

Ana Laryssa Ferreira Gomes¹
Felipe Dantas Silveira²
Tatiana Nunes Mascarenhas Sá³
Karina Matthes de Freitas Pontes⁴
Eveline Turatti⁵
Sérgio Lima Santiago⁶

Caries risk in children with and without immunodeficiency - a comparative study

| Estudo comparativo do risco à cárie em crianças saudáveis e imunocomprometidas

ABSTRACT | Purpose: Compare the risk for dental caries between a group of immunodeficient children and a group of healthy children, by analysis of salivary flow (SF), the hydrogenionic potential of saliva (pH), buffering capacity (BC), *Streptococcus mutans* count (SM) and the presence of dental caries. Methodology: Thirty children were selected for this study and divided in G1- immunodeficient children and G2-healthy children. Salivary flow (SF) was obtained by the method of stimulated saliva. The measurement of pH and TC levels were measured by pH indicator strips. To determine *Streptococcus mutans* (SM), 0.1 ml of each sample was transferred to a microtube with 0.9 ml sterile NaCl. Four dilutions were made and 0.1 ml aliquots of each dilution were inoculated in Mitis salivarius agar and incubated at 37 °C for 48h. The children underwent to an intraoral clinical examination to identify dental caries. The data were analyzed by the Mann-Whitney test ($\alpha=0.05$). Results: G1 and G2 showed very low values of SF. Both groups showed normal pH values. With regard to BC, the majority of subjects in both groups had pH > 5.5. There was no statistically significant difference regarding the levels of SF, SM and the presence of carious lesions. Conclusion: Immunodeficiency was not a determinant factor to increase the risk of caries to the evaluated children.

Keywords | Dental caries; Immunosuppression; Pediatric dentistry.

RESUMO | Objetivo: Comparar o risco à cárie entre um grupo de crianças imunocomprometidas e um grupo de crianças saudáveis, por meio de análise do fluxo salivar (FS), do potencial hidrogeniônico da saliva (pH), da capacidade tampão (CT), da contagem de *Streptococcus mutans* (SM) e da presença de lesões de cárie. Metodologia: Trinta crianças foram separadas em dois grupos: G1- crianças imunodeficientes, G2- crianças saudáveis. O FS foi obtido pelo método de saliva total estimulada. A medição do pH e da CT foi realizada com fitas indicadoras de pH. Para a contagem de SM, um volume de 0,1ml da saliva foi transferido para um microtubo contendo 0,9ml de NaCl. Quatro diluições foram feitas e alíquotas de 0,1ml foram plaqueadas em Ágar Mitis Salivarius, sendo posteriormente incubadas a 37° C por 48h. As crianças foram submetidas a exame clínico intraoral para identificação das lesões cáries. Os dados foram analisados pelo teste estatístico de Mann-Whitney ($\alpha=0,05$). Resultados: G1 e G2 tiveram valores de FS muito baixo. Os dois grupos apresentaram valores normais de pH. Com relação à CT, a maioria dos indivíduos de ambos os grupos apresentou pH > 5,5. Não houve diferença estatística significativa com relação aos níveis de FS, SM e presença de lesões de cárie. Conclusão: A imunodeficiência não foi um fator determinante para aumentar o risco à cárie das crianças avaliadas.

Palavras-chave | Cárie dentária; Imunodeficiência; Odontopediatria.

¹Acadêmica do Curso de Odontologia da Faculdade de Farmácia, Odontologia e Enfermagem da Universidade Federal do Ceará.

²Acadêmico do Curso de Odontologia da Faculdade de Farmácia, Odontologia e Enfermagem da Universidade Federal do Ceará.

³Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química da Universidade Federal do Ceará.

⁴Doutora e professora adjunta da Faculdade de Farmácia, Odontologia e Enfermagem da Universidade Federal do Ceará.

⁵Doutora e professora adjunta do Curso de Odontologia da Universidade de Fortaleza.

⁶Doutor e professor associado da Faculdade de Farmácia, Odontologia e Enfermagem da Universidade Federal do Ceará.

