

Avaliação de potenciais indicadores do risco de incidência de cárie em crianças de 6 a 11 anos da cidade de Juiz de Fora, MG.

Solon José de Oliveira Leite*
Andreia Soares Campos*
Hanny Reis Mockdecki*
Jordânia Santos*
Priscila de Faria Pinto*
Isabel Cristina Gonçalves Leite**

RESUMO

A saliva possui a ação protetora sobre os dentes controlando a microbiota oral, com uma composição mista como resultado da contribuição das várias glândulas bucais, apresenta íons capazes de realizar a manutenção do pH variando entre 6,4 e 6,9. A manutenção e progressão da lesão cáriosa é uma função dinâmica pode ser associada presença dos *Lactobacillus*, que têm poder de adesão sobre a superfície dentária e podem estabelecer a lesão inicial, gerando componentes ácidos, capazes de aumentar a acidez da saliva. Neste trabalho, 160 amostras de saliva foram coletadas de crianças de 6 a 11 anos alunos da escola Estadual Mercedes Nery Santos, localizada na cidade de Juiz de fora, MG. Foi possível perceber um aumento do fluxo salivar nas crianças dos 4, 5 e 6º anos do ensino fundamental, porém este aumento não foi estatisticamente significativo. A capacidade tampão da saliva foi maior nas amostras dos alunos dos 1,2 e 3º anos, mostrando uma baixa correlação entre fluxo salivar e capacidade tampão. As análises microbiológicas revelaram uma baixa prevalência de *Lactobacillus acidophilus* nestas amostras. Estes dados, associados aos valores de fluxo salivar e CTS, sugerem que as crianças participantes apresentam uma susceptibilidade moderada-baixa para o aparecimento de cárie.

Palavras-chave: Saliva. Saúde bucal. Cárie. Capacidade tampão. *Lactobacillus*.

1 INTRODUÇÃO

A saliva exerce diversas funções nos organismos superiores, como a preparação dos alimentos, a ação protetora sobre os dentes pela formação da película adquirida, capacidade tamponante, atividade da amilase salivar, controle da microbiota oral, lubrificação, hidratação, remineralização e o auxílio nos processos sensoriais (NICOLAU, 2008; SPADARO et al., 1998). A composição mista da saliva é resultado da contribuição das várias glândulas bucais e a composição inorgânica secretada por estas é responsável pela manutenção dos íons capazes de realizar a manutenção do pH. Os principais íons na composição da saliva são o sódio, potássio, cloreto, cálcio, fosfato e bicarbonato. A saliva normal possui pH variando entre 6,4 e 6,9 e nos períodos onde existe a influência dos nutrientes das refeições há a variação entre 7,0 e 7,3 (FIORUCCI; SOARES; CAVALHEIRO, 2001). Os tampões criados pela presença destes íons em associação com outras moléculas presentes na saliva têm a propriedade de resistir às variações no

pH provocadas por agentes externos como alimentos e proliferação de microrganismos (FIORUCCI; SOARES; CAVALHEIRO, 2001). A hidroxiapatita presente no esmalte possui uma composição rica em íons cálcio e fosfato (GARCIA et al., 2009), que sofrem alterações com a redução de pH da cavidade oral, favorecendo o processo de desmineralização dos dentes (ARANHA, 2002; NICOLAU, 2008).

O risco de aparecimento de cárie envolve vários parâmetros, dentre eles: exames microbiológicos (análise de estreptococos do grupo mutans, lactobacilos e outros) e avaliação de parâmetros físico-químicos da saliva (capacidade tampão, fluxo salivar e outros) (GARCIA et al., 2009). A manutenção e progressão da lesão cáriosa é uma função dinâmica e pode ser associada presença dos *Lactobacillus*, que têm poder de adesão sobre a superfície dentária e atuam em conjunto com os estreptococos do grupo mutans, que estabelecem a lesão inicial (CORTELLI et al., 2002; KOMIYAMA et al., 2003; STAMFORD et al., 2005). O metabolismo dos microrganismos presentes na placa bacteriana geram

