

Ação de amostras de *Streptococcus mutans* e *Streptococcus sobrinus* sobre diferentes carboidratos com ênfase na cárie dentária - estudo *in vitro*

Effect of *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sobrinus* strains on different carbo-hydrates with emphasis on dental caries - in vitro study

Resumo

A presente pesquisa tem como objetivo o estudo *in vitro* da produção de placa bacteriana e ácidos por amostras de *S. mutans* e *S. sobrinus* cultivadas isoladamente e em associação, frente a diferentes substratos glicídicos. Para quantificação da placa *in vitro*, foram utilizadas culturas recentes dessas espécies inoculadas, isoladas e em associação, em tubos contendo meio BHI acrescido dos diferentes carboidratos (individualmente) - sacarose, glicose, frutose, glicose + frutose acompanhados de um bastão-capilar previamente pesado. Após incubação a 37°C / 48 horas (10% CO₂) os bastões foram submetidos a nova pesagem para obtenção da produção de placa. A determinação da produção de ácido pelas amostras de *S. mutans* e *S. sobrinus* - isoladas e em associação - foi realizada através de medições contínuas, em intervalos de tempo regulares, do pH do meio de cultura contendo os diferentes substratos. A sacarose apresentou valores estatisticamente superiores em relação à produção de placa bacteriana quando comparada aos demais carboidratos analisados. A espécie *S. mutans*, isoladamente, e a associação *S. mutans* / *S. sobrinus* produziram quantidades estatisticamente superiores de placa bacteriana *in vitro* quando cultivados em meio acrescido de 10% de sacarose. As amostras de *S. mutans* e *S. sobrinus*, isoladas e em associação, não demonstraram um comportamento homogêneo para a produção de ácidos, apresentando momentos distintos de maior abatimento do pH ao longo do período de incubação.

Palavras-chave: *S. mutans* e *S. sobrinus*, carboidratos, cárie dentária.

Cássio Vicente Pereira¹, Edvaldo Antônio Ribeiro Rosa²,
Rosimeire Takaki Rosa³, José Francisco Höfling⁴

Introdução

A cavidade oral apresenta uma microbiota complexa e variada, compondo um elevado número de ecossistemas localizados (Menaker, 1984). Esses habitats são susceptíveis às alterações ambientais, como, por exemplo, a erupção dentária que promove mudanças na colonização, favorecendo, de forma seletiva, as espécies que aderem a essas novas superfícies. Os mecanismos que determinam essas relações, com ênfase na cárie dentária e demais eventos biológicos que ocorrem na cavidade bucal, têm sido uma preocupação constante dos pesquisadores nessa área.

Muitos estudos têm sido realizados relacionando os microrganismos colonizadores dos dentes e o início das lesões cariosas (Fitzgerald et al., 1960; Krasse, 1966; Bowenn, 1969; Loesche et al., 1973; Borden et al., 1980; Ahmady et al., 1993), tendo demonstrado a interação entre a necessidade prévia de formação da placa bacteriana e o início dessa patologia, que ainda se apresenta como a mais

frequente da cavidade bucal (Fitzgerald et al., 1960; Jordan e Keyes, 1966; Ikeda et al., 1990; Olsson et al., 1992).

As pesquisas realizadas nas décadas de 1950 e 1960 convergiram para o entendimento da etiologia e para a identificação dos microrganismos causadores da cárie, tendo concluído que os estreptococos, notavelmente o *Streptococcus mutans*, poderiam se apresentar como os microrganismos potencialmente mais cariogênicos. Os estreptococos do grupo *mutans* estão intimamente associados à cárie dentária, principalmente às de superfície lisa, em razão da capacidade desses microrganismos de formar placa bacteriana e produzir ácidos, decorrentes do aproveitamento de energia quando da hidrólise da sacarose presente na dieta, que facilita sua deposição sobre as estruturas dentárias (Gibbons et al., 1966; Jürgensen e Araújo, 1967; Mandel, 1974; Takehara et al., 1985; Rolla et al., 1985; Donoghue e Perrons, 1991, e Wennerholm et al., 1995).

¹ Doutorando em Biologia e Patologia Bucodental (Microbiologia) / FOP - Unicamp.

² Doutorando em Biologia e Patologia Bucodental (Microbiologia) / FOP - Unicamp.

³ Mestranda em Biologia e Patologia Bucodental (Microbiologia) / FOP - Unicamp.

⁴ Professor Titular da disciplina de Microbiologia e Imunologia da Faculdade de Odontologia de Piracicaba/Unicamp.

A importância da dieta, particularmente da sacarose, como fator imprescindível para a instalação do processo carioso é demonstrada na literatura desde o século passado. Resultados de inúmeros experimentos em animais desenvolvidos para avaliar a participação desse componente na cárie dentária ressaltaram a importância da sacarose como o carboidrato mais cariogênico em relação aos outros substratos glicídicos (Krasse, 1965; Guggenheim et al., 1965; Keyes, 1968; Fitzgerald, 1968).