INTRODUÇÃO |

A cárie dental é uma doença infecciosa de natureza multifatorial, podendo aumentar de intensidade e de prevalência de acordo com as condições do ambiente oral, do hospedeiro e da sua dieta. Estudos mostram uma maior associação do *Streptococcus mutans* à cárie inicial, em detrimento dos *Lactobacillus*, que são mais comumente encontrados em estágios tardios, em que já se observam nichos de retenção²⁴. Pelas amostras salivares, é possível quantificar e qualificar a microbiota oral, bem como determinar o risco à cárie dentária, por meio da análise microbiológica, da capacidade tampão e do volume do fluxo salivar¹⁸.

A saliva é um produto advindo da produção das glândulas parótida, submandibular, sublingual e das glândulas salivares menores. Sua produção é induzida por estímulos psíquicos, mecânicos, físicos, químicos e biológicos. Compõe-se principalmente de água, totalizando 99%, além de componentes sólidos representados por moléculas orgânicas e inorgânicas. Esses elementos encontram-se dissolvidos no constituinte aquoso e diferem de um indivíduo para outro^{15,19}.

Dentre as inúmeras funções da saliva, destacam-se a proteção das estruturas duras e moles da boca, a contribuição na formação da película adquirida, a ação antimicrobiana e de defesa^{21,17}.

Pesquisas, nos campos da bioquímica, da microbiologia e da imunologia, foram intensificadas com o objetivo de desenvolver novas possibilidades do emprego de exames salivares como meio de diagnóstico. O ser humano é capaz de produzir cerca de 600ml de saliva por dia, o que facilita sua coleta para fins de análise, se comparada com o sangue. Além disso, a saliva acarreta baixo custo para sua armazenagem e transporte^{15,11}.

O risco à cárie é a predisposição que o indivíduo apresenta de sofrer perdas minerais no órgão dental em um determinado período. Múltiplos fatores relacionados com o hospedeiro, os microrganismos e o substrato são incluídos nos atuais modelos de prognóstico de cárie¹⁸. Crianças comprometidas sistemicamente tendem a apresentar um maior risco à cárie do que as crianças saudáveis³.

Em decorrência dos inúmeros avanços tecnológicos no campo da saúde, a expectativa de vida, em geral, aumentou, incluindo os grupos de pacientes imunodeficientes. Assim, estes últimos têm buscado com mais frequência o tratamento odontológico, exigindo que o cirurgião-dentista esteja mais preparado a realizar um diagnóstico

precoce para identificar aqueles mais susceptíveis à cárie²². Para tanto, exames complementares, como avaliação da capacidade tamponante da saliva, contagem de estreptococos do grupo *mutans*, medição do fluxo salivar, podem ser usados para auxiliar no diagnóstico precoce e tratamento da doença cárie⁶.

O objetivo do presente estudo foi comparar o risco à cárie entre um grupo de crianças imunocomprometidas e um grupo de crianças saudáveis, observando o volume de secreção salivar, do potencial hidrogeniônico (pH), da capacidade tamponante da saliva, dos níveis de *Streptococcus mutans* e da identificação de lesões de cárie.

MATERIAL E MÉTODO |

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética do Hospital São José de Doenças Infecciosas (Fortaleza-CE), sob o protocolo nº 021/2009. A amostra foi composta por 30 crianças, entre 6 e 12 anos de idade, sendo 15 crianças imunodeficientes do Hospital São José e 15 presumivelmente normossistêmicas da Clínica de Odontopediatria da Universidade Federal do Ceará, escolhidas de forma aleatória. Todos os pais ou responsáveis legais dos participantes assinaram um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

O delineamento experimental da pesquisa foi do tipo observacional, transversal, quantitativo e descritivo. Inicialmente, o responsável legal de cada participante respondeu a um questionário contendo dados pessoais e sobre o estado geral de saúde da criança.

Fluxo salivar

Após um mínimo de duas horas de jejum, uma amostra de saliva foi coletada de cada participante, entre 8 e 9 horas da manhã, ou à tarde, entre 13 e 14 horas, de acordo com a disponibilidade do local. A coleta de saliva foi realizada de forma estimulada, por meio mecânico, em que os participantes mascaram um pedaço de um material inerte – látex da marca Parafilm® (Chicago, Illinois, USA) – durante seis minutos para posterior e imediata coleta de saliva, que era engolida no primeiro minuto e expelida nos cinco minutos seguintes. As amostras foram armazenadas em um isopor com gelo e encaminhadas imediatamente para análise. Em seguida, a saliva foi colhida com uma seringa descartável e somente os componentes líquidos foram mensurados. O resultado do fluxo salivar foi determinado por ml/min (xerostomia < 0,1ml/min; muito baixo entre

0,1 e 0,7ml/min; baixo entre 0,7 e 1 ml/min; normal entre 1,0 e 2,0ml/min e alto acima de 2,0ml/min)^{2,25}.

