LACTOBACILOS E GERMES SINTETIZADORES DE AMILOPECTINA NA SALIVA E PLACA DENTAL

Luiz Carlos Tovo

Professor Adjunto do Departamento de Odontologia Preventiva e Social

SINOPSE

Foi investigado o tipo de correspondência existente entre os lactobacilos e os germes sintetizadores de amilopectina, da saliva e placa dental. Utilizou-se de 40 indivíduos, de idade entre 18 e 25 anos, divididos em quatro grupos, considerando-se os índices CPOS e a presença e ausência de cavidades de cárie, estatisticamente diferentes.

INTRODUÇÃO

«Embora já esteja estabelecido que microrganismos se constituam em um elo essencial na cadeia de eventos que culminam na cárie dental, há ainda, muita conjectura a ser feita para se estabelecer a etiologia precisa desta afecção».

Robert J. Fitzgerald

A cárie dental tem sido postulada como uma alteração de origem microbiana.

Inúmeras pesquisas realizadas comprometeram grupos de microrganismos no processo de cárie, sem entretanto identificá-los, até que se pôde, experimentalmente, comprovar a participação de alguns microrga-

nismos isolados, na produção de cárie em ratos e hamsters.^{11, 24}

Até então, lactobacilos e estreptococos, ambos acidogênicos, eram apontados como os mais prováveis microrganismos causadores da cárie dental. A sua participação sempre foi discutida e argumentada na base de uma série de observações e evidências, e hoje ainda é considerado o número de lactobacilos da saliva como um índice de atividade cariiosa.^{4, 12, 27, 29, 30}

Entretanto, os trabalhos iniciais de ORLAND et alii²⁴, 1954 e posteriormente de FITZGERALD e KEYES¹¹, 1960, provocando cárie em animais com estreptococos, abriram novas metas no sentido de se identificar as propriedades cariogênicas destes microrganismos.

Trabalhos desenvolvidos na última década demonstraram que os estreptococos cariogênicos formam polissacarídes extracelulares do tipo levano ou dextrano e armazenam intracelularmente, um polissacaríde iodofílico tipo amilopectina¹⁵, fazendo crer que os primeiros estão relacionados com a formação de placa dental e o último desempenhando alguma atividade no processo de cárie.^{16, 17}

Assim, outros microrganismos que sintetizam amilopectina podem participar de alguma forma no desenvolvimento da cárie dental.

O número de lactobacilos da saliva, cultiváveis em meio seletivo, está correlacionado diretamente com a atividade cariosa em grupos de indivíduos com alta ou baixa atividade de cárie, ao contrário dos indivíduos que possuem moderada atividade cariosa.³⁰

Não existe, até o momento, investigação que correlacione o número de lactobacilos com o de germes sintetizadores de amilopectina da saliva ou de placa dental, nem o número destes últimos com atividade cariosa.

Os germes sintetizadores de amilopectina, inicialmente identificados em intestinos de ruminantes^{14, 18, 23}, estão presentes na cavidade oral, especialmente na placa dental e em pacientes com atividade de cárie, e

a proporção destes microrganismos em relação a outros é maior em pacientes cárie-ativa do que em pacientes cárie-inativa.¹⁵

Das bactérias cultiváveis da placa dental, as que mostraram capacidade de formar o polissacarídeo iodofílico (amilopectina) foram os estreptococos facultativos, difteróides, fusobactérias e bacteróides, enquanto veillonelas, estreptococos anaeróbios, *Vibrio sputorum* e lactobacilos formaram pouco ou nada.⁶

Os mesmos autores ressaltaram que de acordo com os achados de GIBBONS et alii.¹⁷, uma vez que a placa dental é constituída de, cerca de 80% de bactérias cultiváveis, parece que a maioria das bactérias da placa dental possui a capacidade de produzir amilopectina.

A amilopectina armazenada no citoplasma bacteriano é visível em grânulos ao microscópio eletrônico e a quantidade destes grânulos é

muito maior nas bactérias isoladas de placa cárie-ativa do que de bactérias de placas cárie-inativa.¹³

O desaparecimento destes grânulos, conseqüência do consumo da amilopectina, pela própria bactéria, está diretamente correlacionado com a formação de ácido láctico.¹⁶

GIBBONS e SOCRANSKY¹⁵, observaram com microrganismos iodofílicos que o conteúdo de polissacáride de amostras de estreptococos, fortemente corados pelo iodo, diminuiu rapidamente, quando incubados em tampão e isto foi acompanhado pela produção de ácido.

GIBBONS e KAPSIMALIS¹⁶ estudaram a síntese de amilopectina intracelular, por *Streptococcus mitis*, um dos microrganismos presentes na placa dental e a identificaram como um polímero composto, exclusivamente, de glicose a qual é unida em parte por ligações glicosídicas alfa 1.3.