Com relação à importância da microbiota presente na cavidade bucal como um componente imprescindível na deflagração e desenvolvimento desses mecanismos, os *S. mutans* e *S. sobrinus* são as espécies do grupo *mutans* mais freqüentemente isoladas de amostras salivares e, segundo alguns autores (Beighton et al., 1987; Köhler e Bjarnasson, 1987; Lindquist e Emilson, 1991; Ahmady et al., 1993; Hirose et al. 1993), podem apresentar um elevado potencial indutor de lesões cariosas quando isolados; no entanto, quando se apresentam associados, ampliam o índice desse processo infecioso em seus portadores.

O estudo *in vitro* das inter-relações bacterianas entre *S. mutans* e *S. sobrinus* mostra-se importante para se determinar o papel desses microrganismos no estabelecimento da placa bacteriana sobre as estruturas dentais e de seus potenciais indutores de lesões cariosas, corroborando, assim, os diversos trabalhos encontrados na literatura (Ikeda et al., 1988; Ikeda et al., 1990; Lindquist e Emilson, 1991; Hirose et al., 1993; Babaahmady, 1998). Com base nesses pressupostos, a presente pesquisa tem como objetivo o estudo da produção de placa bacteriana e ácidos por essas espécies isoladas e em associação frente a diferentes substratos glicídicos com ênfase à

cárie dentária.

Material e métodos

Origem do grupo experimental

Para este estudo, foram utilizadas amostras de *Streptococcus mutans* e *Streptococcus sobrinus*, isoladas a partir da saliva de escolares da região de Piracicaba, SP, pertencentes ao acervo de microrganismos da disciplina de Microbiologia e Imunologia da FOP-Unicamp. As espécies foram identificadas através de testes bioquímicos (fermentação de carboidratos) de acordo com o Manual de Bergey's (Hardie, 1986) e, mantidas sob congelamento (frízer -20 °C), em alíquotas de 5,0 mL em meio BHI (Brain Heart Infusion - Difco), adicionado de 10% de glicerol, segundo Tenovuo et al. (1992).

Quantificação da placa bacteriana *in vitro*

Para quantificação da formação de placa *in vitro*, foram utilizadas culturas recentes das amostras de *S. mutans* e *S. sobrinus*, previamente padronizadas pela escala de Mc Farland (tubo n. 2) em meio BHI. Uma alíquota de 0,2 mL de cada uma dessas amostras foi inoculada em tubos contendo 5,0 mL de meio BHI, acrescidos individualmente de 10% dos diferentes carboidratos fermentáveis - sacarose, glicose, frutose, glicose (5%) + frutose (5%). Para a obtenção da formação de placa *in vitro* pela associação das duas espécies, foi inoculado 0,1 mL de cada espécie, previamente padronizadas pela escala de Mc Farland (tubo n. 2) em meio BHI a fim de que o número de células de cada uma fosse igual no mesmo inóculo e o total de células se igualasse ao das espécies isoladas. Os tubos inoculados com as amostras de *S. mutans* e *S. sobrinus* isoladas e em associação foram acompanhados de um bastão capilar de 4,0 cm de comprimento e com as extremidades fechadas na chama de acordo com o modelo experimental proposto por Oliveira

(1974). Os tubos foram incubados a 37 °C durante 48 horas em estufa, sob a concentração gasosa de 10% de CO₂.

Para efeito de quantificação da produção de placa *in vitro*, o bastão capilar foi pesado antes de as amostras serem inoculadas no meio BHI, acrescido de 10% dos carboidratos fermentáveis - sacarose, glicose, frutose, glicose (5%) + frutose (5%) - e após o período de incubação. Com esse procedimento, foi possível quantificar a produção de placa úmida *in vitro* formada por espécie em relação aos diferentes substratos glicídicos, isoladamente e em associação, possibilitando uma avaliação comparativa entre elas.

Determinação da produção de ácidos

Para a determinação da capacidade de produção de ácido pelas amostras de estreptococos *S. mutans* e *S. sobrinus* - isoladas e em associação, foram utilizadas medições contínuas, em intervalos de tempo regulares, do pH do meio de cultura onde essas espécies foram cultivadas. As amostras foram previamente inoculadas em meio BHI e incubadas a 37 °C por 24 horas em estufa, sob a concentração gasosa de 10% de CO₂, para obtenção de culturas recentes, antecipadamente padronizadas pela escala de Mc Farland (tubo n. 2). Após esse período de incubação, alíquotas de 0,2 mL de cada espécie foram inoculadas em meio BHI, individualmente com 10% dos diferentes carboidratos fermentáveis - sacarose, glicose, frutose, glicose (5%) + frutose (5%). Para a associação das duas espécies, foram inoculadas alíquotas de 0,1 mL de cada espécie, de forma que o número de células de cada uma fosse o mesmo e o total de células inoculadas na associação, igual ao das espécies isoladas. As medições foram realizadas em intervalos de tempo preestabelecidos, modificados a partir de alguns padrões encontrados na literatura (Stephan, 1944; Loesche, 1993), sendo feita a primeira medição em três horas e as seguintes, em 6, 12, 24 e 48

horas após a inoculação, de modo que o período total de incubação fosse dividido em períodos regulares e crescentes, possibilitando uma avaliação das quedas de pH durante todo o período de crescimento das amostras.