Potencial hidrogeniônico da saliva

A medição do pH da saliva foi realizada com o auxílio de uma fita indicadora de pH (0 a 14) da marca Machery Nagel® (Düren, Nordrhein-Westfalen, Deutschland). Essa fita ficava incluída em saliva por 10min e, então, era removida. Nesse momento, usando o método colorimétrico, o pH era indicado pela mudança de cor da fita, conforme indicação do fabricante²⁰.

Capacidade tampão

Para a análise da capacidade tampão, 0,5ml de saliva, era misturado com 1,5ml de HCl 5mM em um microtubo estéril. Em seguida, os microtubos eram agitados por 1min e, posteriormente, abertos para que houvesse a saída de CO₂. Após 5min, o pH final pôde ser determinado com o auxílio de uma fita indicadora (0-14) Machery Nagel®²⁰.

Contagem de *Streptococcus mutans*

Um volume de 0,1ml de cada amostra foi transferido para um tubo estéril contendo 0,9ml de solução salina estéril (NaCl a 0,9%). Após agitação por 60s, foi feita uma diluição em série decimal de (1:10), (1:100), (1:1000), (1:10000) e alíquotas de cada diluição foram plaqueadas em placas Petri contendo Ágar mitis Salivarius HIMEDIA® (Maharashtra, Mumbai, Índia) acrescido de bacitracina (200 unidades/l) e Telurito a 1%, utilizando-se, para tanto, a técnica *spread plate*, que consiste no espalhamento de 0,1ml da alíquota com auxílio da Alça de Drigalski. As placas foram incubadas a 37° C em atmosfera parcial de 10% de CO₂ por 48h. Foram consideradas para contagem as colônias com características morfológicas de *Streptococcus mutans*⁷. Os resultados foram expressos em unidades formadoras de colônias por mililitro de saliva (UFC/ml).

Identificação de lesões de cárie

Os exames clínicos intraorais foram realizados com a criança sentada e o examinador de pé, sendo utilizado um espelho bucal plano, sonda exploradora de ponta romba e gaze. O examinador foi treinado e calibrado de acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS) um mês antes da coleta das amostras, obtendo uma concordância

intraexaminador pelo teste Kappa de 0,95, que corresponde a uma ótima concordância¹.

Análise estatística

O teste de Mann-Whitney foi empregado com o objetivo de verificar a associação entre os dois grupos quanto aos valores de fluxo salivar, pH, capacidade tampão, níveis de *Streptococcus mutans* e lesões de cárie. Para todas as análises, foi considerado o nível de significância de 5%.

RESULTADOS |

A média de idade da amostra foi de 8,6 anos para o grupo de crianças imunodeficientes (G1) e de 8,3 anos para crianças normossistêmicas (G2). No total de 30 crianças, 16 eram do gênero feminino e 14 do gênero masculino. Os dados referentes ao fluxo salivar, ao pH inicial e à capacidade tampão da saliva dos grupos G1 e G2 são apresentados na Tabela 1. A Tabela 2 demonstra a quantidade de lesões de cárie presentes em cada grupo, relacionando com a quantidade de dentes presentes. Os Gráficos 1 e 2 demonstram as análises microbiológicas das amostras de saliva do G1 e G2, respectivamente. Não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos em todos os fatores de variação analisados ($p > 0,05$).

