ESTUDOS SÔBRE A INFLUÊNCIA DA ESCOVAÇÃO DENTAL NA MICROBIOTA DA PLACA DENTAL DE CRIANÇAS *

Josmari D'Arrigo Brito

Aluna da 3ª série do Curso de Odontologia Bolsista do Conselho de Pesquisas da U.F.R.G.S.

José Oscar Schneider Santos

Professor Adjunto do Departamento de Odontologia Preventiva e Social

João Antônio Neto Caminha

Auxiliar de Ensino do Departamento de Odontologia Preventiva e Social

Luiz Carlos Tovo

Professor Adjunto do Departamento de Odontologia Preventiva e Social

Paulo Monteiro Freitas

Professor Assistente do Departamento de Odontologia Preventiva e Social

SINOPSE

Material de placa dental colhido de 28 crianças, após três períodos de oito dias sob diferentes condições de higiene oral: sem escovação, escovação normal e escovação orientada. Após determinar o peso do material colhido, foram feitas diluições decimais e sementeiras em: agar sangue, meio de Sabouraud, agar *Mitis Salivarius*, meio de Snyder e McCarthy, meio de Rogosa SL e meio de Rogosa-lactato.

Resultados obtidos quanto ao número de microrganismos viáveis e dos grupos microbianos específi-

cos isolados, não apresentaram diferenças significativas após os três períodos da experiência.

INTRODUÇÃO

Vários estudos têm sido feitos sobre a microbiota da placa dental, tanto de adultos como de crianças, objetivando estabelecer qual a composição de sua população microbiana e, também, quais as diferenças em relação às microbiotas de outros nichos bacterianos da cavidade oral.

Gibbons e cols. (1964) examinando a flora da placa dental de pacientes entre 18 e 25 anos e Schnei-

* Trabalho realizado com auxílio do Conselho de Pesquisas da UFRGS.

der e Araújo (1969) estudando crianças com dentição decidua, relataram que são semelhantes no aspecto qualitativo, variando apenas na distribuição quantitativa. Ritz (1967) acompanhou, por um período de nove dias, as alterações qualitativas e quantitativas que ocorriam durante a formação da placa dental, constatando a presença inicial de microrganismos facultativos e aeróbios e, após, a implantação de anaeróbios; estes somente encontrariam condições favoráveis de implantação após o aumento de espessura da placa proporcionada pelos aeróbios e facultativos.

O objetivo deste trabalho é analisar as possíveis alterações na microbiota da placa dental, após períodos de variadas condições de higiene oral.

MATERIAL E MÉTODOS

Vinte e oito meninas de 7 a 12 anos, vivendo em um internato nas mesmas condições ambientais e com experiência de cárie variável, foram selecionadas para este trabalho.

A análise da microbiota da placa dental foi feita após a manutenção das crianças em três situações distintas:

1º — profilaxia dentária com curetas McCall, escovas e pedra pomes; período de oito dias sem escovação dentária e, após, remoção da placa dental para análise da microbiota;

2º — nova profilaxia e manutenção, por um período de oito dias, dos hábitos normais de higiene oral;

após, remoção da placa dental; e, finalmente,

3º — profilaxia dental semelhante às anteriores e, após, manutenção de higiene oral orientada na qual, durante oito dias, as crianças adotaram uma escovação correta, três vezes ao dia. Pelo menos em uma das vezes, diariamente, a escovação era observada por um dos autores (J.D.B.). Transcorridos os oito dias foi feita a última remoção da placa dental para exame de sua microbiota.

A placa dental foi obtida por raspagem das superfícies lisas, evitando alcançar o sulco gengival. O material foi pesado em papel de alumínio, previamente tarado e esterilizado, e disperso em salina fisiológica estéril com homogenizador de tecido; guardou-se a proporção de 1 mg de placa dental para 10 ml de salina — diluição 10^{-4} /g de material. A partir desta, também em salina, preparou-se diluições decimais até 10^{-9} .

Para a análise da microbiota da placa dental determinou-se o número total de microrganismos viáveis em agar sangue, semeando-se 0,1 ml das diluições 10^{-7} , 10^{-8} e 10^{-9} . Incubação em jaras FOPA de anaerobiose (Louro e cols, 1965) em atmosfera de 95% N e 5% CO_2 , durante 4 dias a 37°C .

A presença de *Fusobacterium* foi pesquisada em agar sangue acrescido de estreptomicina (20 ug/ml) e vancomicina (7,5 ug/ml) — McCarthy e Snyder (1963). Usou-se as diluições 10^{-4} , 10^{-5} e 10^{-6} e as placas semeadas foram incubadas por 4 dias

a 37°C, nas mesmas condições de anaerobiose.