* Universidade Federal de Juiz de Fora, Instituto de Ciências Biológicas, Departamento de Bioquímica - Juiz de Fora, MG. E-mail: priscila.faria@ufjf.edu.br

** Universidade Federal de Juiz de Fora, Faculdade de Medicina, Departamento de Saúde Coletiva - Juiz de Fora, MG

componentes ácidos, capazes de aumentar a acidez da saliva, com consequente redução do pH. Desta forma, o fluxo salivar e a capacidade tamponante da saliva são fatores importantes para resistência à cárie dental. Em geral, o reduzido fluxo salivar resulta em uma baixa capacidade tamponante, podendo aumentar a predisposição a infecções da mucosa oral e periodontites (CORTELLI et al., 2002 ; GARCIA et al., 2009).

O diagnóstico precoce de pacientes que apresentam uma baixa capacidade tamponante e/ou uma alta atividade da amilase salivar associado ao índice CPOD permitem que procedimentos preventivos sejam corretamente tomados evitando que ocorram maiores danos aos dentes e aos tecidos dentais (BRETAS et al., 2008; SPADARO et al., 1998). Este trabalho teve como objetivo levantar e avaliar alguns dos parâmetros físico-químicos e microbiológicos que possam ser associados como fatores de elaboração e avaliação das ações de saúde bucal em comunidades para tomadas de ações preventivas da incidência de cárie em escolares.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Todos os materiais empregados nas análises foram com alto grau de pureza e o ácido utilizado para análise titulométrica foi previamente aferido com os padrões primários adequados (solução de hidróxido de sódio 0,01M, previamente aferida pelo biftalato de potássio).

2.1 Seleção e coleta das amostras para avaliação do fluxo salivar

O projeto foi desenvolvido na escola Estadual Mercedes Nery Santos, localizada na cidade de Juiz de fora, MG. Todas as crianças participantes do estudo receberam um termo consentimento livre esclarecido (TCLE), o qual foi assinado pelos responsáveis legais após uma reunião prévia com a equipe do projeto. Foram analisadas as amostras de saliva de crianças que não utilizavam aparelhos ortodônticos, sendo este um fator de exclusão. As análises foram conduzidas com amostras de saliva de crianças na faixa etária de 6 a 11 anos, distribuídas em salas do 2º ao 6º anos do ensino fundamental. As amostras de saliva (n=160) foram coletadas após estímulo mecânico produzido pela mastigação de borrachas ortodônticas amarradas a um pequeno pedaço de fio dental durante um período de 5 minutos. Após a mastigação as crianças foram orientadas a eliminar a secreção salivar sem degluti-la num pequeno frasco. Um operador utilizando uma seringa aspirou o volume de líquido e anotou os valores, excluindo a espuma formada. A medida do fluxo salivar foi expressa em mL/min (ARANHA, 2002; MOURA et al, 2008)

2.2 Avaliação da capacidade tampão da saliva (CTS)

As amostras coletadas foram transportadas sob-refrigeração. A determinação da capacidade tampão da saliva (CTS) foi realizada por método titulométrico, medindo-se o volume de ácido clorídrico a 0,01M necessário para baixar o pH saliva de 6,9 a 3,7 (ponto de viragem do alaranjado de metila). O indicador é amarelo-laranja com amostras de pH em torno de 6,9 e róseo a 3,7. O resultado final da CTS de cada participante foi a média aritmética dos três valores das amostras tituladas. Dentro de certos limites, a CTS funciona como um índice relativo de atividade de cárie dental. Desta forma, a classificação dos pacientes segundo a CTS foi determinada em relação à média global de volume de ácido clorídrico gasto na titulação da saliva dos alunos. Valores acima de 2,109 mL foram considerados como pacientes que são potencialmente resistentes à cárie dental, por outro lado, os valores abaixo desta média foram considerados como pacientes potencialmente susceptíveis à cárie dental (BRETAS et al., 2008)

2.3 Análise da produção de ácidos pela presença de *Lactobacillus acidophilus*

Para a identificação da presença de *Lactobacillus acidophilus*, amostras de saliva (1,0 mL) foram coletadas sem estímulo e diluídas em solução salina (NaCl 0,85%) estéril. Alíquotas de 100 µL das amostras de saliva nas diluições 10-1, 10-2, 10-3, foram incubadas tubos contendo Ágar Snyder (Hymedia) e incubados em estufa bacteriológica a 37° C por 24, 48 e 72h. Os tubos que apresentaram coloração amarelada após o período de incubação foram considerados positivos (KOMIYAMA et al., 2003).