Tabela 1 – Média do fluxo salivar, pH da saliva e capacidade tampão

Grupo/ variável	Fluxo salivar (ml/min)	pH da saliva	Capacidade tampão
G1	0,54a	7,53	6,06
G2	0,50a	7,01	6,4

Letras iguais em uma mesma coluna indicam ausência de diferença estatística significativa ($p = 0,37$). Teste de Mann-Whitney

Tabela 2 – Número de lesões cariosas relacionadas com o número de dentes presentes

Grupo/variável	Nº de dentes	Nº de lesões
G1	358a	27b
G2	352a	33b

Letras iguais em uma mesma coluna indicam ausência de diferença estatística significativa ($p = 0,18$). Teste de Mann-Whitney

Gráfico 1 – Contagens salivares dos *Streptococcus mutans* em UFC/ml do G1- Grupo de crianças imunodeficientes (n=15)

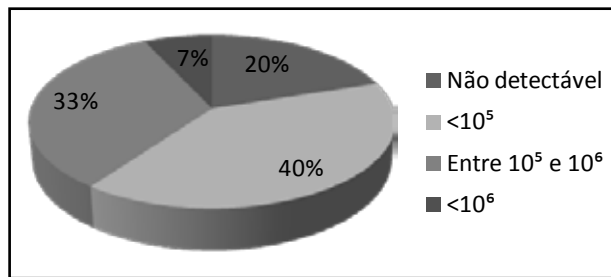
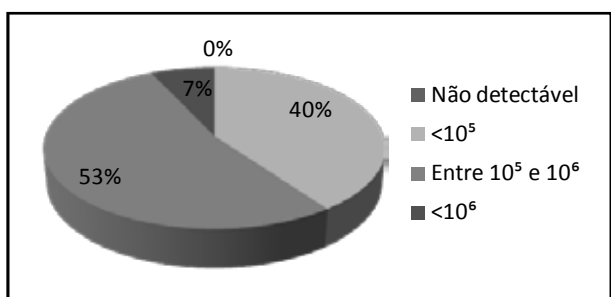


Gráfico 2 – Contagens salivares dos *Streptococcus mutans* em UFC/ml do G2- Grupo de crianças normossistêmicas (n=15)



DISCUSSÃO |

Embora a cárie dental seja uma doença dependente das condições do hospedeiro, da microbiota, da dieta e também dos fatores socioculturais, há grande influência da saliva no surgimento e progressão dessa doença ⁵.

O presente estudo revelou que ambos os grupos de análise apresentaram um valor de fluxo salivar baixo (40 % para G1 e 20% para G2) e muito baixo (53%-G1 e 80%-G2). Tais valores corroboram os achados de Moreira e colaboradores ¹³ que, em um estudo com 239 crianças entre seis e oito anos de idade, constataram que 46,6% do total apresentaram baixo fluxo salivar. Em 2008, Moura *et al.* ¹⁴ avaliaram o fluxo salivar estimulado em crianças (de 6 a 12 anos) e adolescentes (de 13 a 19 anos), demonstrando que as variáveis de gênero e idade não determinaram variações no fluxo salivar, em concordância com os achados do presente trabalho.

A saliva exerce importante papel de proteção ao hospedeiro devido à ação de alguns de seus componentes, como os íons, cálcio, fosfato e algumas proteínas que impedem que ocorra a desmineralização dos tecidos e promovem a remineralização deles. Tanto o G1 quanto o G2 apresentaram valores de pH dentro da normalidade, entre 6,0 e 8,0 ^{24,16}.

A capacidade tampão da saliva corresponde a um dos métodos mais utilizados para prever o risco à cárie do indivíduo, sendo definida como uma propriedade da saliva que mantém o pH dos fluidos orais constante. Existe uma relação direta entre o fluxo salivar e a capacidade tampão da saliva, pois, havendo uma redução da quantidade de saliva, ocorre também uma alteração no efeito da sua capacidade tamponante ^{17, 8}.

Neste estudo, tal relação não foi tão fortemente observada, uma vez que, das 30 amostras, apenas duas do G1 apresentaram valores da capacidade tampão abaixo de 5,5 (ambos iguais a 5,0). As demais amostras tiveram seus valores acima de 5,5, o que equivale a uma boa capacidade tampão. Esses dados estão em concordância com o estudo de Castilho *et al.* ²⁰ que avaliou o risco à cárie em 60 indivíduos e não observou correlação entre o baixo fluxo salivar e a capacidade tampão. Os baixos valores de fluxo salivar podem ser justificados pela faixa etária das crianças avaliadas neste estudo, pois crianças de menor idade costumam não ser tão colaboradoras, enquanto as crianças com mais idade podem sofrer influência das alterações hormonais inerentes dessa fase ²⁵.