Veillonella foi pesquisada pela semeadura, em profundidade, de 0,1 ml das diluições 10^{-4} , 10^{-5} e 10^{-6} no meio de Veillonella (Difco), adicionado de 7,5 ug/ml de Vancomicina (Lilly) — Rogosa (1956). Incubação em anaerobiose a 37°C, por 4 dias.

O número de **Candida** foi avaliado pela semeadura do material em meio de Sabouraud (BBL) adicionado de cloranfenicol (0,05 mg/ml). As colônias de **Streptococcus** foram isoladas em agar Mitis Salivarius (BBL) com 0,001% de telurito de potássio. Para a pesquisa de **Lactobacillus** usou-se o meio de Rogosa SL (Difco), com semeadura em profundidade. Nestes três meios de cultura semeou-se 0,1 ml das diluições 10^{-4} , 10^{-5} e 10^{-6} , incubação em aerobiose por 3 dias.

A ocorrência de microrganismos sintetizadores de amilopectina (SAP)

foi pesquisada pela semeadura de 0,1 ml das diluições 10^{-4} , 10^{-5} e 10^{-6} em meio de Trypticase Soy Agar (BBL) enriquecido com 3% de glicose (Gibbons e Socransky, 1962). Incubação por 5 dias em anaerobiose. Para a identificação dos microrganismos SAP, gotejou-se sobre as colônias uma solução de lugol, o qual, em presença do amido, confere uma coloração escura à colônia.

Placas de agar sangue semeadas com diluições 10^{-4} , 10^{-5} e 10^{-6} foram mantidas em anerobiose por 7 dias para pesquisa de **B. melaninogenicus**.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As tabelas 1, 2 e 3 expressam as contagens totais de microrganismos viáveis, de microrganismos SAP e de alguns grupos microbianos específicos das placas dentais colhidas após, respectivamente, os períodos: sem escovação, escovação habitual e escovação orientada.

TABELA 1

DETERMINAÇÃO DO NÚMERO TOTAL DE MICRORGANISMOS VIÁVEIS, DE MICRORGANISMOS SINTETIZADORES DE AMILOPECTINA E A OCORRÊNCIA DE GRUPOS MICROBIANOS ESPECÍFICOS NA PLACA DENTAL DE CRIANÇAS APÓS 8 DIAS SEM ESCOVAÇÃO

Microrganismo	Nº pacientes examinados	Nº médio microrganismo x g	Limites de variação
Streptococcus	25	939 x 10^6	4 — 202
Fusobacterium	19	109 x 10^6	2 — 243
Veillonella	27	1,7 x 10^6	0 — 12
Lactobacillus	28	0,1 x 10^6	0 — 34
Candida	28	0,1 x 10^6	0 — 11
Sintetizadores de amilopectina	24	479 x 10^6	2 — 145
Total viáveis	27	1,0 x 10^{10}	3 — 87

Em qualquer das etapas estudadas, *Streptococcus* facultativos foram os predominantes, confirmando os trabalhos de Gibbons e cols. (1964), Ritz (1967) e Schneider e Araújo

(1969), que relataram serem os estreptococos os mais frequentes na microbiota da placa dental tanto de adultos como de crianças.

TABELA 2

DETERMINAÇÃO DO NÚMERO TOTAL DE MICRORGANISMOS VIÁVEIS, DE MICRORGANISMOS SINTETIZADORES DE AMILOPECTINA E A OCORRÊNCIA DE GRUPOS MICROBIANOS ESPECÍFICOS NA PLACA DENTAL DE CRIANÇAS APÓS 8 DIAS COM ESCOVAÇÃO DENTÁRIA HABITUAL

Microrganismo	Nº pacientes examinados	Nº médio microrganismo x g	Limites de variação
<i>Streptococcus</i>	23	715×10^6	7 — 198
<i>Fusobacterium</i>	15	$83,9 \times 10^6$	1 — 201
<i>Veillonella</i>	26	$3,9 \times 10^6$	0 — 34
<i>Lactobacillus</i>	27	$0,03 \times 10^6$	0 — 22
<i>Candida</i>	28	$0,06 \times 10^6$	0 — 19
Sintetizadores de amilopectina	27	430×10^6	6 — 210
Total viáveis	22	$1,39 \times 10^{10}$	2 — 115

Os resultados encontrados quanto aos outros grupos microbianos específicos variam apenas na distribuição quantitativa em relação aos

trabalhos acima citados. Destacou-se, no entanto, a muito pequena frequência dos microrganismos do gênero *Veillonella*.