Resultados

Os resultados obtidos na quantificação da produção de placa bacteriana *in vitro* - por amostras de *S. mutans* e *S. sobrinus* - cultivadas isoladamente e em associação, em meios acrescidos de 10% de diferentes substratos glicídicos - sacarose, glicose, frutose e glicose (5%) + frutose (5%) - encontram-se expressos na Tabela I e Figura I.

A espécie *S. mutans* e a associação *S. mutans* / *S. sobrinus* apresentaram a maior produção de placa bacteriana (14,50 mg e 7,92 mg, respectivamente) quando cultivadas em meio de cultura a 10% de sacarose, demonstrando uma diferença estatisticamente significante em relação aos demais carboidratos, de acordo com o teste de Tukey, considerando-se como nível mínimo de significância (n.m.s.) 5%. Para a espécie de estreptococos *S. sobrinus*, cultivada isoladamente, os resultados encontrados demonstraram uma maior produção de placa bacteriana (7,20 mg) quando cultivada em meio acrescido de 10% de sacarose, não apresentando diferença estatisticamente significante em relação à glicose (4,95 mg), mas, sim, quando comparada à frutose (3,50 mg) e glicose + frutose (2,98 mg).

A Tabela II e a Figura II descrevem os valores médios encontrados nas medições de pH do meio de cultura onde foram cultivadas as amostras de *S. mutans* em intervalos de tempo crescentes. As curvas demonstradas na Figura II expressam quedas significativas de pH em todos os meios de cultura acrescidos dos diferentes substratos glicídicos nos intervalos de tempo estabelecidos.

A espécie *S. mutans* apresentou maiores quedas de pH quando cultivada em meio adicionado de

Tabela 1. Valores médios da produção de placa bacteriana *in vitro* por amostras de *S. mutans* e *S. sobrinus* cultivadas, isoladamente e em associação, em meio acrescido de diferentes carboidratos - sacarose 10%, glicose 10%, frutose 10% e glicose (5%) + frutose (5%).

	<i>S. mutans</i>		<i>S. sobrinus</i>		<i>S. mutans</i> / <i>S. sobrinus</i>	
	mg-placa/48 hs *	SD **	mg-placa/48 hs	SD	mg-placa/48 hs	SD
Sacarose	14,50*	15,18	7,20*	3,09	7,92*	3,42
Glicose	4,34*	0,70	4,95*	0,71	4,15*	0,88
Frutose	3,30*	0,84	3,50*	0,44	3,54*	0,89
Glicose + Frutose	3,34*	0,48	2,98*	1,03	2,93*	1,04

* Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p<0,05$).

** Desvio padrão.

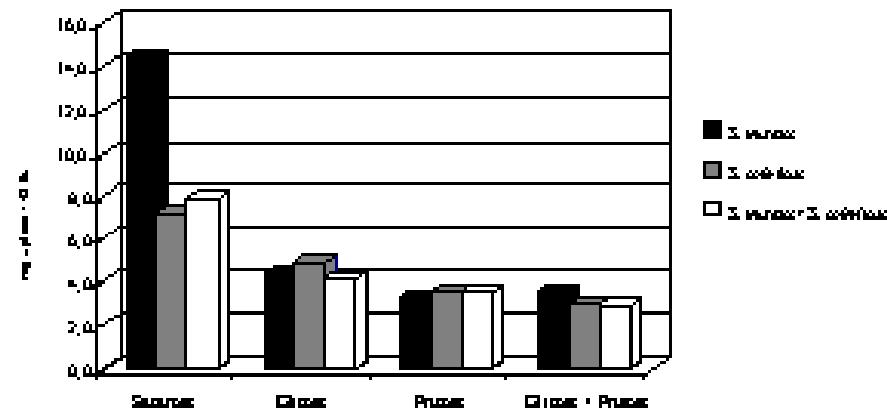


Figura 1. Valores comparativos da produção de placa bacteriana *in vitro*, por amostras de *S. mutans* e *S. sobrinus*, cultivadas isoladamente e em associação, em meio acrescido de diferentes carboidratos - sacarose 10%, glicose 10%, frutose 10% e glicose (5%) + frutose (5%).

Tabela 2. Valores médios de pH em intervalos de tempo crescentes das amostras de *S. mutans* cultivadas em meio acrescido de diferentes carboidratos - sacarose 10%, glicose 10%, frutose 10% e glicose (5%) + frutose (5%).

	3 hs	SD *	6 hs	SD	12 hs	SD	24 hs	SD	48 hs	SD
Sacarose	6,44	0,43	5,14	0,82	4,30	0,23	3,98	0,17	3,97	0,15
Glicose	5,98	0,45	5,72	0,43	4,27	0,21	4,01	0,21	4,10	0,21
Frutose	5,90	0,34	5,20	0,25	4,34	0,23	4,30	0,25	4,10	0,21
Glicose + Frutose	5,94	0,23	5,54	0,32	5,23	0,32	5,13	0,23	4,53	0,23