Os mesmos autores¹⁶ descreveram que quando estes microrganismos foram incubados anaerobicamente em tampão a quantidade de carboidrato endógeno catabolizado era igual à quantidade de ácido láctico produzida.

Isto sugeriu que a utilização do polissacáride endógeno seria capaz de fornecer energia de modo análogo a que é obtida por meio de fermentação de carboidratos exógenos. Além disso os microrganismos contendo pequena ou nenhuma quantidade de polissacáride, produziram uma pequena queda do pH durante um período de incubação de 20 minutos, na presença de fluxo constante de tampão, enquanto os que

continham grande quantidade de amilopectina produziram ácido láctico suficiente para baixar o pH aquém de 6.0, por cerca de 2 horas, apesar do fluxo do tampão, e até um pH 4.7 na ausência deste fluxo. Por outro lado, esta é a faixa de pH que proporciona a descalcificação do esmalte pelo ácido láctico.¹⁶

Há uma correspondência significativa, da quantidade destes microrganismos com atividade de cárie, pois placas de indivíduos definidos como cárie-ativa e cárie-inativa mostraram, respectivamente, uma média de 54,3% e 29,8% de sintetizadores cultiváveis em Agar Soy Trypticase. E ainda, microrganismos isolados que se coravam fortemente pelo iodo, incubados por 4 horas em tampão, formaram cerca de cinco vezes mais quantidade de ácido láctico do que os corados fracamente, ou seja, foram capazes de sintetizar cinco vezes mais, amilopectina.¹⁵

BERMAN e GIBBONS⁶ demonstraram, também, que as bactérias de placas cárie-ativa são mais estáveis na produção do polissacáride do que as de placas cárie-inativa, sintetizando-o por um número maior de gerações.

Assim posta, a importância dos microrganismos sintetizadores de amilopectina, no processo de descalcificação do esmalte dental, procuramos estabelecer o tipo de correlação entre os lactobacilos e os germes sintetizadores de amilopectina da cavidade oral, realizando contagens de ambos, em meios de cultura adequados, com «inoculum» de saliva e de placa dental.

MATERIAL E MÉTODOS

Os indivíduos que forneceram material para a pesquisa, foram alunos das quatro séries da Faculdade de Odontologia da U.F.R.G.S.

Examinados 130 alunos, foram selecionados 40, com idades de 18 a 25 anos e separados em quatro grupos de 10.

Estes grupos, estatisticamente diferenciados pela análise de «t» no teste de «STUDENT», tinham as seguintes características:

Grupo 1 com índice CPOS de 10.1
15.7 com presença de cavidade de cárie,

Grupo 2 com índice CPOS de 6.9
a 15.2 com ausência de cavidade de cárie,

Grupo 3 com índice CPOS de 32.6
a 43.8 com presença de cavidade de cárie,

Grupo 4 com índice CPOS de 38.1
a 48.8 com ausência de cavidade de cárie.

A diferenciação estatística entre os grupos permitiu confrontar as contagens de lactobacilos e de germes sintetizadores de amilopectina (SAP), entre os grupos 1 e 2, de CPOS baixos e 3 e 4, de CPOS altos.

O exame das arcadas dentárias dos alunos foi procedido em duas etapas: exame clínico e radiográfico.

A ficha utilizada para anotar os dados dos exames, clínico e radiográfico, foi adaptada da ficha de VIEGAS-BODECKER.³¹

O cálculo do índice de cárie por

superfície foi de acordo com o mesmo autor. As anotações foram feitas sempre pela mesma pessoa, treinada para isso.

Para a colheita de material, os 40 alunos selecionados, foram divididos em grupos de 15 e a coleta foi feita em uma mesma manhã.

Cada grupo de 15 alunos forneceu material, em duas ocasiões distantes, pois o trabalho foi feito duas vezes para cada indivíduo. O espaço de tempo entre a primeira e a segunda colheita de material, nunca foi inferior a vinte dias.

Na véspera do dia da colheita, os indivíduos eram avisados pessoalmente e recebiam, por escrito, que deveriam estar, no dia seguinte, em jejum e sem escovar os dentes.

Foram coletados 5 ml de saliva, não estimulada, em frascos contendo pérolas de vidro, esterilizados.

Após a da saliva, foi feita a colheita de material de placa dental da seguinte forma: diversos dentes não isolados e nem secados foram raspados para formar um «pool» de material. As áreas raspadas foram selecionadas de acordo com as informações de MC DOUGALL²², faces dentais proximiais, que demonstrou serem estas zonas as que possuíam um maior volume depositado de placa dental. As zonas sobre cáries, restaurações, próteses e região cervical dos dentes foram sempre desprezadas. O instrumento utilizado para a colheita foi a cureta 13-14 do jogo MC CALL, para trabalhos periodontais.