TABELA 3

DETERMINAÇÃO DO NÚMERO TOTAL DE MICRORGANISMOS VIAVEIS, DE MICRORGANISMOS SINTETIZADORES DE AMILOPECTINA E A OCORRÊNCIA DE GRUPOS MICROBIANOS ESPECÍFICOS NA PLACA DENTAL DE CRIANÇAS APÓS 8 DIAS COM ESCOVAÇÃO ORIENTADA

Microorganismo	Nº pacientes examinados	Nº médio microorganismo x g	Limites de variação
Streptococcus	18	908 x 10 ⁶	2 — 298
Fusobacterium	16	97,2 x 10 ⁶	2 — 187
Veillonella	20	1,2 x 10 ⁶	0 — 17
Lactobacillus	22	0,3 x 10 ⁶	0 — 48
Candida	20	0,4 x 10 ⁶	0 — 9
Sintetizadores de amilopectina			
	21	515 x 10 ⁶	1 — 185
Total viáveis	20	1,15 x 10 ¹⁰	2 — 98

Lactobacillus e **Candida** foram muito raros, comprovando mais uma vez não ser a placa dental um habitat natural destes microrganismos. Não foram isolados, em qualquer etapa do trabalho, **B. melaninogenicus**. Os sintetizadores de amilopectina foram muito numerosos, alcançando as elevadas quantidades encontradas por Tovo (1967).

Nosso objetivo era analisar possíveis alterações na microbiota da placa dental em diferentes condições de escovação dental. A análise comparativa dos resultados, considerando as três condições a que foram submetidos os pacientes, indica que não houve diferenças significativas na distribuição dos grupos microbianos mais frequentes da placa dental. Por exemplo, os números de **Streptococcus** e **Fusobacterium** foram menores nas placas colhidas após o período de escovação habitual, sem

orientação; estes mesmos microrganismos, no entanto, apresentaram-se em maior quantidade após o período de escovação orientada. **Veillonella**, **Candida** e o total de viáveis aumentaram durante a 2a. etapa (escovação sem orientação) em relação às duas outras etapas.

Constatamos, assim, que a placa dental uma vez formada e examinada dentro de um espaço de tempo uniforme apresenta a mesma constituição, não importando o tipo de higiene oral que o paciente adota. Ritz (1967) encontrou diferenças qualitativas por ter analisado a placa dental em diferentes estágios de sua formação, o que não foi objeto deste trabalho.

Synopsis

Samples of dental plaque were collected from twenty-eight children

(7 to 12 years) after three periods of eighth days under different conditions of oral hygiene: without toothbrushing, with normal toothbrushing and with instructed toothbrushing. After the weight of the material was determined, decimal dilutions were made and spreads in: blood agar, *Mitis-Salivarius* agar, *McCarthy-Snyder* agar, *Rogosa-lactate* agar, *Rogosa SL* medium, *Sabouraud* agar

and *Tripticase Soy* agar, for enumeration of, respectively, the most numerous cultivable organisms, *Streptococcus*, *Fusobacterium*, *Veillonella*, *Lactobacillus*, *Candida* and organisms that store intracellular polysaccharides of the amylopectin type.

The obtained results didn't present significative differences after the three periods of the experience.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 — GIBBONS, R. J. & SOCRANSKY, S. S. — Intracellular polysaccharide storage by organisms in dental plaques. *Archs. Oral Biol.*, London, **7**: 73-80, 1962.
- 2 — GIBBONS, R. J. et alii — Studies of the predominant cultivable microbiota of dental plaque. *Archs. Oral Biol.*, London, **9**: 365-370, 1964.
- 3 — LOURO F^o, P. P. et alii — Jarra de anaerobiose. *Arq. Cent. Est. Fac. Odont. UFMG*, Belo Horizonte, **2**: 215-227, 1965.
- 4 — MCCARTHY, C. & SNYDER, M. L. Selective medium for fusobacteria and leptotrichia. *J. Bacteriol.*, Baltimore, **86**: 158-159, 1963.
- 5 — ROGOSA, M. A selective medium for the isolation and enumeration of the *Veillonella* from the oral cavity. *J. Bacteriol.*, Baltimore, **72**: 533-536, 1956.
- 6 — RITZ, H. L. Microbial population shifts in developing human dental plaque. *Archs. Oral Biol.*, London, **12**: 1561-1568, 1967.
- 7 — SCHNEIDER, J. O. et alii — Estudo sobre a microbiota da placa dental de pacientes com dentição decídua. *Rev. Bras. de Pesquisa Méd. Biol.*, **2**: 227-234, 1969.
- 8 — TOVO, L. C. *Lactobacilos e germes sintetizadores de amilopectina na saliva e placa dental*. *Pôrto Alegre*, 1967. Tese.