* Desvio-padrão

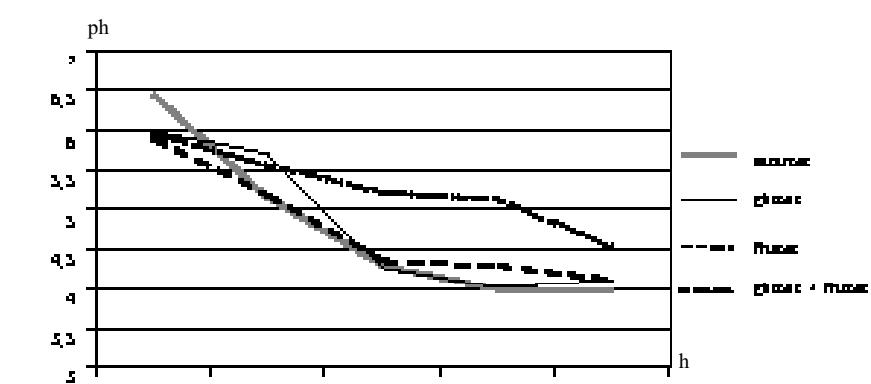


Figura 2. Valores de pH em intervalos de tempo crescentes de amostras de *S. mutans* cultivadas em meio acrescido de 10% de diferentes carboidratos - sacarose, glicose, frutose e glicose (5%) + frutose (5%).

10% de sacarose nos períodos de 6 (5,16), 24 (3,98) e 48 (3,97) horas. No período inicial (três horas) e de 12 horas, as maiores quedas de pH do meio de cultura encontradas devem-se aos meios enriquecidos com 10% de frutose (5,90) e glicose (4,27), respectivamente. O meio acrescido de glicose (5%) + frutose (5%) apresentou as menores quedas de pH quando inoculado com amostras de *S. mutans* em relação aos demais carboidratos.

Os resultados da Tabela III e da Figura III expressam os valores da produção de ácidos por amostras de *S. sobrinus* através de medições de pH do meio de cultura em intervalos de tempo crescentes. A espécie *S. sobrinus* apresentou maiores quedas de pH quando cultivada em meio a 10% de glicose, com valores de 5,63 (3 horas), 4,06 (24 horas) e 3,96 (48 horas). Nos períodos de 6 e 12 horas, as maiores quedas de pH devem-se às amostras de *S. sobrinus* cultivadas em meio contendo 10% de sacarose (4,66) e frutose (4,26), respectivamente. A associação dos substratos: glicose (5%) + frutose (5%) mostrou as menores quedas de pH do meio em relação aos demais carboidratos utilizados para esse experimento.

Os valores encontrados nas medições de pH dos meios de cultura acrescidos de 10% dos diferentes carboidratos, em intervalos de tempo estabelecidos, quando inoculados com amostras da associação *S. mutans* / *S. sobrinus*, encontram-se expressos na Tabela IV e Figura IV.

Entre os carboidratos analisados, a glicose, com valores de 5,27 (3 horas), 5,10 (6 horas), 4,27 (12 horas) e 3,93 (24 horas), seguida pela sacarose - 5,13 (6 horas), 4,33 (12 horas) e 4,08 (48 horas), apresentou as maiores quedas de pH do meio quando inoculados com a associação *S. mutans* / *S. sobrinus*. O meio de cultura acrescido de frutose obteve as maiores quedas de pH nos intervalos de tempo de 6 horas (5,10) e 48 horas (4,06). A associação de carboidratos glicose + frutose apresentou as menores quedas de pH em relação aos de-

Tabela 3. Valores médios de pH, em intervalos de tempo crescentes das amostras de *S. sobrinus* cultivadas em meio acrescido de diferentes carboidratos - sacarose 10%, glicose 10%, frutose 10% e glicose (5%) + frutose (5%).

	3 hs	SD*	6 hs	SD	12 hs	SD	24 hs	SD	48 hs	SD
Sacarose	4,38	0,32	4,66	0,32	4,42	0,32	4,29	0,24	4,08	0,14
Glicose	5,43	0,37	5,30	0,44	4,44	0,34	4,04	0,32	3,96	0,40
Frutose	5,93	0,18	5,04	0,18	4,24	0,32	4,23	0,24	4,04	0,24
Glicose + Frutose	4,10	0,21	5,30	0,25	5,30	0,32	4,43	0,23	4,33	0,24

* Desvio-padrão

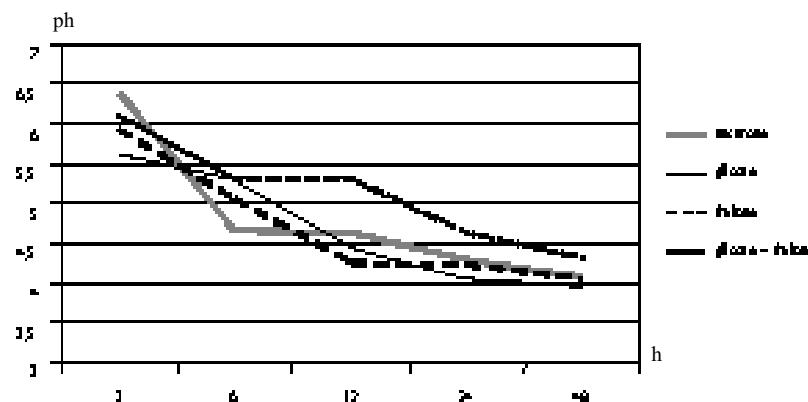


Figura 3. Valores de pH em intervalos de tempo crescentes de amostras de *S. sobrinus* cultivadas em meio acrescido de 10% de diferentes carboidratos - sacarose, glicose, frutose e glicose (5%) + frutose (5%).