Após recolhidos, a saliva e o material de placa dental, seguiram-se os seguintes procedimentos:

a) Saliva

1. Homogeneização em agitador de Kahn, por 2 minutos.

2. Diluição em solução tampão de GIBBONS⁵¹, até 10^{-6}

3. Semeadura de 0,1 ml da solução 10^{-2} em meio SL e incubação à 37°C em aerobiose; semeadura de 0,1 ml da solução 10^{-6} em meio TSA e incubação à 37°C em ambiente de N/95% e CO₂/5% em jarra F.O.P.A. ¹⁹

b) Placa dental

1. O material colhido foi pesado em papel aluminizado, previamente esterilizado e tarado.

2. O papel aluminizado contendo o material foi transferido para um gral, previamente esterilizado e homogeneizado com o auxílio de um pistilo e no mínimo, 1 ml da solução tampão.

3. Obtenção da diluição 10^{-4} completando-se no gral com solução

tampão na proporção de 1 mg de material para 10 ml de tampão e daí até a diluição 10^{-8}

4. Semeadura 0,1 ml da solução 10^{-5} em meio SL e incubação à 37°C em aerobiose; semeadura de 0,1 ml de cada uma das soluções 10^{-7} e 10^{-8} em meio TSA e incubação à 37°C em ambiente de N/95% e CO₂/5% em jarra F.O.P.A. ¹⁹

Os meios de cultura utilizados, já mencionados, foram o meio de Agar SL de ROGOSA²⁶ e o meio de Trypticase Soy Agar (TSA) com glicose 3% de GIBBONS. ¹⁵

A contagem das colônias de lactobacilos foi feita após três dias de incubação de acordo com as características descritas por diversos autores. ^{4, 9, 12, 26, 27}

A contagem de germes sintetizadores de amilopectina (SAP) foi realizada após cinco dias de incubação de acordo com a técnica descrita por GIBBONS ¹⁵

Colônias fotografadas em meio de TSA. com fundo branco. coradas com solução diluída de iodo:

- a — Colônia negra, forte sintetizadora de amilopectina
- b — Colônia fraca formadora de amilopectina
- c — Colônia não formadora de amilopectina.

Anotados os números de colônias de cada germê em cada ambiente estudado, foi feito o cálculo de correlação onde usamos a fórmula de r pela fórmula

$$\frac{r}{Sr} \text{ ou } Sr = \frac{1}{n - 1}$$

RESULTADOS E DISCUSSÃO

No presente trabalho, os estudantes utilizados como fonte de material, foram preferidos porque se assemelhavam em relação às condições de higiene oral e grau de compreensão frente a uma pesquisa científica; por outro lado, é conhecido o valor do teste de «Student» (teste de significância de «t») na análise de diferenciação, utilizado para a separação dos quatro grupos.

Trabalho anterior²⁰, demonstrou não haver diferença, estatisticamente significativa, nas contagens de lactobacilos da saliva, quando estimulada ou não, com goma de mascar isenta de açúcar. Da mesma forma, saliva, quando diluída em água destilada ou solução tampão (semelhante à por nós utilizada, neste trabalho), semeada em meio de SL, não mostrou diferença significativa, estatisticamente. Por este motivo, deixamos de empregar a técnica de

estímulo, bem como, o diluente recomendado pelo autor do meio SL.²⁶

Na coleta de material de placa dental, não realizamos a secagem dos dentes com ar. Isto poderia levar a imaginar que a saliva, contida no material coletado, pudesse mascarar os resultados das contagens dos microrganismos estudados. Poder-se-ia, em consequência, aventar como possível causa do maior número de lactobacilos da placa dental, em comparação aos da saliva, em alguns casos, o fato de transportar-se junto com o material de placa dental, alguma quantidade de saliva. Ora, se tomarmos apenas de um exemplo, como o caso do indivíduo n° 2 que apresenta tanto na primeira como na segunda colheitas, uma quantidade bastante maior de lactobacilos na placa dental do que na saliva, este argumento está totalmente anulado. Senão, vejamos:

1ª colheita: diluição de placa dental 10^{-5} /mg apresentou contagem 7; diluição de saliva 10^{-2} /ml (ml é 1000 vezes mais volume que a unidade mg de placa dental) apresentou contagem 2.

2ª colheita: diluição de placa dental 10^{-5} /mg apresentou contagem 270; diluição de saliva 10^{-2} /ml apresentou contagem 10.

Pode-se inferir destes resultados que, sendo o número de lactobacilos da saliva, em uma diluição 10^{-2} /ml, muito menor do que uma diluição de placa dental 10^{-5} /mg, é lógico que a alta contagem verificada no material de placa dental, não parece ser devido à contaminação do material coletado com a saliva.

Casos semelhantes, foram apresentados, pelo menos em uma das colheitas, por mais 5 indivíduos. É verdade também, que nos casos de dois indivíduos (de n°s: 12 e 17), a brusca diferença dos resultados possa ser explicada pela colheita de material de placa dental em zona de cárie inicial de esmalte não percebida, apesar dos cuidados para evitá-la e que por sua vez, é rica em lactobacilos.

