

RESPOSTA CARIOGÊNICA DE BIOFILMES GERADOS A PARTIR DA SALIVA DE CRIANÇAS COM E SEM CÁRIE NA PRIMEIRA INFÂNCIA

AZEVEDO, Marina Sousa¹, VAN DE SANDE, Françoise Hélène¹, FERREIRA, Vinícius Mattiazzi¹, CENCI, Maximiliano Sergio¹, ROMANO, Ana Regina¹

1. *Faculdade de Odontologia, Universidade Federal de Pelotas.*

marinasazevedo@hotmail.com

fvandesande@gmail.com

vinimattiazzi@hotmail.com

cencims@gmail.com

romano.ana@uol.com.br

1 INTRODUÇÃO

Cárie é definida como uma doença infecciosa e crônica, sendo uma das doenças mais prevalentes em seres humanos. Quando a cárie acomete bebês e crianças pré-escolares é chamada de Cárie na primeira infância (CPI) (POURESLAMI; VAN AMERONGEN, 2009). Enquanto fatores genéticos, comportamentais, culturais, sociais e ambientais têm sido apontados como fatores etiológicos da cárie dentária (HALLETT; O'ROURKE, 2003; GUSSY et al., 2006), a causa direta são os microrganismos pertencentes à microflora oral residente, os quais são organizados em comunidades complexas, o biofilme (SCHEIE; PETERSEN, 2004).

Tem sido sugerido que a transição na composição da placa entre condição de saúde e doença é impulsionada por uma resposta dos membros da comunidade microbiana às alterações ambientais, resultando na seleção de componentes previamente presentes em menor quantidade na microflora (PARISOTTO et al., 2010). No entanto, indivíduos apresentam diferenças intrínsecas no seu ambiente bucal e diferem quanto a composição da microbiota, o que sugere diferenças na progressão da doença e na resposta a tratamentos (FILOCHE et al., 2007; RASIAH et al., 2005).

Estudos utilizando culturas de biofilme de microcosmos mostraram que as respostas da microbiota da placa, formação da biomassa e do pH à suplementação de sacarose são diferentes entre as pessoas (FILOCHE et al., 2007; FILOCHE et al., 2008). Assim, foi testada a hipótese de que biofilmes de microcosmos crescidos a partir do inóculo de crianças com ou sem cárie na primeira infância (CPI) dariam a mesma resposta cariogênica sob exposição regular à sacarose em um modelo de biofilme padronizado.

2 METODOLOGIA (MATERIAL E MÉTODOS)

Foram selecionadas 3 crianças de 54 a 71 meses para cada grupo: livres de cárie; com CPI; com CPI severa. Os biofilmes iniciados a partir da saliva de cada indivíduo foram crescidos por 10 dias sobre discos de esmalte bovino em saliva artificial a base de mucina (DMM) em placas de 24 poços. O grupo desafio cariogênico recebeu DMM com 1% de sacarose (DMM+s) por 6 horas, após os discos foram lavados por 10 segundos em solução salina estéril e transferidos para uma nova placa com DMM por 18 horas, enquanto que o grupo sem desafio

cariogênico recebeu DMM por 24 horas. O pH do DMM e DMM+s foi aferido diariamente e os meios foram renovados a cada 24h. Os biofilmes foram coletados para avaliar a composição microbiana, e para cada disco de esmalte foi avaliada a porcentagem de perda de dureza de superfície (%PDS). Os dados foram analisados com ANOVA duas vias (fator exposição à sacarose e fator grupo), seguido do Teste de Tukey ($\alpha = 0,05$).

3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

A porcentagem de perda de microdureza de superfície (%PDS) dos discos de esmalte não diferiu estatisticamente entre os grupos (LC, CPI e CPI-S) ($p > 0,05$), mas na condição com desafio cariogênico houve uma perda mineral significativamente maior do que aquelas tratadas somente com DMM (sem desafio cariogênico) ($p < 0,001$) (Figura 1).

A média de pH do DMM com 1% de sacarose foi o menor observado ($p < 0,001$). Considerando os dados de pH do DMM sem sacarose, os grupos que foram suplementados pelo tratamento com DMM+s por 6h/dia tiveram valores menores de pH do que os grupos com DMM sem suplementação de açúcar por 24h/dia (sem desafio cariogênico) ($p < 0,001$). Uma explicação para este evento é que a sacarose serve como substrato para a síntese de polissacarídeos extracelulares (PEC) e intracelulares (PIC) na placa dentária e ambos têm um importante papel na cariogenicidade do biofilme. Polissacarídeos extracelulares aumentam a porosidade na matriz da placa dentária e conseqüentemente sua difusibilidade aos substratos, aumentando a acidogenicidade da matriz do biofilme, PIC promovem menores níveis de pH durante os períodos de carência de nutrientes prolongando a exposição das superfícies dentárias aos ácidos orgânicos (PAES LEME et al., 2006; AIRES et al., 2006). Assim, a exposição à sacarose leva a uma diminuição do pH, favorecendo o crescimento e a seleção de bactérias cariogênicas e, conseqüentemente, levando a uma maior desmineralização.

Biofilmes que foram iniciadas a partir da saliva de indivíduos cárie-ativos poderiam ser mais eficientes e rápidas em reduzir o valor de pH, no entanto essas biofilmes teriam levado a uma maior perda mineral, o que não foi observado. Uma limitação desta avaliação é que, embora o modelo escolhido permita períodos de baixo pH e pH neutro, o modelo em si não é um modelo de fluxo contínuo, como é a cavidade bucal humana. Com este, diferentes respostas talvez pudessem ser observadas.