Tabela 4. Valores médios de pH em intervalos de tempo crescentes das amostras de *S. mutans* / *S. sobrinus* cultivadas em meio acrescido de diferentes carboidratos - sacarose 10%, glicose 10%, frutose 10% e glicose (5%) + frutose (5%).

	3 hs	SD*	6 hs	SD	12 hs	SD	24 hs	SD	48 hs	SD
Sacarose	5,93	0,18	5,13	0,23	4,33	0,24	4,23	0,24	4,08	0,14
Glicose	5,27	0,41	5,10	0,39	4,27	0,08	3,93	0,24	4,14	0,24
Frutose	4,10	0,21	5,10	0,21	4,43	0,18	4,20	0,25	4,04	0,24
Glicose + Frutose	4,24	0,24	5,44	0,40	5,20	0,25	4,74	0,24	4,30	0,25

* Desvio-padrão

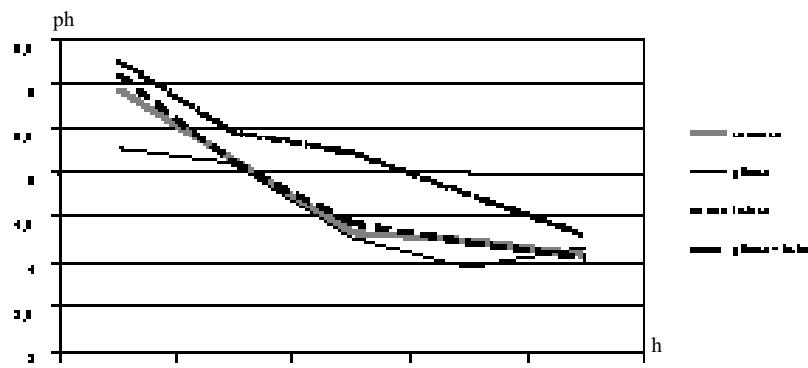


Figura 4. Valores de pH em intervalos de tempo crescentes de amostras de *S. mutans* / *S. sobrinus* cultivadas em meio acrescido de 10% de diferentes carboidratos - sacarose, glicose, frutose e glicose (5%) + frutose (5%).

mais substratos.

Discussão

A adesão dos estreptococos do grupo *mutans* às superfícies dentárias tem sido estudada desde que seu isolamento na cavidade bucal foi correlacionado com a cárie dentária (Fitzgerald et al., 1960; Krasse, 1966; Bowen, 1969; Loesche e Syed, 1973). A observação da formação da placa bacteriana *in vitro*, através da utilização de bastões capilares ou lamínulas mergulhados em meio de cultura acrescido de substratos glicídicos mostrou-se um recurso importante como modelo experimental no estudo da capacidade de adesão desses microrganismos a superfícies lisas, como fator de virulência levado a efeito nas últimas décadas (Oliveira, 1974; Ikeda et al., 1988).

Os resultados obtidos na quantificação da placa bacteriana por amostras de *S. mutans* e *S. sobrinus* cultivadas, isoladas e em associação, em meio adicionado de 10% de diferentes carboidratos fermentáveis - sacarose, glicose, frutose e glicose (5%) + frutose (5%), demonstraram valores médios entre 2,93 mg para a associação *S. mutans / S. sobrinus* cultivada em meio contendo glicose + frutose e 14,50 mg para a espécie *S. mutans* em meio sacarosado, descritos na Tabela I e Figura I. A espécie *S. mutans* (14,50 mg), isoladamente, e a associação *S. mutans / S. sobrinus* (7,92 mg) mostraram-se estatisticamente superiores quando cultivadas em meio acrescido de 10% de sacarose, demonstrando, através desse parâmetro de avaliação, uma maior capacidade de adesão e a importância desse substrato como sendo potencialmente mais cariogênico em relação aos demais carboidratos estudados. Tais resultados confirmam, de certa forma, os estudos *in vitro* e *in vivo* levados a efeito por Scheinin (1970), Gawronski et al., (1975); Skinner et al., (1982); Ikeda et al. (1990); Lindquist e Emilson (1991); Hirose et al., (1993) e Löesche (1993).

A elevada produção de placa

bacteriana *in vitro* pela associação *S. mutans / S. sobrinus* confirma também os dados de Emilson (1983); Davey e Rogers (1984) e Köhler e Bjarnason (1987), os quais demonstraram uma associação positiva entre as duas espécies. Em contraposição a essas afirmações, Ikeda et al. (1988) demonstraram, através de experimentos *in vitro*, que, após 18 horas da inoculação de quantidades iguais de *S. mutans* e *S. sobrinus*, as células da espécie *S. sobrinus* estavam completamente mortas. Em complemento, o *S. mutans* inibiu a formação da placa *in vitro* pelo *S. sobrinus*, quando inoculados ao mesmo tempo, e eliminou a placa pré-formada pelo *S. sobrinus*, quando inoculado após 24 horas. Esses dados não invalidam a sugestão da existência de uma associação positiva entre as espécies *S. mutans* e *S. sobrinus*, mas com maior benefício favorecendo ao *S. mutans*, quando se analisam os vários experimentos *in vitro* e *in vivo* relatados pela literatura (Lindquist e Emilson, 1991; Hirose et al., 1993; Babaahmady et al., 1998).