Para realizarmos a homogeneização do material, na falta de um homogeneizador de tecido ou instrumento semelhante, utilizamos um gral e um pistilo. Pensamos ter obtido com isto, uma completa destruição ou dissolução dos germes do material coletado que continha bactérias, o que comprovamos com esfregaços corados pelo Gram. Ainda que tal não fôsse atingido, a repetição da mesma técnica em todos os casos, permitia a comparação dos resultados obtidos.

Das diluições utilizadas para a semeadura, duas não foram encontradas na revisão da literatura: saliva no meio TSA e placa dental no meio SL. Escolhemos as diluições 10^{-6} de saliva, para o meio TSA e 10^{-5} de placa dental, para o meio SL, baseados nos resultados de provas piloto, que nos indicaram ser aquelas que forneciam um número, facilmente contável, de colônias. Isto foi comprovado, à medida que desenvolvemos o trabalho. As dilui-

ções da saliva, para semear em meio SL (10^{-2}) e da placa dental, para semear em meio TSA (10^{-7} e 10^{-8}), corresponderam às utilizadas nos trabalhos de ROGOSA²⁶ e GIBBONS.¹⁵

A incubação do meio TSA foi à temperatura de 37°C. GIBBONS¹⁵ utilizou em seus estudos, a temperatura de 35°C, para a observação de germes sintetizadores de amilopectina, todavia, as provas-piloto, demonstraram também, não haver diferença de resultados à 35°C ou 37°C.

Este mesmo autor utilizou um ambiente de $H_2/95\%$ e $CO_2/5\%$. A troca de H_2 por N_2 , foi pelo motivo de a mistura com aquele gás, ser altamente explosiva. Comunicação pessoal de Wilson Chagas de Araújo¹ orientou-nos no sentido da utilização de N_2 , com os mesmos resultados, em relação ao crescimento de germes sintetizadores de amilopectina.

As correlações e correspondência, de acordo com os resultados das TABELAS 1, 2 e 3 e a frequência, de acordo com a TABELA 4, serão analisadas da seguinte forma:

- 1) Lactobacilos em placa dental e saliva
- 2) Germes SAP em placa dental e saliva
- 3) Lactobacilos e germes SAP em placa dental e lactobacilos e germes SAP em saliva.

TABELA 1

TOTAIS E MÉDIAS DAS CONTAGENS DE LACTOBACILOS E GERMES SAP
FORTES ENCONTRADOS EM SALIVA E PLACA DENTAL

Grupo	CPOS	Lesão cariosa	Nº indi- víduos	Lactobacilos		Germes SAP	
				Placa 10-5	Saliva 10-2	Placa 10-7	Saliva 10-6
1	10.1-15.7	Presente	10	149	82	68	28
2	6.9-15.2	Ausente	10	49	174	62	15
3	32.6-43.8	Presente	10	249	771	71	23
4	38.1-48.8	Ausente	10	83	1.101	56	22
TOTAL			40	530	2.128	257	88
MÉDIA/GRUPO			10	132	532	64	22

TABELA 2

ÍNDICES DE CORRELAÇÃO ENTRE OS LACTOBACILOS E GERMES SAP
FORTES CONTADOS EM SALIVA E PLACA DENTAL

Grupo	Lactobacilos da Placa den- tal e Saliva	Germes SAP da Placa Dental e Saliva	Lactobacilos e Germes SAP da Placa Dental	Lactobacilos e Germes SAP da Saliva
1	0,88	0,50	-0,11	0,22
2	0,30	-0,17	0,61	-0,08
3	0,25	-0,38	0,05	0,28
4	0,31	-0,19	-0,22	-0,24

TABELA 3

TOTAIS DAS CONTAGENS DE LACTOBACILOS E GERMES SAP FORTES
DOS GRUPOS COM BAIXO E ALTO ÍNDICE CPOS

	Grupos	CPOS	Total
Lactobacilos da Saliva	1+2	Baixo	256
	3+4	Alto	1.872
Lactobacilos da Placa	1+2	Baixo	198
	3+4	Alto	332
Germes SAP da Saliva	1+2	Baixo	43
	3+4	Alto	45
Germes SAP da Placa Dental	1+2	Baixo	130
	3+4	Alto	127

TABELA 4

FREQUÊNCIA DE LACTOBACILOS E GERMES SAP FORTES NOS 40
INDIVÍDUOS EXAMINADOS

	Lactobacilos		Germes SAP	
	Nº	%	Nº	%
Saliva	29	72,5	21	53
Placa Dental	14	35	26	65

1 — LACTOBACILOS EM PLACA DENTAL E SALIVA

Os índices de correlação calculados com os números das contagens de lactobacilos e placa dental, em cada grupo em separado, como mostra a TBELA 2, foram todos positivos.