2.4 Análise estatística dos dados

Os dados foram avaliados pelo programa Graph-prism 4, utilizando os testes ANOVA, seguido do pós teste Kruskal-Wallis e teste correlação de Spermann.

2.5 Aspectos éticos da pesquisa

Os dados obtidos compõem um projeto de extensão intitulado “Análise Bioquímica da Saliva: Estratégias de Prevenção” que foi submetido ao comitê de ética em pesquisa com seres humanos (CEP) da Universidade Federal de Juiz de Fora/UFJF/MG e aprovado, sob protocolo número 2543.283.2011.

3 RESULTADOS

Foi avaliado um total de 160 amostras de saliva, sendo que 79 amostras foram obtidas de meninos e 81 amostras de meninas. A média do fluxo salivar das crianças participantes do estudo foi de $1,092 \pm 0,6031$ mL/min, sendo que as variações observadas para as diferentes

faixas etária, divididas em anos do ensino fundamental, estão mostradas na Tabela 1. Esta variação no fluxo salivar pode ser melhor visualizada na Gráfico 1, as médias dos dados obtidas por ano do ensino fundamental estão mostradas. É perceptível um aumento do fluxo salivar nas crianças dos 4, 5 e 6º anos, porém este aumento

não é estatisticamente significativo. Das 160 amostras avaliadas, 49 apresentaram baixo fluxo salivar ($<0,7$ mL/mim; $0,4433 \pm 0,1905$) e 113 amostras apresentaram valores normais ($>0,7$ mL/mim; $1,590 \pm 1,125$; Gráfico 1, Tabela 1).

TABELA 1

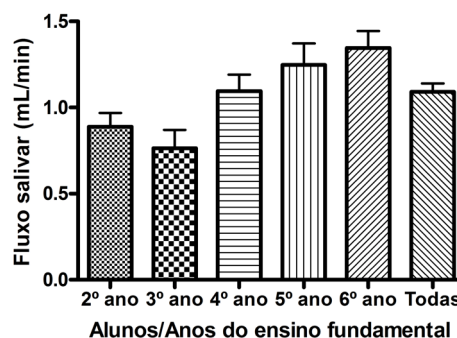
Descrição geral das características, gênero, fluxo salivar médio e capacidade tampão média das crianças de 6 a 11 anos de uma escola pública da cidade de Juiz de Fora/MG

Série	Número de crianças (meninos/meninas)	Fluxo salivar médio (mL/mim)	CTS média
2º ano	33 (23/10)	$0,8897 \pm 0,4589$	$2,537 \pm 0,7665$
3º ano	24 (9/15)	$0,7650 \pm 0,5204$	$2,720 \pm 0,5370$
4º ano	36 (17/19)	$1,096 \pm 0,5730$	$1,762 \pm 0,4476$
5º ano	26 (17/9)	$1,248 \pm 0,6305$	$1,873 \pm 0,5092$
6º ano	41 (13/28)	$1,345 \pm 0,6376$	$1,796 \pm 0,3935$
Total	160 (79/81)	$1,092 \pm 0,6031$	$2,109 \pm 0,6712$

Fonte – Os autores (2011).