Várias pesquisas têm sido realizadas visando a um maior conhecimento do papel dos carboidratos presentes na dieta como fatores essencialmente predisponentes ao início e desenvolvimento de lesões cariosas (Critchley et al., 1967; Ashley e Wilson, 1977; Brex et al., 1981; Macpherson e Dawes, 1991). A sacarose apresentou-se como o substrato no qual as amostras bacterianas produziram maiores quantidades de placa *in vitro* em relação aos demais carboidratos analisados, com valores de 14,50 mg para a espécie *S. mutans*; 7,20 mg para o *S. sobrinus* e 7,92 mg para a associação *S. mutans / S. sobrinus*. Esses resultados confirmam, de modo geral, os estudos de autores como Gibbons e Van Houte (1973) e Margolis (1993), os quais determinaram a sacarose como principal substrato para a produção de polissacarídeos extracelulares e ácidos por estreptococos do grupo mutans.

Os polissacarídeos extracelulares produzidos por esses microrganismos a partir da sacarose podem aumentar a porosidade da placa dental e, em consequência, a distância interbacteriana, determinando a difusão do substrato e dos ácidos para a superfície dentária. Fu et al. (1991) afirmam que uma maior concentração de polissacarídeos levaria, como consequência, a uma placa dental mais cariogênica já que quedas mais acentuadas de pH ocorreriam na interface dente-placa.

Os dados analisados referentes à capacidade *in vitro* das amostras de *S. mutans*, *S. sobrinus* e da associação *S. mutans / S. sobrinus* em reduzir o pH do meio, acrescido de 10% de diferentes carboidratos, onde foram cultivadas, podem ser observados nas figuras II, III e IV. Os resultados demonstraram quedas significativas do pH do meio abaixo do nível crítico (5,5), principalmente aqueles enriquecidos com sacarose, glicose e frutose nos três períodos iniciais (3, 6 e 12 horas), e uma tendência de manutenção ou elevação desses valores no período final (48 horas). Esses dados têm uma importância significativa em relação ao potencial cariogênico dessas espécies, isoladas e em associação, frente aos diferentes carboidratos, considerando-se as afirmações de Cury (1992) e Löesche (1993), os quais mostraram que o pH de 5,5, na cavidade oral é crítico, pois, até esse limite, o produto iônico das concentrações de cálcio e fósforo na placa dental da maioria dos indivíduos é maior do que a dos íons em equilíbrio de uma suspensão de hidroxiapatita. Os autores ainda ressaltam que a presença de microrganismos, como estreptococos, capazes de induzir a um pH menor que 5,5, faz com que a composição da placa dental em cálcio e fósforo torne-se inferior em relação ao produto de solubilidade da hidroxiapatita; desse modo, a tendência físico-química é de que o esmalte dental perca cálcio e fósforo para o meio bucal, tentando atingir um novo estado de equilíbrio em função do

pH alcançado; como consequência, ocorre a dissolução do esmalte.

Os resultados obtidos da análise da produção de placa bacteriana *in vitro* e ácidos mostram que esses determinantes são dependentes de diversos fatores que interagem entre si e atuam diretamente no processo carioso. Estudos comparativos *in vitro* e *in vivo*, realizados concomitantemente, devem ser levados a efeito no sentido de se entender adequadamente os mecanismos de colonização das superfícies dentárias e as interações entre as espécies de estreptococos do grupo mutans e os açúcares presentes na dieta, dando continuidade às pesquisas com ênfase no potencial cariogênico desses microrganismos.

Conclusões

A sacarose é o principal substrato glicídico em relação à produção de placa bacteriana, com valores estatisticamente superiores quando comparada aos demais carboidratos analisados.

A espécie *S. mutans*, isoladamente, e a associação *S. mutans / S. sobrinus* produzem quantidades estatisticamente superiores de placa bacteriana *in vitro* quando cultivados em meio de cultura acrescido de 10% de sacarose.

As amostras de *S. mutans* e *S. sobrinus*, isoladas e em associação, comportam-se de modo diversificado ao longo do período de incubação, apresentando momentos distintos de maior abaixamento do pH do meio de cultura a valores inferiores ao considerado como crítico.

Abstract

The formation of bacterial plaque and acids *in vitro* by *S. mutans* and *S. sobrinus*, individually and in association, using different sugars as sucrose, glucose, fructose and glucose + fructose was evaluated. The sucrose substrate showed superior statistical values in relation to bacterial plaque formation when compared to other

analysed carbo-hydrates. The *S. mutans* species, individually and the association *S. mutans / S. sobrinus*, showed superior statistical amount of bacterial plaque *in vitro* when cultivated in environment added of 10% of sucrose. The species *S. mutans* and *S. sobrinus*, individually and in association, did not show a homogeneous behavior for acid production, showing different moments of pH, decreasing along the incubation period.

Key words: *S. mutans*, *S. sobrinus*, carbo-hydrate, dental caries.