Estes resultados comparados com a Tabela de significância de «r», ao nível de 0,01 de probabilidade, mostram que apenas no grupo 1 (0,88), a correlação entre os lactobacilos da placa dental e da saliva, é significativa.

A correlação significativa do grupo de índice CPOS de 10.1 a 15.7, poderia ser julgada, como consequência da repetição de quatro resultados iguais a zero; dois outros, um, quase zero e outro, próximo a zero, valores estes que representam 60% dos dados a serem correlacionados. É lógico, que com seis valores quase idênticos, em um total de dez, possa admitir-se que «r» tenda a ser significativa.

Poderia então, surgir a objeção, de estabelecer-se uma falsa correlação. Estariam, realmente ausentes, os lactobacilos? Seriam, de baixa concentração, as diluições usadas na semeadura para os lactobacilos da placa dental e da saliva?

A diluição de saliva usada, foi 10^{-2} /ml, recomendada por ROGO-SA²⁶ para a contagem de lactobacilos. Ora, se a contagem com esta diluição, várias vezes, em ocasiões distintas no mesmo indivíduo, foi zero, é porque realmente não existiam lactobacilos na saliva. Mesmo

assim, consideramos esta correlação prejudicada.

As diluições usadas, de placa dental, foram 10^{-5} /mg (que consta na Tabela 1) e 10^{-4} /mg. Em todos os casos em que não houve crescimento à diluição 10^{-5} mg, também não o houve à 10^{-4} mg. Esta diluição foi utilizada, também, com o propósito de comprovar os resultados de 10^{-5} /mg.

Por outro lado, se considerarmos que em quatro casos houve ausência de crescimento de lactobacilos da saliva e que, a saliva, depois da língua (BARBOSA e ARAÚJO³, 1968) é onde mais se encontram estes microrganismos e ainda, que nestes casos houve também ausência de crescimento correspondente de lactobacilos de placa dental, parece-nos lógico inferir que, realmente, lactobacilos não existiam nem em saliva nem em placa dental destes indivíduos.

Nos demais grupos, em que não houve significância ao nível de 0,01 de probabilidade, segundo PEARCE²⁵, não significa que não haja associação de qualquer espécie, entre as variáveis estudadas, mas, somente que esta correlação não está na forma de uma direção comum, isto é, ao aumento ou diminuição, do número de lactobacilos da placa dental, não houve correspondência na saliva e vice-versa.

Por outro lado, foi confirmada a correspondência entre os números totais das contagens de lactobacilos da saliva e os índices CPOS (ver TABELA 1).

Nos grupos 1 e 2, de índices

CPOS mais baixos, a contagem total atingiu a 256 colônias, com a diluição 10^{-2} /ml, como mostra a TABELA 3. Nos grupos 3 e 4, de índices CPOS mais elevados, a contagem total atingiu a 1.872 colônias, com a diluição 10^{-2} /ml. Estes resultados, em última análise, estão de acordo com os achados, por SNYDER³⁰ e SCHNEIDER SANTOS²⁹, entre outros autores.

Na placa dental ocorreu correspondência entre os lactobacilos e índice CPOS (ver TABELA 3) de forma semelhante à que ocorreu na saliva, pois nos grupos 1 e 2 com índices CPOS baixos, a contagem total foi de 198 colônias à diluição 10^{-5} /ml enquanto nos grupos de índices CPOS altos a contagem atingiu 332 colônias em idêntica diluição.

Estes resultados, correspondência de lactobacilos da saliva e índice CPOS era de se esperar, enquanto na placa dental, a correspondência verificada merece especulação, pois, talvez os lactobacilos encontrados em placas dentais em maior número nos indivíduos com índices CPOS altos, o foram, por estarem as placas dentais coletadas situadas sobre cáries de esmalte em início de desenvolvimento o que teria passado despercebidos pelo autor. Mesmo assim a presença de lactobacilos na placa dental contraria totalmente os resultados de GIBBONS et alii¹⁷, 1964 e parcialmente os de BARBOSA e ARAÚJO³, 1968. Os primeiros, não encontraram lactobacilos na placa dental, talvez por terem usado meio de agar sangue e incubação em $H_2/95\%$ e $CO_2/5\%$, enquan-

to os últimos usando o meio SL, o mesmo usado por nós, encontraram lactobacilos em somente 3 de 21 pacientes, ao passo que nós encontramos em 14 de 40 pacientes, sendo 8 dos 14, portadores de cárie, clinicamente constatável.

Por outro lado, nossos resultados foram de acordo com os de SCHAM-SCHULA e BARMES²⁸, 1970 que encontraram lactobacilos em placa dental de 27,4% de 54 indivíduos indígenas de Papua, Nova Guinéa.