As amostras obtidas das coletas do fluxo salivar foram utilizadas para avaliação da capacidade tamponante da saliva (CTS). Nesta avaliação, o volume médio de ácido clorídrico gasto nas titulações foi de $2,109 \pm 0,6712$ (Tabela 1). A Gráfico 2 mostra os dados obtidos para cada uma das séries avaliadas, a CTS média das crianças dos 2 e 3º anos foi significativamente maior ($p < 0,01$) em relação a CTS encontrada para os 4,5 e 6º anos. O parâmetro adotado para classificar a susceptibilidade ao desenvolvimento de cárie foi à média global dos valores de CTS para a população em estudo ($2,109$ mL). O percentual de crianças com baixa CTS, potencialmente susceptíveis ao aparecimento de cárie, encontrado nos 2 e 3º anos do ensino fundamental foi de 10%(16/160) e nos 4,5 e 6º anos do ensino fundamental foi de 45,62% (72/160). Foi encontrada baixa correlação estatística entre os valores de CTS e o fluxo salivar das amostras de saliva ($p = 0,0171$, $r = -0,199$; Tabela 2).

Gráfico 1 – Análise do fluxo salivar de crianças de 6 a 11 anos, alunos de uma escola pública da cidade de Juiz de Fora/MG



Fonte – Os autores (2011).

Amostras de saliva das crianças foram coletadas sob estímulo mecânico durante 5 minutos. Em seguida, os volumes foram medidos em seringas descartáveis. As barras correspondem a média dos volumes de saliva obtidos. Uma alíquota das amostras de saliva foi titulada com uma solução de HCl 0,01M até a viragem do indicador. Neste ponto, o volume em mL de HCl gasto foi medido.

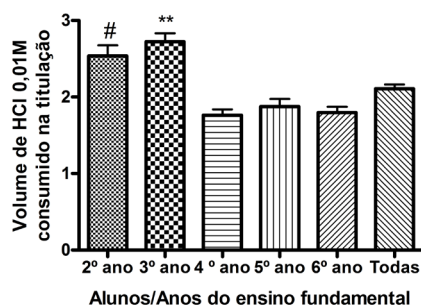
TABELA 2

Correlação entre capacidade tampão (CTS) e fluxo salivar

		CTS	Fluxo Salivar (mL/mim)
CTS	r (Spermann)	1,00	- 0,199
	p		0,0171
	N=160		
Fluxo Salivar	r (Spermann)	- 0,199	1,00
	p	0,0171	
	N=160		

Fonte – Os autores (2011).

Gráfico 2 – Avaliação da capacidade tamponante de 160 amostras de saliva de crianças de 6 a 11 anos da cidade de Juiz de Fora/MG



** e # representam os valores estatisticamente superiores as demais medidas ($p < 0,01$).

Fonte – Os autores (2011).

A avaliação microbiológica das salivas mostrou que 40,62% (65/160) das amostras não apresentaram tubos positivos para *L. acidophilus* (Tabela 3), sendo encontrada uma maior proporção de amostras positivas após 48 h de incubação (34,37%; 55/160). Este achado representa uma moderada susceptibilidade ao aparecimento de cárie nestas crianças.

TABELA 3

Número de amostras de saliva positivas para a produção de ácidos provenientes da proliferação para *L.* na diluição 10-1

Série/Tempo	Amostras positivas para <i>Lactobacillus acidophilus</i> na diluição			
incubação	10-1			
	24 h	48h	72h	Negativo
2º ano	6	13	1	13
3º ano	2	5	7	10
4º ano	6	8	4	18
5º ano	6	11	0	9
6º ano	6	18	2	15
Total	26	55	14	65

Fonte – Os autores (2011)