Segundo Von Houte ⁹, o risco à cárie é identificado melhor com a quantificação dos níveis de *Streptococcus mutans* na saliva, devido à estreita associação numérica desses com a doença cárie em humanos. Ao se avaliarem os dois grupos, 33% do G1 e 53% do G2 apresentaram níveis de *Streptococcus mutans* entre 10⁵ e 10⁶, o que equivale a um médio risco à cárie. Entretanto, essa diferença percentual não foi estatisticamente significativa.

Silva-Boghossian *et al.* ²³ compararam dois grupos de crianças, sendo 42 imunocomprometidas (HIV +) e 36 crianças saudáveis (grupo controle), quanto à prevalência de *Streptococcus mutans* na saliva. Concluíram que o grupo controle apresentou maiores níveis de microrganismos cariogênicos. Castro *et al.* ³ realizaram estudo comparativo com 40 crianças imunocomprometidas e 40 crianças normossistêmicas, resultando em níveis similares de *Streptococcus mutans* para os dois grupos, corroborando os resultados encontrados no presente trabalho.

Crianças com algum comprometimento sistêmico são mais susceptíveis às doenças infecciosas, incluindo a cárie dentária. No entanto, estudos mostram que uma antibioticoterapia prolongada é capaz de alterar a microbiota oral do indivíduo, reduzindo ou até eliminando a colonização do *Streptococcus mutans* ^{23,12}. Tal fator pode ter influenciado a quantidade de microrganismos na saliva dos indivíduos que compunham o G1, pois todos faziam uso

de antibióticos.

Quanto à presença de lesões de cárie, não houve diferença estatística significativa entre G1 e G2 (27 lesões para G1 e 33 para G2). Kelly *et al.*¹⁰ avaliaram 218 crianças subdivididas em dois grupos (saudáveis e imunodeprimidas) e observaram que houve similaridade com relação à quantidade de lesões cáries. Segundo os autores, tais resultados correlacionaram-se com uma dieta cariogênica de ambos os grupos, achados também presentes neste estudo, uma vez que todas as crianças participantes tinham o hábito de ingerir sacarose entre as refeições.

CONCLUSÃO |

Com base na metodologia empregada e dentro das limitações do estudo, conclui-se que a imunodeficiência não representa um fator determinante para o aumento do risco à cárie das crianças avaliadas.