Examinando a frequência de ocorrências de lactobacilos, na saliva e na placa dental, dos 40 indivíduos com os quais trabalhamos (ver TABELA 4) encontramos uma diferença notável de 72,5% na saliva para 35% na placa dental, ou seja, os lactobacilos são encontrados em um número duas vezes maior de pessoas na saliva do que na placa dental.

2 — GERMES SAP EM PLACA DENTAL E SALIVA

Os índices de correlação entre os germes SAP da placa dental e da saliva foram, positivo no grupo 1 e negativo nos demais (TABELA 2).

Comparados, estes valores, com a tabela de significância de «r», ao nível de 0,01 de probabilidade, não houve correspondência, estatisticamente significativa entre os germes SAP da saliva e de placa dental.

Assim como ocorreu com os lactobacilos da placa dental, baseados no que diz PEARCE²⁵, encontramos uma associação entre os números totais destes microrganismos da saliva e os índices CPOS, como mos-

tra a TABELA 3, onde o número maior de germes foi nos grupos com CPOS mais altos e vice-versa.

Entretanto, o número de germes SAP de placa dental, não correspondeu ao CPOS, mas se considerarmos os grupos pela presença, apenas de cavidade de cárie, o número mais elevado de germes SAP, 139 correspondeu aos, grupos 1 e 3 com presença de cárie, enquanto o menor número, 118, ocorreu nos grupos sem cavidade de cárie, 2 e 4.

A presença de germes SAP, tanto nos grupos com cavidade de cárie como nos sem cavidade de cárie é perfeitamente compreensível, pois não significa que a presença de germes SAP deva ser somente em grupos cárie-ativa. Ocorrem também em placas de indivíduos cárie-inativa como descrevem BERMAN⁵, BERMAN e GIBBONS⁶ e GIBBONS e SOCRANSKY¹⁵, variando apenas na estabilidade de produção do polissacáride endocelular, pois os últimos autores¹⁵ encontraram uma média de 54,3% de SAP cultiváveis da microbiota da placa dental enquanto nós encontramos cerca de 65%.

Por outro lado, como se observa na TABELA 1, o número de germes SAP foi muitíssimo maior na placa dental do que na saliva, embora aí também seja avultado.

Tal resultado parece mostrar a preferência destes microrganismos pela placa dental em relação à saliva, o que é lógico pois a saliva, segundo MCDONALD²¹, 1962 não pode ser considerada mais do que um veículo que comportaria, no caso, os germes SAP desalojados da placa dental. Enquanto isso, a placa den-

tal, como um nicho de condições que permite o crescimento destes microrganismos, dentre ela e a saliva, parece ser o habitat predileto para os microrganismos sintetizadores de amilopectina.

A média dos números totais de germes SAP da placa dental é semelhante aos resultados encontrados por BRITO et alii.⁷

Considerando-se a frequência de ocorrências de germes SAP, na saliva e na placa dental (TABELA 4) notamos que cerca de 35% dos indivíduos revelaram não possuí-los na placa dental e 46,3%, na saliva.

Comparando-se as frequências de ocorrências dos lactobacilos e germes SAP, na saliva e placa dental, podemos notar a predileção dos germes SAP pela placa dental e dos lactobacilos pela saliva, mas não significando isso que a saliva, como já frisamos, seja o «habitat» ou nicho para qualquer dos microrganismos estudados.

3 — LACTOBACILOS E GERMES SAP EM PLACA DENTAL E LACTOBACILOS E GERMES SAP EM SALIVA

Os índices de correlação entre os lactobacilos e germes SAP, da placa dental, foram insignificantes quando levados à tabela de significância de «r» ao nível de 0,01 de probabilidade, da mesma forma que os níveis de correlação entre os mesmos germes da saliva.

Analisando-se os totais das médias das contagens, dos quatro grupos estudados, na TABELA 1, en-

contramos um predomínio nítido dos germes SAP sobre os lactobacilos, tanto na placa dental como na saliva. Isto parece também ser lógico, pois a maioria dos germes SAP, é estreptococo, e estes são os microrganismos de maior incidência em qualquer área ou nicho da cavidade bucal. ⁸

A análise dos totais das médias das contagens dos grupos, com e sem cavidades de cárie mostra: nos grupos, com cavidade de cárie houve, na placa dental, maior número de lactobacilos, 399, e de germes SAP, 139, do que nos grupos sem cavidades de cárie com 132 e 118, respectivamente.

Na saliva, houve maior número de germes SAP, 51, nos grupos com cavidade de cárie do que nos grupos sem cavidade de cárie, 37. Entretanto, o mesmo não ocorreu com os lactobacilos, o que possa talvez ser explicado pelos altos números das contagens que apresentaram dois indivíduos.

Com relação aos resultados dos germes SAP houve a confirmação dos de GIBBONS e SOCRANSKY¹⁵

que encontraram em placas dentais de indivíduos com cárie-ativa de 48% a 64% e de cárie-inativa de 14% a 47% de cultiváveis.