Referências bibliográficas

- AHMADY, K.; MARSH, P.D.; NEWMAN, H.N.; BULMAN, J.S. Distribution of *S. mutans* and *S. sobrinus* at sub-sites in human approximal dental plaque. *Caries Res.*, Basel, v.27, p.135-9, 1993.
- ASHLEY, F.P.; WILSON, R.F. The relationship between dietary sugar experience and the quantity and biochemical composition of plaque in man. *Archs. Oral Biol.*, Oxford, v.22, n.7, p.409-414, 1977.
- BABAIAHMADY, K.G.; CHALLACOMBE, S.J.; MARSH, P.D.; NEWMAN, H.N. Ecological study of *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sobrinus* and *Lactobacillus* spp. At sub-sites from approximal dental plaque. *Caries Res.*, Basel, v.32, p.51-8, 1998.
- BEIGHTON, D.; RIPPON, H.R.; THOMAS, H.E.C. The distribution of *S. mutans* serotypes and dental caries in a group of 5 to 8 year old Hampshire schoolchildren. *Br. Dent. J.*, London, v.162:, p.103-6, 1987.
- BORDEN, L.W.; OSTROM, C.A.; KONLONRIDES, T. Establishment of potentially cariogenic in an experimental human plaque. I: *streptococcus mutans*. *J. Dent. Res.*, Washington, v.59, n.3, p.588-93, 1980.
- BOWEN, W.H. ; TABAK, L.A. *Cariologia para a década de 90*. São Paulo: Santos, 1995.
- BOWEN, W.H. The induction of rampant dental caries in monkeys (*Macaca irus*). *Caries Res.*, Basel, v.3, p.227-37, 1969.
- BRECX, M.; THEILADE, J.; ATTSTROM, R. Ultrastructural estimation of the effect of sucrose and glucose rinses on early dental plaque formed on plastic films. *Scand. J. Dent. Res.*, Copenhagen, v.89, n.2, p.157-164, Apr. 1981.
- CRITCHLEY, P. et al. The polymerization of dietary sugars by dental plaque. *Caries Res.*, Basel, v.1, p.112-129, 1967.
- CURY, J.A. Uso do Fluor. In: BARATIERI, L. N. *Dentística. Procedimentos Preventivos e Restauradores*. 2.ed. São Paulo:
- Santos, 1992.
- DAVEY, A.L.; ROGERS, A.H. Multiple types of the bacterium *Streptococcus mutans* in the human mouth and their intra-family transmission. *Archs. Oral Biol.*, Oxford, v.29, n.6, p.453-460, 1984.
- DONOGHUE, H.D.; PERRONS, C.J. Effect of nutrients on defined bacterial plaques and *Streptococcus C67-1* implantation in a model mouth. *Caries Res.*, Basel, v.25, n. 2, p.108-15, 1991.
- EMILSON, C.G. Prevalence of *S. mutans* with different colonial morphologies in human plaque and saliva. *Scand. J. Dent. Res.*, Copenhagen, v.91, n.1, p.26-32, Feb. 1983.
- FITZGERALD, R.J. Dental caries research in gnotobiotic animals. *Caries Res.*, Basel, v.2, p.139-46, 1968.
- FITZGERALD, R.J.; JORDAN, H.V.; STANLEY, HR. Experimental caries and gingival pathologic changes in the gnotobiotic rat. *J. Dent. Res.*, Washington, v.39, 923-35, 1960.
- FU, J. et al. Effect of plaque thickness on glucose retention and acid productions. *J. Dent. Res.*, Washington, v.70, 1991. [Abstract, 1815]
- GAWRONSKI, T.H. et al. Effects of dietary sucrose levels on extracellular polysaccharide metabolism of human dental plaque. *J. Dent. Res.*, Washington, v.54, n.4, p.881-890, July/Aug. 1975.
- GIBBONS, R.J.; BERMAN, K.S.; KNOETTNER, P.; KAPSIMALIS, B. Dental caries and alveolar bone loss in gnotobiotic rats infected with capsule forming streptococci of human origin. *Archs. Oral Biol.*, Oxford, v.11, p.549-60, 1966.
- GIBBONS, VAN HOUTE, J. On the formation of dental plaque. *J. Periodont.*, Chicago, v.44, n.6, p.347-360, June 1973.
- GUGGENHEIM, B.; KONIG, K.G.; MUHLEMANN, H.R. Modifications of the oral bacterial flora and their influence on dental caries in rat. The effects of inoculating 4 labelled strains of streptococci. *Helv. Odontol. Acta.*, v.9, p.121-9, 1965.
- HARDIE, J.M. Oral streptococci. In: SNEATH, P.H.A.; MAIR, N.S.; SHARPE, M. E.; MOLT, J. G. *Bergey's Manual Systematic Bacteriology*, v. 11. Baltimore: Williams & Wilkins, 1986. p. 337-368.
- 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.*, Basel, v.27, p.292-297, 1993.
- IKEDA, T.; KURITA, T.; HIDAKA, H.; MICHALEK, S.M.; HIRASAWA, M. Low-cariogenicity of the tetrasaccharide nystose. *Gen. Pharmac.*, Exeter, v.21, p.175-9, 1990.
- IKEDA, T.; KURITA, T.; HIRASAWA, M. Suppression of *Streptococcus sobrinus* 6715(9) in plaques by *Streptococcus mutans* 32K(c). *J. Oral Path.*, Cope-