4 DISCUSSÃO

Como uma doença de caráter multifatorial, a cárie é resultante da interação entre o hospedeiro, a microbiota da região oral e a dieta consumida (BRETAS et al., 2008; WEYNE, 1992). A presença de cárie na primeira infância está relacionada com frequência da higiene bucal, orientação prévia e a idade inicial que se associam na formação do biofilme dental (GRANVILLE - GARCIA et al., 2010). A detecção de bactérias presentes na saliva de crianças pode ajudar na identificação de indivíduos com alto risco biológico para o desenvolvimento da cárie. Levando-se em consideração que o risco individual para o desenvolvimento da doença pode estar baseado em dados epidemiológicos e na análise microbiológica da saliva (VICENTE et al., 2008). A saliva corresponde ao nosso maior sistema de defesas contra o aparecimento de cárie, sendo responsável pela remoção de restos alimentares e do controle do pH da cavidade oral (BRETAS et al., 2008; STAMFORD et al., 2005), além de íons cálcio e fósforo, fundamentais para o processo de remineralização. Eventos patológicos ou uso de medicamentos são capazes de reduzir o fluxo salivar e a capacidade tampão da saliva, aumentando a predisposição das crianças ao aparecimento de cárie. É comum que as taxas de fluxo salivar não tenham uma relação direta com a idade, mas a intensidade da produção de saliva pode ser afetada por modificação do quadro de saúde geral da criança (BRETAS et al., 2008; GARCIA et al., 2009). Neste trabalho, as crianças de faixa etária entre 7 e 9 anos apresentaram uma menor taxa de fluxo salivar. A redução de fluxo salivar entre 7-9 anos não está diretamente relacionada com os valores de CTS encontrados, pois nesta faixa etária, os valores de CTS foram significativamente

maiores, sendo este fator importante na predisposição ao aparecimento de cárie. Alguns autores consideram que indivíduos que apresentam valores de baixos de fluxo salivar e/ou CTS não promovem a redução dos microrganismos e restos alimentares no meio bucal, sendo sua secreção salivar incapaz de exercer suas funções o que poderia ser um fator importante para maior incidência de lesões cariosas (BRETAS et al., 2008; GARCIA et al., 2009; KRASSE, 1988; STAMFORD et al., 2005.).

Os *Lactobacilos* pertencem à flora normal e estão em pequenas proporções na cavidade oral. No entanto, um dos eventos prévios ao estabelecimento da cárie é o aumento significativo do número de *Lactobacillus acidophilus* na placa dental (BYUN et al., 2004; ROMÁN-MÉNDEZ et al., 2009). Esta espécie não é o principal responsável pelo desenvolvimento da lesão mas apresenta propriedades acidogênicas acentuadas, sendo diretamente associados a progressão das lesões, e sua identificação e contagem um dos fatores para determinar fatores de risco de desenvolvimento de cárie. O percentual de amostras negativas para presença de *L. acidophilus* foi elevado (40,62%) e o maior número de amostras positivas foram identificadas após 48 horas de incubação. Estes dados, associados aos valores de fluxo salivar e CTS, sugerem que as crianças participantes apresentam uma susceptibilidade moderada-baixa para o aparecimento de cárie.

A ocorrência de cárie e a variação no seu padrão de incidência populacional tem relação direta com fatores socioeconômicos (LÁZARO et al., 1999), no entanto, uma vez educadas e motivadas as crianças tornam receptivas as informações oferecidas durante o trabalho lúdico desenvolvido (FERRETO; FAGUNDES, 2009). O processo torna-se contínuo na medida em que a equipe trabalha por um período de tempo maior dentro do ambiente escolar facilitando a aquisição de hábitos adequados, principalmente aqueles relacionados à higiene bucal. Desta forma a parte de desenvolvimento das atividades educativo-preventivas deste trabalho permitiu que todas as crianças tivessem acesso as informações mínimas necessárias para a manutenção da saúde bucal.

A ação efetiva de programas de promoção de saúde bucal da populacional sobre a prevenção da cárie age como método de controle da disseminação da cárie e da doença periodontal (GRANVILLE - GARCIA et al., 2010). O declínio na prevalência e na severidade da cárie dentária tem sido relatado nos diferentes países americanos. No Brasil, a região sudeste apresenta os melhores indicadores de saúde bucal, associados aos melhores índices de qualidade de vida, como, IDH, renda e escolaridade. O índice CPOD desta região