Os valores de «r», encontrados em todos os casos estudados de correlação, com exceção de um (grupo 1, $r = 0,88$), não foram significantes, estatisticamente e além disso, demonstraram regular e baixo grau de correspondência. Poderíamos, como faz BANCROFT², formular uma questão: são estas correlações, de regular e baixo graus, verdadeiramente, correlações reais?

Para esta análise, foi necessário o cálculo do valor do erro padrão de «r», S_r , obtido pela fórmula

$$S_r = \frac{1}{\sqrt{n-1}}. \quad \text{A significação}$$

de «r» foi verificada, dividindo-se seu valor pelo de seu erro padrão e o valor final encontrado, interpretado na tabela de significância de «r» (FISHER e YATES). ¹⁰

Excetuando-se o caso de correlação significativa, os demais apresentaram os seguintes resultados:

Grupo	1	2	3	4
Lactobacilos da placa dental e saliva	x	0,89	0,75	0,90
Germes SAP fortes da placa dental e saliva	1,66	0,51	1,15	0,57
Lactobacilos e germes SAP fortes da placa dental	0,33	1,84	0,01	0,66
Lactobacilos e germes SAP fortes da saliva	0,66	0,02	0,84	0,72

Os valores em **negrito** são de correlações reais, ao nível de 0,01 de probabilidade e significam que, um número maior de experiências de contagens de microrganismos, não alteraria o valor de «r», mantendo-se este, sem significância. Considerados, ao nível de 0,05 de probabilidade, os valores encontrados, no grupo 3, referente aos **lactobacilos da placa dental e saliva**, bem como, no grupo 4, referente aos **lactobacilos e germes SAP fortes da saliva**, observa-se que tais valores são significantes, situando-se bem próximos ao de 0,01, tornando-os praticamente reais.

Nestas condições, foi uniforme o resultado com as correlações dos **lactobacilos da placa dental e da saliva**, mostrando-as reais.

Quanto às demais correlações, houve-as reais (sublinhadas) e discrepantes, estas em número pouco maior (5 para 7, respectivamente). Tais resultados, sugerem e recomendam a realização de novas experiências, no sentido de confirmar, modificar ou estabelecer correlações reais e significantes.

CONCLUSÕES

Da análise de nossos resultados podemos concluir que:

1) Em relação à distribuição de **Lactobacillus** na saliva e na placa dental de grupos humanos com e sem lesão de cárie (medida pelo índice CPOS), nas condições experi-

mentais empregadas, concluímos que, dada à falta de correlação estatisticamente significativa, outras fontes microbianas devem contribuir com **lactobacilos** para a saliva.

2) Em relação à distribuição de **Germes sintetizadores de amilopectina** na saliva e na placa dental de grupos humanos com e sem lesão de cárie (medida pelo índice CPOS), nas condições experimentais empregadas, concluímos, que há maior percentagem e frequência nas placas dentais de indivíduos **cárie-ativa**, e que parece ser este nicho o contribuinte para a presença destes microrganismos na saliva.

3) Como não houve correlação estatisticamente significativa entre o número de **Lactobacillus** e **Germes sintetizadores de amilopectina** na placa dental, não será esta capacidade fisiológica de certos microrganismos da placa dental a condição necessária e suficiente para garantir o maior número de **lactobacilos** na placa dental, inúmeras vezes mostrado pelos pesquisadores.

SYNOPSIS

Correlation between Lactobacilli and Iodophilic Polissacharide Storage type Amilopectin Organisms from saliva and dental plaque was investigated in 40 humans with age between 18 and 25 years old, divided in four groups by DMFS index.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ARAÚJO, W. C. — Comunicação pessoal.
2. BANCROFT, Huldah — **Introducción a la bioestadística**. Buenos Aires, Eudeba, 1960. 500 p. (p. 179-188).
3. BARBOSA, M. T. & ARAÚJO, W. C. — Ocorrência de *Lactobacillus* nos nichos microbianos da cavidade da boca. **Arquivos do Centro de Estudos da Faculdade de Odontologia**, Belo Horizonte, **5**:115-122, 1968.
4. BECKS, H. et alii — Carbohydrate restriction in the prevention of dental caries using *L. acidophilus* count as one index. **The Journal of the California State Dental Association**, San Francisco, **26**:53-58, 1950.
5. BERMAN, K. S. — Production of glycogen-amilopectin-like polysaccharides by plaque microorganisms. **International Association for Dental Research**, Chicago, p. 103, 1963.
6. BERMAN, K. S. & GIBBONS, R. J. — Iodophilic polysaccharide synthesis by human and rodent oral bacteria. **Archives of Oral Biology**, Oxford, **11**:533-542, 1966.
7. BRITTO, J. D. et alii. — **Estudos sobre a influência da escovação dental na microbiota da placa dental de crianças** (no prelo).
8. BURNETT, G. W. & SCHERP, H. W. — **Oral microbiology and infectious disease**. 2.ed. Baltimore, Williams & Wilkins, 1967, 1003 p. (p. 273-327).
9. COHEN, A. H. — A comparison of the Snyder colorimetric test with *Lactobacillus* count using Rogosa medium. **Journal of Dental Research**, Chicago, **36**:375-381, 1957.
10. FISHER, R. A. & YATES, F. — **Statistical tables for biological, agricultural and medical research**. 5.ed. London, Oliver and Boyd, 1957, 138 p.
11. FITZGERALD, R. J. & KEYES, P. H. — Demonstration of the etiologic role of streptococci in experimental caries in the hamster. **Journal of American Dental Association**, Chicago, **61**:9-19, 1960.
11. FOSDICK, L. S. — The role of sugar in dental caries. **The Journal of the California State Dental Association**, San Francisco, **26**: 19-27, 1950.
13. FRANK, R. M. & BRENDDEL, A. — A ultrastructure of the approximal dental plaque and the underlying normal and carious enamel. **Archives of Oral Biology**, Oxford, **11**:883-912, 1966.
14. GIBBONS, R. J. — **Polysaccharide production by bovine rumen bacteria**, Maryland, University of Maryland, College Park, 1956 (Tese), 46 p.

