.
155. WHITTENBURY R. Hydrogen peroxide formation and catalase activity in the lactic acid bacteria. *J Gen Microbiol* 1964; 35(1):13-26.
156. WORLD HEALTH ORGANIZATION. Individual tooth status and treatment need. In: *Oral health surveys: Basic Methods*, 4 th ed., 1997. 66p.
157. WRIGHT JT, CUTTER GR, DASANAYAKE AP, STILES HM, CAUFIELD PW. The effect of conventional dental restorative treatment on bacteria in saliva. *Community Dent Oral Epidemiol* 1992; 20(3): 138-43.
158. YAMASHITA Y, BOWEN WH, BURNE RA, KURAMITSU HK. Role of the *Streptococcus mutans* gtf genes in caries induction in the specific-pathogen-free rat model. *Infect Immun*. 1993;61(9):3811-7.

159. ZICKERT I, EMILSON CG, KRASSE B. Correlation of level and duration of *Streptococcus mutans* infection with incidence of dental caries. *Infect Immun.* 1983;39(2):982-5.



COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA
Universidade Estadual de Campinas
Faculdade de Odontologia de Piracicaba



CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto de pesquisa intitulado "Detecção e isolamento dos estreptococos do grupo *mutans* de crianças brasileiras de 4 a 28 meses de idade, submetidas ou não a programa em promoção de saúde bucal", sob o protocolo nº 57/2000, da Pesquisador **Flávia Martão Flório**, sob a responsabilidade dos Profs. Drs. **Antonio Carlos Pereira** e **Reginaldo Bruno Gonçalves**, está de acordo com a Resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde/MS, de 10/10/96, tendo sido aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa – FOP.

Piracicaba, 04 de agosto de 2000

We certify that the research project with title "Detection and isolation of the *Streptococcus mutans* from Brazilian's children, aging from 4 to 28 months, submitted (or not) to dental health promotion program", protocol nº 57/2000, by Researcher **Flávia Martão Flório**, responsibility by Prof. Dr. **Antonio Carlos Pereira** and **Reginaldo Bruno Gonçalves**, is in agreement with the Resolution 196/96 from National Committee of Health/Health Department (BR) and was approved by the Ethical Committee in Research at the Piracicaba Dentistry School/UNICAMP (State University of Campinas).



Prof. Dr. Pedro Luiz Rosalen
Secretário - CEP/FOP/UNICAMP



Piracicaba, SP, Brazil, August 04 2000
Prof. Dr. Antonio Bento Alves de Moraes
Coordenador - CEP/FOP/UNICAMP

ANEXO 2

DADOS DA MÃE

Nome: _____

Data de nascimento: ____/____/____ Local: () Piracicaba () outra cidade _____

Endereço: _____

Tel. para contato: _____ () res. () recado: _____

Este é seu primeiro filho () sim; () não Número de filhos: _____

Situação conjugal: () solteira; () amasiada; () casada; () separada; () viúva

Trabalha fora? () não; () sim: _____

Costuma ficar com a criança: () de manhã; () à tarde; () à noite; () _____

Você gosta de guloseimas? () não () sim Quantas vezes ao dia você ingere? ()

Está sob tratamento médico? () sim () não

Está tomando algum medicamento no momento? () não () sim: _____

Tomou algum remédio durante a gestação? () não () sim: _____

A gestação foi tranquila? () sim () não

Você engordou quantos quilos? _____ quilos

Houve acompanhamento médico pré-natal desde o início da gestação? () sim () não

Se não, com quantos meses da gestação o pré-natal foi iniciado: _____

Medicamentos tomados durante a gestação: _____

O parto foi: () normal ou () cesárea; () rápido ou () demorado

APÓS O NASCIMENTO DA CRIANÇA, VOCÊ...

Recebeu alguma informação sobre os cuidados necessários com o bebê?

() sim. De quem? _____ () não

Amamentou seu filho no peito?

() não, por quê: _____

() sim, até quando? _____

() ainda amamenta (criança está com ____ meses)

Até qual idade seu filho mamou no peito à noite? _____

Amamenta seu filho com mamadeira?