é o menor em comparação com os outros estados, incluindo o fato de ser a região com o maior acesso da população a água encanada (NARVAI et al., 2006). Esta redução do CPOD pode também ser relacionada com a expansão da fluoretação das águas de abastecimento público. Assim, podemos relatar que existe uma polarização da cárie, esta situação se deve ao fato de que a doença ataca desigualmente indivíduos não somente pelas variações biológicas, mas também pelas diferenças de ordem social detectadas no desenvolvimento socioeconômico das comunidades (NARVAI et al., 2006). Dentro desta linha de pensamento, outros trabalhos mostram que pode ser observada uma correlação entre a ocorrência de cárie em crianças e a escolaridade dos pais, sendo que a maior incidência de dentes cariados e severidade da doença nos indivíduos cujos pais possuem baixa escolaridade, frequentemente, apenas o primeiro grau. Existe também uma relação direta entre a incidência de cárie e a presença de microrganismos na saliva (KOMIYAMA et al., 2003). Estes dados demonstram a importância da conscientização da saúde bucal da criança (CHAVES et al., 2011). O fluxo salivar acima de 0,7 mL/mim demonstrou ser de grande capacidade de proteção contra microrganismos cariogênicos, bem como a capacidade tampão elevada são os principais fatores de proteção contra as cárie. No entanto estes apresentam grandes variações idiossincráticas e levam a concluir que além da sua presença a educação em saúde bucal é de grande suporte para o não aparecimento da doença cárie em qualquer idade.

Analysis of potential indicators for assessing the risk of caries in children 6 to 11 years of the city of Juiz de Fora/MG/Brazil

ABSTRACT

Saliva has a protective action over the teeth by controlling the oral microbiota, with a mixed composition as a result of the contribution of various oral glands, presents ions capable of maintaining the pH ranging between 6.4 and 6.9. The maintenance and progression of caries lesions is a dynamic function may be associated with the presence of the *Lactobacillus* that have the power of adhesion to the tooth surface and can establish the initial injury, generating acid components capable of increasing the acidity of the saliva. In this study, 160 saliva samples were collected from school children aged 6 to 11 years at Escola Estadual Mercedes Nery Santos, located in the city of Juiz de Fora, MG. It was possible to realize an increase in salivary flow rate in children ages 4, 5 and 6 years of elementary school, but this increase was not statistically significant. The buffer capacity of saliva was higher in samples of students in grades 1,2 and 3, showing a low correlation between salivary flow and buffering capacity. Microbiological analyzes revealed a low prevalence of *Lactobacillus acidophilus* in these samples. These data, together with the values of salivary flow and CTS, suggest that participating children have a moderately low susceptibility to tooth decay.

Keywords: Caries. Saliva. Oral health. *Lactobacillus*.

REFERÊNCIAS

- ARANHA, F. L. **Bioquímica Odontológica**. 2. ed. São Paulo: Sarvier, 2002.
- BRETAS, L. P. et al. Fluxo salivar e capacidade tamponante da saliva. **Pesquisa Brasileira Odontopediatria e Clínica Integrada**, Juiz de Fora, v. 8, n. 3, p. 289-293, 2008.
- BYUN, R. et al. Quantitative analysis of diverse *Lactobacillus* species present in advanced dental caries. **Journal of Clinical Microbiology**, Sydney, v. 42, no. 7, p. 3128–3136, 2004.
- CHAVES, R. A. et al. Consultório odontológico na escola: análise da saúde gengival e do nível de higiene oral. **Revista Gaúcha de Odontologia**, Porto Alegre, v. 59, n. 1, p. 29-34, 2011.
- CORTELLI, S. C. et al. Avaliação da condição bucal e do risco de cárie de alunos ingressantes em curso de Odontologia. **PGR - Pós-Graduação Revista Faculdade Odontologia**, São José dos Campos, v. 5, n. 1, p. 35-42, 2002.
- FERRETO, L. E.; FAGUNDES, M. E. Conhecimentos e práticas em saúde bucal de professores dos centros municipais de educação infantil de Francisco Beltrão, PR, Brasil. **Revista Faz Ciência**, Francisco Beltrão, v. 11, n. 13, p. 143-158, jan./jun. 2009.
- FIORUCCI A, R.; SOARES, M. H. B.; CAVALHEIRO, E. T. O conceito de solução tampão. **Química Nova na Escola**, Campinas, SP, v. 13, p. 18-21, 2001.
- GARCIA, L. B. et al. Testes salivares e bacteriológicos para avaliação do risco de cárie. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, Rio de Janeiro, v. 41, n. 1, p. 69-76, 2009.
- GRANVILLE – GARCIA, A. F. et al. Cárie, gengivite e higiene bucal em pré-escolares. **Revista Gaúcha de Odontologia**, Porto Alegre, v. 58, n. 4, p. 468-473, out./dez. 2010.
- KOMIYAMA, E. Y. et al. Avaliação do meio LAPTg como alternativa para o isolamento de *Streptococcus* do grupo Mutans e lactobacilos da saliva. **Revista de Biociências**, Taubaté, v. 9, n. 4, p. 59-64, out./dez. 2003.
- KRASSE, B. Exame da saliva. In: **RISCO DE CÁRIE**. guia prático para controle e assessoramento. São Paulo: Quintessence, 1988.
- LÁZARO, C. P. Estudo preliminar do potencial cariogênico de preparações doces da merenda escolar através do pH da saliva. **Revista de Nutrição Campinas**, Campinas, SP, v. 12, n. 3, p. 273-287, set./dez. 1999.
- MOURA, J. K. D. et al. Avaliação quantitativa do fluxo salivar estimulado em crianças e adolescentes. **Revista Odonto Ciências**, São Luís, v. 23, n. 4, p. 380-383, 2008.
- NARVAI, P. C. et al. Cárie dentária no Brasil: declínio, polarização, iniquidade e exclusão social. **Revista Panama Salud Publica**, Panama, v. 19, n. 6, p. 385-393, 2006.
- NICOLAU, J. **Fundamentos de Bioquímica Oral**. 1. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008.
- NOVAIS, S. M. A. et al. Relação doença cárie-açúcar: prevalência em crianças. **Pesquisa Brasileira de Odontopediatria e**