15. GIBBONS, R. J. & SOCRANSKY, S. S. — Intracellular polysaccharide storage by organisms in dental plaques. **Archives of Oral Biology**, Oxford, **7**:73-80, 1962.
16. GIBBONS, R. J. & KAPSIMALIS, B. — Synthesis of intracellular iodophilic polysaccharide by *Streptococcus mitis*. **Archives of Oral Biology**, Oxford, **8**:319-329, 1963.
17. GIBBONS, R. J. et alii — Studies of the predominant cultivable microbiota of dental plaque. **Archives of Oral Biology**, Oxford, **9**: 365-370, 1964.
18. HENNEBERG, W. apud GIBBONS, R. J. — **Polysaccharide production by bovine rumen bacteria**, Maryland, University of Maryland, College Park, 1956 (Tese), 46 p.
19. LOURO F^o, P. P. et alii — Jarra F. O. P. A. de anaerobiose. **Arquivos do Centro de Estudos da Faculdade de Odontologia**, Belo Horizonte, **2**:215-227, 1965.
20. LOURO F^o, P. P. et alii — Contagem de lactobacilos; análise de dois fatores: diluente e estímulo. **Arquivos do Centro de Estudos da Faculdade de Odontologia**, Belo Horizonte, **4**:39-55, 1967.
21. MACDONALD, J. B. — Microbiology of Caries. In: Reidar F. Sognnaes **Chemistry and Prevention of Dental Caries**. Springfield, C. Thomas, 1962 (23 p.).
22. MCDUGALL, W. A. — Studies on the dental plaque. I. The histology of the dental plaque and its attachment. **Australian Dental Journal**, Sydney, **8**:261-273, 1963.
23. MOIR, R. J. & MASSON, M. S., apud GIBBONS, R. J. — **Polysaccharide production by bovine rumen bacteria**, Maryland, University of Maryland, College Park, 1956 (Tese), 46 p.
24. ORLAND et alii — Use of the germ-free animal technic in the study of experimental dental caries; basic observations on rats reared free of all micro-organisms. **Journal of Dental Research**, Chicago, **33**:147-174, 1954.
25. PEARCE, S. C. — **Biological statistics; an introduction**. New York, McGraw-Hill Book Company, 1965, 212 p. (p. 150).
26. ROGOSA, M. et alii — A selective medium for the isolation and enumeration of oral lactobacilli. **Journal of Dental Research**, Chicago **30**:682-689, 1951.
27. ROVELSTAD, G. H. et alii — Caries susceptibility tests, hyaluronidase activity of saliva and dental caries experience. **Journal of Dental Research**, Chicago, **37**:306-311, 1958.
28. SCHAMSHULA, R. G. & BARMES, D. E. — The lactobacillus flora of saliva and plaque in primitive peoples in Papua — New Guinea. **Australian Dental Journal**, Sydney. **15**:28-34, 1940.

29. SCHNEIDER SANTOS, J. O. — **Distribuição de espécies de Lactobacillus na saliva; estudo procedido em dois grupos de crianças com índices CPOS diferentes.** Pôrto Alegre, Globo, 1961, (Tese), 79 p.
30. SNYDER, M. L. et alii — Evaluation of laboratory tests for estimation of caries activity. **Journal of American Dental Association**, Chicago, **65**:31-45, 1962.
31. VIEGAS, A. R. — índice de cárie. **Revista da Associação Paulista de Cirurgiões-Dentistas**, São Paulo, **5**:13-23, 1952.