

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ**  
**FACULDADE DE FARMÁCIA, ODONTOLOGIA E ENFERMAGEM**  
**DEPARTAMENTO DE CLÍNICA ODONTOLÓGICA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA**

**DIJANE PEREIRA COSTA**

**ESTUDO DO PERFIL DE AMINOÁCIDOS SALIVARES EM CRIANÇAS**  
**DESNUTRIDAS COM CÁRIE DA PRIMEIRA INFÂNCIA**

**FORTALEZA**

**2008**

DIJANE PEREIRA COSTA

ESTUDO DO PERFIL DE AMINOÁCIDOS SALIVARES EM CRIANÇAS  
DESNUTRIDAS COM CÁRIE DA PRIMEIRA INFÂNCIA

Dissertação apresentada à coordenação do Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Faculdade de Farmácia, Odontologia e Enfermagem da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Odontologia. Área de concentração: Clínica Odontológica.

Orientadora: Profa. Dra. Cristiane Sá Roriz Fonteles.

FORTALEZA

2008

Ficha catalográfica

C871e Costa, Dijane Pereira  
Estudo do perfil de aminoácidos salivares em crianças desnutridas com cárie da primeira infância/ Dijane Pereira Costa. 2008.  
90 f.

Orientadora: Profa. Dra. Cristiane Sá Roriz Fonteles  
Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Ceará. Faculdade de Farmácia, Odontologia e Enfermagem, Fortaleza, 2008.

1. Cárie Dentária. 2. Aminoácidos. 3. Desnutrição. 4. Saliva. 5. *Streptococcus mutans*. I. Fonteles, Cristiane Sá Roriz (orient.). II. Título.

CDD 617.67

DIJANE PEREIRA COSTA

ESTUDO DO PERFIL DE AMINOÁCIDOS SALIVARES EM CRIANÇAS  
DESNUTRIDAS COM CÁRIE DA PRIMEIRA INFÂNCIA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Faculdade de Farmácia, Odontologia e Enfermagem da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Clínica Odontológica.


Aprovada em: 17 / 11 / 2008.

BANCA EXAMINADORA



Profª. Dra. Cristiane Sá Roriz Fonteles (Orientadora)

Universidade Federal do Ceará-UFC



Prof. Dr. Manassés Claudino Fonteles

Universidade Federal do Ceará-UFC



Profª. Dra. Cláudia Ferreira Santos

Universidade Estadual do Ceará-UECE

***AO MEU FILHO BRUNO***

*Presente*

*de Deus em minha vida,*

*Motivo maior de toda minha felicidade.*

*A você, que sempre compreendeu...*

*minha ausência, necessária para realização*

*de meus ideais profissionais,*

*que sempre me ajudou, me incentivou,*

*que demonstrou muita paciência nos momentos difíceis,*

*tornando possível a conclusão do curso.*

*Dedico essa etapa vencida, e a realização de todos os meus ideais.*

## **AGRADECIMENTOS ESPECIAIS**

Agradeço primeiramente a **Deus:** precursor de tudo até hoje, pois sem ele eu não conseguiria nem ter iniciado o curso de Pós-Graduação. Deus sempre me amparou, nunca me abandonou e nas horas de desespero sempre esteve presente.

Aos meus pais **FRANCISCO** (*in memoriam*) e **ANTONIA:** responsáveis por tudo que sou, por minha educação e formação moral. Por seu exemplo, amor, carinho e orientação em todas as fases de minha vida. Todas as palavras, ainda que existissem, seriam insuficientes para demonstrar o meu amor e admiração.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço à amiga e orientadora, Dra. **CRISTIANE SÁ RORIZ FONTELES** pela confiança, respeito, apoio, incentivo... Obrigada por acreditar no meu potencial, por me acolher e me ajudar em todos os momentos científicos e pessoais. Obrigada pela competência e dedicação que proporcionou no desenvolvimento desse trabalho.

Ao meu marido **ORISMAR**, por estar sempre presente, apoiando minhas escolhas e compreendendo minhas ausências.

À minha irmã **ANDREA**, sempre presente incentivando e dando força.

A *todos* os meus familiares e demais amigos, que sempre torceram pelo meu sucesso e de uma forma ou de outra colaboraram na elaboração desta tese.

À minha querida amiga, Dra. **GLAUCENIRA DE BARROS BRUNO**, professora de Odontopediatria da Universidade Federal do Ceará. “Amigo é coisa pra se guardar do lado esquerdo do peito, dentro do coração!” Obrigada pelo companheirismo, amizade, apoio. Você é uma pessoa muito especial.