- nhagen, v.17, p.471 4, 1988.
- JORDAN, H.V.; KEYES, P.H. *In vitro* methods for the study of plaque formation and carious lesions. *Archs. Oral Biol.*, Oxford, 11: 793-801, 1966.
- JÜRGENSEN, C.A. ; ARAUJO, W.C. Formação de placa bacteriana *in vitro*. *Arg. Cent. Est. Fac. Odont.*, Belo Horizonte, v.4, p.87-93, 1967.
- KEYES, P.H. Research in dental caries. *J. Amer. Dent. Ass.*, Chicago, v.76, p.1357-1373, 1968.
- KÖHLER, B. ; BJARNASON, S. Mutans streptococci, lactobacilli and caries prevalence in the 11 and 12 year old Iceland children. *Community Dent. Oral Epidemiol.*, Copenhagen, v.15, p.332-335, 1987.
- KRASSE, B. Human streptococci and experimental caries in hamsters. *Archs. Oral Biol.*, Oxford, v.2, p.429-36, 1966.
- . The effect of the diet on the implantation of caries-inducing streptococci in hamsters. *Archs. Oral Biol.*, Oxford, v.10, p.215-21, 1965.
- LINDIQUIST, B. ; EMILSON, C.G. Dental location of *S. mutans* and *S. sobrinus* in humans harboring both species. *Caries Res.*, Basel, v.25, p. 146-152, 1991.
- LOESCHE, W.J. ; SYED, S.A. The predominant cultivable flora of carious plaque and carious dentine. *Caries Res.*, Basel, v.7, p.201-216, 1973.
- LOESCHE, W.J. *Cárie Dental*. Uma infecção tratável. Rio de Janeiro: Cultura Médica, 1993.
- MACPHERSON, L.M.D., DAWES, C. Effects of salivary film velocity on pH changes in an artificial plaque containing *Streptococcus oralis*, after exposure to sucrose. *J. Dent. Res.*, Washington, v.70, n.9, p.1230-1234, Sept. 1991.
- MANDEL, I.D. Relation of saliva and plaque to caries. *J. Dent. Res.*, Washington, v.53, p.246-271, 1974.
- MARGOLIS, H.C. et al. Effect of sucrose concentration on the cariogenic potential of pooled plaque fluid from caries-free and caries-positive individuals. *Caries Res.*, Basel, v.27, n.6, p.467-473, 1993.
- MENAKER, L. *Caries dentárias*. Bases biológicas. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, 1984.
- OLIVEIRA, C.M. *Isolamento e caracterização de Streptococcus de placa dental*. Tese (Doutoramento) - Instituto de Microbiologia - Universidade Federal do Rio de Janeiro, 1974.
- OLSSON, J., VAN DER HIJDE, Y., HOLMBERG, K. Plaque formation *in vivo* and bacterial attachment *in vitro* on permanently hydrophobic and hydrophilic surfaces. *Caries Res.*, Basel, v.26, n.6, p.428-433, 1992.
- . Plaque formation *in vivo* and bacterial attachment *in vitro* on permanently hydrophobic and hydrophilic surfaces. *Caries Res.*, Basel, v.26, p.428-433, 1992.
- RÖLLA, G.; SHEIK, A.A.; CIARDI, J.E. Role of sucrose in plaque formation. *Scand. J. Dent. Res.*, Copenhagen, v.93, n.2, p.105-111, Apr. 1985.
- SCHEININ, A. The effect of various sugar on the formation and chemical composition of dental plaque. *Int. Dent. J.*, Surrey, v.21, n.3, p.302-321, Sept. 1971.
- SKINNER, A., CONNOLLY, P., NAYLOR, M.N. The influence of the replacement of dietary sucrose by maltose on the formation and biochemistry of human dental plaque. *Archs. Oral Biol.*, Oxford, v.27, n.7, p.603-608, 1982.
- STEPHAN, R.M. Intraoral hydrogen-ion concentrations associated with dental caries activity. *J. dent. Res.*, Washington, v.23, p.257-266, 1944.
- TAKEHARA, T.; ITOH, M.; HANADA, N.; SAEKI, E. pH change in artificial dental plaque formed by glucosyltransferase and some oral bacteria during batch and continuous culture. *J. Dent. Res.*, Washington, v.64, n.3, p.447-449, 1985.
- TENOVUO, J.; JENTSCH, H; SOUKKA, T.; KARHUVAARA, L. Antimicrobial factors of saliva in relation to dental caries and salivary levels of mutans streptococci. *J. Biol. Buccale*, Paris, v.20, p.85-90, 1992.
- WENNERHOLM, K.; BIRKHED, D.; EMILSON, C.G. Effects of sugar restriction on *Streptococcus sobrinus* in saliva and dental plaque.. *Caries Res.*, Basel, v.29, n.1 p.54-56, 1995.

Endereço para correspondência:

Prof Dr. José Francisco Höfling
Laboratório de Microbiologia e Imunologia -
FOP / Unicamp
Av. Limeira, 901 - Bairro Areião
CEP 13414-018 - Caixa Postal 52
Piracicaba - SP