REFERÊNCIAS |

- 1 - Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria Políticas de Saúde. Departamento de Atenção Básica. Área Técnica de Saúde Bucal. Projeto SB2000. Condições de saúde bucal da população brasileira no ano 2000: manual de calibração dos examinadores. Brasília, Ministério da Saúde do Brasil; 2001.
- 2 - Castilho ARF *et al.* Caries prevalence, level of mutans streptococci, salivary flow rate, and buffering capacity in subjects with Down syndrome. *Braz J Oral Sci* 2007; 6: 1331-6.
- 3 - Castro GF, Souza IPR, Lopes S, Stashenko P, Teles RP. Salivary IgA to cariogenic bacteria in HIV-positive children and its correlation with caries prevalence and levels of cariogenic microorganisms. *Oral Microbiol Immunol* 2004; 18: 281-8.
- 4 - Castro GF, Souza IPR, Oliveira RHS, Portela MB, Esteves C. Prevalência de cárie e sua correlação com a classificação clínica e imunológica em crianças infectadas pelo HIV. *Pesquisa Odontológica Brasileira* 2001; 15: 91-7.
- 5 - Cornejo LS, Brunotto M, Hilas E. Factores salivales asociados a prevalencia e incremento de caries dental en escolares rurales. *Rev Saúde Pública* 2008; 42:19-25.
- 6 - Denny PC, Denny PA, Takashima J, Si Y, Mahvash DMDM, Galligan JMDDS. A novel saliva test for caries risk assessment. *J Calif Dent Assoc* 2006; 34: 287-94.
- 7 - Fonteles CS, Guerra MH, Ribeiro TR, Mendonça DN, de Carvalho CB, Monteiro AJ, Toyama DO, Toyama MH, Fonteles MC. Association of free amino acids with caries experience and mutans streptococci levels in whole saliva of children with early childhood caries. *Arch Oral Biol* 2009; 54: 80-5.
- 8 - Garcia LB, Bulla JR, Kotaka CR, Tognim MCB, Cardoso CL. Testes salivares e bacteriológicos para avaliação do risco de cárie. *RBAC* 2009; 41: 69-76.
- 9 - Houte JV. Microbiological predictors of caries risk. *Adv Dent Res* 1993; 7: 87-96.
- 10 - Kelly A, Soares LF, Pomarico L, Souza IPR. Risco e atividade de cárie em crianças com e sem infecção pelo HIV. *RGO* 2009; 57: 217-22.
- 11 - Koga-Ito CY, Martins CAP, Balducci I, Jorge AOC. Correlation among mutans streptococci counts, dental caries, and IgA to *Streptococcus mutans* in saliva. *Braz Oral Res* 2004; 18: 350-5.
- 12 - Law V, Seow WK e Townsend G. Factors influencing oral colonization of mutans streptococci in young children. *Australian Dental Journal* 2007; 52: 93-100.
- 13 - Moreira D *et al.* *Candida* spp. biotypes in the oral cavity of school children from different socioeconomic categories in Piracicaba - SP, Brazil. *Pesq Bras Odontoped Clin Integr* 2001; 15: 187-95.
- 14 - Moura JKD, Barros LA, Oliveira AEF, Ribeiro CCC, Lopes FF. Avaliação quantitativa do fluxo salivar estimulado em crianças e adolescentes. *Revista Odontologia Ciência* 2008; 23: 380-3.
- 15 - Moura SAB, Medeiros AMC, Costa FRH, Moraes PH, Oliveira Filho SA. Valor diagnóstico da saliva em doença orais e sistêmicas: uma revisão de literatura. *Pesq Bras Odontoped Clin Integr* 2007; 7: 187-94.
- 16 - Paiva E, Ferreira LP. Avaliação do risco de cárie em odontopediatria. *Acta Pediatr Port* 2009; 40: 59-64.
- 17 - Pedersen AM, Bardow A, Beier Jensen S, Nauntofte B. Saliva and gastrointestinal functions of taste, mastication, swallowing and digestion. *Oral Diseases* 2002; 8: 117-29.
- 18 - Sampaio TPD, Padilha WWN, Lira CC, Leite JCL, Santos-Filho L. Reprodutibilidade de teste salivar para microbiota cariogênica. *Pesq Bras Odontoped Clin Integr* 2003; 3: 65-9.
- 19 - Schützemberger ME, *et al.* Análise bioquímica do fluido salivar de indivíduos portadores de doença periodontal. *RSBO* 2007; 4: 46-52.
- 20 - Serratine ACP, Silva MRM. Validação de um método

simplificado de avaliação do pH salivar em crianças. *Pesq Bras Odontoped Clin Integr* 2009; 9: 217-21.

21 - Silva JYB *et al*. Mudanças do H salivar em crianças após a ingestão de suco de frutas industrializado. *RSBO* 2008; 5: 7-11.

22 - Silva ZCM, Pagnoncelli SD, Weber JBB, Fritscher AMG. Avaliação do perfil dos pacientes com necessidades especiais da clínica de odontopediatria da Faculdade de Odontologia da PUCRS. *Revista Odonto Ciência* 2005; 20: 313-8.

23 - Silva-Boghossian C, Castro GF, Teles RP, Souza IPR, Colombo APV. Salivary microbiota of HIV-positive children and its correlation with HIV status, oral diseases, and total secretory IgA. *International Journal of Paediatric Dentistry* 2008; 18: 205-16.

24 - Thylstrup A, Fejerskov O. *Cariologia clínica*. 2 ed. São Paulo: Ed. Santos; 1995.

25 - Torres SR, Nucci M, Milanos E, Pereira RP, Massaud A, Munhoz T. Variations of salivary flow rates in Brazilian school children. *Braz Oral Res* 2006; 20: 8-12.

Correspondência para / Reprint request to:

Sérgio Lima Santiago

Rua Monsenhor Furtado, s/n

Rodolfo Teófilo - Fortaleza - CE

CEP: 60430-355

e-mail: sergiosantiago@yahoo.com