Clínica Integrada, João Pessoa, v. 4, n. 3, p. 199-203, set./dez. 2004.

PACHECO, G. L. L. et al. Avaliação da ação antimicrobiana in vitro de dois sistemas de remoção química da cárie sobre *Streptococcus mutans* e *Lactobacillus acidophilus*. **Revista de Biociências**, Taubaté, v. 11, n. 1-2, p. 39-45, jan./jun. 2005.

RIBEIRO, N. M. E. et al. Breastfeeding and early childhood caries: a critical review. **Jornal de Pediatria**, Porto Alegre, v. 80, n. 5, p. 199-210, 2004.

ROMÁN-MÉNDEZ, C. et al. Identification of oral strains of *Lactobacillus* species isolated from Mexican and French children. **Journal of Dentistry and Oral Hygiene**, Victoria Island, v. 1, no. 1, p. 9-16, July 2009.

SANTOS, P. A. et al. Conhecimento sobre prevenção de cárie e doença periodontal e comportamento de higiene bucal de professores de ensino fundamental. **Ciência Odontologia Brasileira**, Araraquara, v. 6, n. 1, p. 67-74, jan./mar. 2003.

SPADARO, A. C. C. et al. A method for the clinical evaluation of salivary buffer capacity. **Revista de Odontologia da Universidade de São Paulo**, São Paulo, v. 12, n. 3, p. 247-251, jul./set. 1998.

STAMFORD, T. C. M. et al. Parâmetros bioquímicos e microbiológicos e suas relações com a experiência de cárie em adolescentes sadios. **Revista Brasileira de Saúde Materna e Infantil**, Recife, v. 5, n. 1, p. 71-76, 2005.

TRAEBERT, J. L. et al. Severidade da cárie dentária em escolares. **Revista de Saúde Pública**, São Paulo, v. 35, n. 3, p. 283-288, 2001.

VICENTE, V. A. et al. Relação entre a prevalência da doença cárie e risco microbiológico. **Ciência Odontologia Brasil**, São José dos Campos, v. 11, n. 2, p. 44-48, abr./jun. 2008.

WEYNE, S. Cariologia. In: BARATIERI, L. M. et al. **Dentística: procedimentos preventivos e restauradores**. Rio de Janeiro: Quintessence, 1992. p. 1-42.

Enviado em 19/2/2012

Aprovado em 10/3/2012