À Professora Dra. **ROSEMARY DE SOUSA CARVALHO** minha grande incentivadora, meu muito obrigado.

À Dra. **DANIELE TOYAMA** responsável pela análise dos aminoácidos da pesquisa, minha eterna gratidão e sinceros agradecimentos.

À Dra. **CIBELE BARRETO MANO DE CARVALHO**, professora de Microbiologia da Universidade Federal do Ceará, pelo apoio confiança que depositou em mim, e a todos os funcionários do Laboratório de Microbiologia do Departamento de Patologia e Medicina Legal da UFC.

Ao Dr. **ANDRÉ JALLES MONTEIRO**, professor da Universidade Federal do Ceará responsável pelas análises estatísticas desta pesquisa.

À minha colega de mestrado **ANA CATARINA DE MIRANDA MOTA**, exemplo de compromisso com a pesquisa, pela amizade e convivência científica compartilhada.

A todos os alunos **bolsistas** que estiveram envolvidos nesta pesquisa.

À **ROSANE MARIA COSTA**, bibliotecária da Universidade Federal do Ceará, obrigada pela correção da revisão bibliográfica.

E, finalmente, agradeço a cooperação da direção e a toda equipe profissional do **INSTITUTO de PREVENÇÃO à DESNUTRIÇÃO e EXCEPCIONALIDADE (IPREDE)** e em particular a colaboração das mães e das crianças neste estudo.

"Nesta vida não há problemas; há desafios e os desafios geram oportunidades! Além do mais, problemas se resolvem e desafios se vencem."

Autor Desconhecido



## RESUMO

**Objetivo:** Investigar o perfil dos aminoácidos salivares em crianças saudáveis e com diferentes graus de desnutrição, portadoras e livres de cárie da primeira infância (CPI), correlacionando esses achados com experiência de cárie e níveis de estreptococos do grupo mutans (EGM) em saliva.

**Métodos:** Cento e vinte e duas crianças, de 12 – 71 meses de idade, com e sem CPI foram selecionadas para participar do estudo. Termos de consentimento foram assinados e as crianças foram divididas nos grupos saudáveis (GS, n = 47), levemente (GI, n = 22), e moderadamente (GII, n = 53) desnutridas. Níveis de desnutrição foram classificados segundo os padrões de crescimento da OMS 2006. Amostras de saliva não estimulada foram coletadas de todos os participantes e subsequentemente centrifugadas. Sobrenadantes foram extraídos, liofilizados, armazenados a  $-20^{\circ}\text{C}$  e utilizadas para análise de aminoácidos em um analisador de aminoácidos Biochem 20 plus. Saliva estimulada foi também coletada e usada para detecção de EGM. Estas amostras foram cultivadas em meio de cultura MSB (ufc/mL). Os resultados das concentrações de aminoácidos foram expressos em  $\mu\text{M/mL}$ . O exame dentário foi realizado para cálculo do índice ceo-s. Os dados foram analisados por meio do teste do Qui-quadrado de Pearson e de um modelo Logístico Binário. Resultados foram considerados significantes quando p-valor  $< 0.02$ .

**Resultados:** Quarenta aminoácidos foram identificados, com grande variabilidade em suas concentrações. Análise da presença/ausência de cada aminoácido, e presença/ausência de cárie demonstrou uma associação entre asparagina e CPI em GII ( $p=0.003$ ). Regressão logística mostrou que o risco à experiência de cárie aumenta com a idade ( $p = 0.003$ ). A presença de alanina ( $p = 0.014$ ) e carnitina ( $p = 0.008$ ) reduziram as chances de experiência de CPI. A presença de histidina aumentou significativamente o risco à cárie ( $p = 0.012$ ). Entretanto, EGM não aumentou o risco à CPI ( $p = 0.065$ ) nesse modelo.

**Conclusão:** A presença de aminoácidos específicos na saliva de crianças com DEP predispõem a um maior ou menor risco à experiência de cárie.

**Palavras-chave:** Cárie. Aminoácidos. Desnutrição. Saliva. *Streptococcus mutans*.

## ABSTRACT

**Aim:** The aim of the present study was to identify the free amino acid content in whole saliva of children with protein-energy malnutrition (PEM), with and without early childhood caries (ECC), correlating these findings with caries experience and mutans streptococci (MS) levels in saliva.