() não () sim, desde que ele tinha _____ meses de vida

Adiciona / adicionava o quê na mamadeira? _____

Ainda amamenta seu filho com mamadeira? _____

A criança costuma mamar enquanto dorme, ou adormece mamando?

() não; () sim, sempre; () sim, às vezes; () sim, muito raramente

À noite, você amamenta ou amamentava seu filho :

() antes de dormir;

() várias vezes antes de dormir. Quantas vezes? _____ Qual duração das mamadas? _____

Você já recebeu orientações de como limpar os dentes de seu filho ?

() não; () sim. De quem? _____

Você já tentou limpar os dentes de seu filho? () não; () sim

Você costuma limpar os dentes de seu filho ?

() não; () sim, quando? _____

Usa pasta de dentes na criança () não; () sim, desde quando? _____

Quem coloca a pasta na escova da criança: _____

DADOS DA CRIANÇA

Nome da criança: _____

Data de nascimento: ____/____/____ Local: () Piracicaba; () outra cidade

Nasceu de _____ meses; com _____ quilos E _____ centímetros

A criança ficou no hospital após o nascimento ? () não; () sim: _____

Está sob tratamento médico? () sim () não

Medicamentos receitados pelo pediatra após o nascimento: _____

A criança está tomando algum medicamento no momento? () não; () sim:

É uma criança tranqüila? () sim () não Dorme com os pais? () sim () não

A criança está na creche desde quantos meses de vida? _____

A criança já foi ao dentista alguma vez? () sim () não

A criança deixa você limpar a boca e/ou dentes dela? () não; () sim

A criança tem a sua própria escova de dentes? () sim () não

Com quantos meses a criança:

Deu o primeiro sorriso: _____ ; Sustentou a cabeça: _____ ; Sentou sem apoio: _____ ;

Engatinhou: _____ ; Andou: _____ ; Deixou de usar fraldas: _____ ;

Começou a tomar sopas: _____

Você alguma vez mastigou o alimento antes de dá-lo à criança? () sim () não

Você e sua criança utilizam o mesmo talher durante as refeições? () sim () não

Você adoça a chupeta para acalmar a criança? () sim () não

Quais são os três doces e as três bebidas que sua criança mais gosta?

DOCES	BEBIDAS

Você oferece doces como recompensa por bom comportamento? () sim () não

Com que idade começou a limpar a boca do seu filho?

() sem dentes

() assim que os primeiros dentes nasceram

() 1 ano

() 2 anos

() 3 anos

() ainda não escova

Quem escova os dentes de seu filho em casa?

() mãe ou adulto responsável

() seu filho sozinho

() não escova

Quantas vezes por dia seu filho escova os dentes em casa?

() 1 vez / dia

() 2 vezes / dia

() 3 a 4 vezes / por dia

() às vezes

() não escova

DADOS DA FAMÍLIA

Número de pessoas que moram na casa: _____

Número de pessoas que moram na casa e trabalham fora: _____

Responda com um X de acordo com os itens que você possui na sua casa:

ITEM	Não tem	TEM (quantidade)					
		1	2	3	4	5	6 ou +
TELEVISÃO							
RÁDIO							
BANHEIRO							
AUTOMÓVEL							
EMPREGADA							
ASPIRADOR DE PÓ							
MÁQUINA DE LAVAR ROUPA							

Grau de instrução do chefe de família:

- | | |
|-------------------------|----------|
| Sem instrução | () |
| Até primário incompleto | () |
| Até ginásial incompleto | () |
| Até colegial incompleto | () |
| Até superior incompleto | () |
| Com superior completo | () |

ANEXO 3

Mamãe,

Hoje foi dia de coleta de saliva! É preciso mais atenção na hora da higienização dos dentes _____!

Para que consigamos mantê-los sem cáries, preciso da sua colaboração!

Estou à disposição para qualquer dúvida!

LEMBRE-SE HORA DO BANHO = HORA DA ESCOVAÇÃO

Até breve, Flávia

Mamãe,

Hoje foi dia de coleta de saliva! Continuando assim, _____ manterá os dentes sempre saudáveis!

Parabéns e muito obrigada pela colaboração!

Estou à disposição para qualquer dúvida!

LEMBRE-SE HORA DO BANHO = HORA DA ESCOVAÇÃO

Até breve, Flávia