Com relação à composição da microbiota do biofilme, houve uma mudança substancial nas placas de microcosmos suplementadas com sacarose. Após 10 dias de crescimento, um aumento na contagem de acidúricos totais, *S. mutans* e lactobacilos totais foram observadas nas placas sob desafio cariogênico.

No conjunto, diferenças observadas na composição microbiana dos biofilmes das crianças foram estatisticamente associadas à presença ou ausência de desafio cariogênico e não ao grupo (origem do inóculo/saliva) a que pertenciam.

A composição da microbiota de biofilmes in vivo e in vitro tem mostrado ser afetada pela exposição à sacarose e pelas condições ácidas associadas (SISSONS et al., 2007; FILOCHE et al., 2007). Da mesma forma, após 10 dias de desenvolvimento dos biofilmes, diferenças na composição da microbiota puderam ser vistas entre DMM com e sem 1% de sacarose. A exposição à sacarose aumenta a população de lactobacilos e *S. mutans* no biofilme em estudos in situ (RIBEIRO et al., 2005) e in vivo (ELLEN et al., 1985). Similarmente, nesta investigação níveis

mais elevados de bactérias cariogênicas foram observados em todos os grupos submetidos ao desafio cariogênico em comparação com o controle, como esperado. Indivíduos que frequentemente consomem açúcar na sua dieta em geral têm níveis elevados de bactérias cariogênicas na placa e estão em maior risco de desenvolver cárie (MARSH, 2003).

Os dados do presente estudo mostram que nenhuma diferença foi encontrada entre os grupos LC, CPI e CPI-S de crianças, porém uma significativa maior perda mineral pôde ser notada no grupo com desafio cariogênico, suportando a Hipótese Ecológica da Placa (MARSH, 2003) para cárie. Ou seja, sob uma determinada pressão ambiental (condições regulares de açúcar e baixo pH) a população microbiana muda para se tornar indutora de doença.

4 CONCLUSÕES

Conclui-se que o crescimento de biofilmes de microcosmos originados a partir do inóculo de crianças com e sem Cárie na Primeira Infância promovem resposta cariogênica similar sob exposições regulares de sacarose, sugerindo que a ecologia bucal dos indivíduos possui papel menos relevante do que fatores ambientais, como a ingestão de açúcar no desenvolvimento de cárie.

5 REFERÊNCIAS

POURESLAMI HR, VAN AMERONGEN WE. Early Childhood Caries (ECC): an infectious transmissible oral disease. **Indian Journal of Pediatrics**, v.76, n.2, p.191-194, 2009.

HALLETT KB, O'ROURKE PK. Social and behavioural determinants of early childhood caries. **Australian Dental Journal**, 2003 Mar;48(1):27-33.

GUSSY MG, WATERS EG, WALSH O, KILPATRICK NM. Early childhood caries: Current evidence for aetiology and prevention. **Journal of Paediatric and Child Health**, v.42, n.1-2, p.37-43, 2006.

SCHEIE AA, PETERSEN FC. The biofilm concept: consequences for future prophylaxis of oral diseases? **Critical Reviews in Oral Biology & Medicine**, v.15, n.1, p.4-12, 2004.

PARISOTTO TM, STEINER-OLIVEIRA C, DUQUE C, PERES RC, RODRIGUES LK, NOBRE-DOS-SANTOS M. Relationship among microbiological composition and presence of dental plaque, sugar exposure, social factors and different stages of early childhood caries. **Archives of Oral Biology**, v.55, n.5, p.365-373, 2010.

FILOCHE SK, SOMA KJ, SISSONS CH. Caries-related plaque microcosm biofilms developed in microplates. **Oral Microbiology and Immunology**, v.22, n.2, p.73-79, 2007.

RASIAH IA, WONG L, ANDERSON SA, SISSONS CH. Variation in bacterial DGGE patterns from human saliva: over time, between individuals and in corresponding dental plaque microcosms. **Archives of Oral Biology**, v.50, n.9, p.779-787, 2005.

FILOCHE SK, SOMA D, VAN BEKKUM M, SISSONS CH. Plaques from different individuals yield different microbiota responses to oral-antiseptic treatment. **FEMS Immunology and Medical Microbiology**, v. 54, n.1, p.27-36, 2008.

PAES LEME AF, KOO H, BELLATO CM, BEDI G, CURY JA. The role of sucrose in cariogenic dental biofilm formation-new insight. **Journal of Dental Research**, v.85, n.10, p.878-887, 2006.

AIRES CP, TABCHOURY CP, DEL BEL CURY AA, KOO H, CURY JA. Effect of sucrose concentration on dental biofilm formed in situ and on enamel demineralization. **Caries Research**, v.40, n.1, p.28-32, 2006.

SISSONS CH, ANDERSON SA, WONG L, COLEMAN MJ, WHITE DC. Microbiota of plaque microcosm biofilms: effect of three times daily sucrose pulses in different simulated oral environments. **Caries Research**, v.41, n.5, p.413-422, 2007.

RIBEIRO CC, TABCHOURY CP, DEL BEL CURY AA, TENUTA LM, ROSALEN PL, CURY JA. Effect of starch on the cariogenic potential of sucrose. **British Journal Nutrition**, v.94, n.1, p.44-50, 2005.

ELLEN RP, BANTING DW, FILLERY ED. Streptococcus mutans and Lactobacillus detection in the assessment of dental root surface caries risk. **Journal of Dental Research**, v.64, n.10, p.1245-1249, 1985.

MARSH PD. Are dental diseases examples of ecological catastrophes? **Microbiology**, v.149, p.279-294, 2003.