**Methods:** One hundred and twenty two, 12 – 70 months-old children, with or without ECC were selected to participate in the study. Consent forms were signed and children were divided into healthy (GH, n = 47), and mildly (GI, n = 22) or moderately (GII, n = 53) malnourished groups. Malnourishment levels were classified according to WHO 2006 growth standards. Unstimulated whole saliva was collected from all participants and centrifuged. Supernatants were extracted, lyophilized, stored at – 20°C and used for amino acid analysis, on a Biochem 20 plus amino acid analyzer. Stimulated whole saliva was also collected from all subjects, and used for MS detection on MSB agar medium (cfu/mL). Amino acid concentrations were expressed in  $\mu\text{M}/\text{mL}$ . Dental examination was performed for calculation of dmfs scores. Pearson Chi-Square test and a Logistic Binary Model were used for statistical analysis. Results were considered significant when p-value < 0.02.

**Results:** Forty amino acids were identified, with great variability in their concentrations. Analysis of presence/absence of each amino acid and presence/absence of caries demonstrated an association between asparagine and ECC in GII (p = 0.003). Logistic regression showed that caries experience increased with an increase in age (p = 0.003). The presence of alanine (p = 0.014) and carnithine (p = 0.008) reduced the chances of experiencing ECC. The presence of histidine significantly increased caries risk (p = 0.012). However, MS counts did not significantly increase the risk of experiencing ECC (p = 0.065) in this model.

**Conclusion:** Presence of specific amino acids in saliva of children with PEM predisposes to a higher or lower risk of caries experience.

**Keywords:** Dental Caries. Amino Acids. Malnutrition. Saliva. *Streptococcus mutans*.

## LISTA DE TABELAS

1. Aminoácidos identificados em saliva total humana de crianças saudveis (N=47 e desnutridas (N=75).....	54
2. Relação entre o aminoácido ASN, estado nutricional e experiência de cárie de 122 crianças através do teste do qui-quadrado de Pearson.....	57
3. Análise estatística bidimensional através do teste do qui-quadrado de Pearson para verificar relação entre presença/ausência de cada aminoácido e estado nutricional.....	58
4. Relação entre presença/ausência de cada aminoácido e estado nutricional de 122 crianças.....	59
5. Regressão logística da probabilidade de cárie considerando todas as variáveis.....	62

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AAPD	Academia Americana de Odontologia Pediátrica
ACC	Comité de Coordenação Administrativa
AIDIPI	Atenção Integrada às Doenças Prevalentes da Infância
Ceo-d	Dentes decíduos cariados, extraídos ou obturados
Ceo-s	Número de superfícies dentárias cariadas, extraídas ou obturadas
CLPE	Cárie do Lactente e do Pré- escolar
CPI	Cárie Precoce na Infância
CSLPE	Cárie Severa do Lactente e do Pré- escolar
DEP	Desnutrição Energético-Proteica
EGM	Streptococcus do grupo mutans
FAO	Food and Agriculture Organization
HPLC	Cromatografia líquida de alta eficiência
MS	Ministério da Saúde
MSB	Agar mitis salivarius acrescido de bacitracina
NCHS	National Center for Health Statistics
OMS	Organização Mundial da Saúde
OPAS	Organização Pan-Americana da Saúde
PACS	Políticas Alternativas para o Cone Sul
PSF	Programa Saúde da Família
PRB	Population Reference Bureau
pH	Potencial hidrogeniônico
r.p.m	Rotações por minuto
SM	Streptococcus mutans
SCN	Subcomitê de Nutrição (Nações Unidas)
UNICEF	Fundo das Nações Unidas para a Infância
U/L	Unidades por litro
UFC	Unidades formadoras de colônia
WHO	World Health Organization
µg/mL	Microlitros

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>14</b>
<b>2</b>	<b>REVISÃO DE LITERATURA.....</b>	<b>16</b>
<b>2.1</b>	<b>Desnutrição.....</b>	<b>16</b>
<b>2.2</b>	<b>Cárie Dentária.....</b>	<b>22</b>
2.2.1	Epidemiologia.....	22
2.2.2	Etiologia.....	23
2.2.2.1	Microbiota Bucal Específica.....	24
2.2.2.2	Dieta.....	27
2.2.3	Fatores de Risco.....	27
2.2.4	Características Clínicas.....	29
2.2.5	Cárie Precoce de Infância.....	29
<b>2.3</b>	<b>Saliva.....</b>	<b>32</b>
<b>2.4</b>	<b>Aminoácidos.....</b>	<b>37</b>
<b>3</b>	<b>OBJETIVOS.....</b>	<b>43</b>
<b>3.1</b>	<b>Objetivo Geral.....</b>	<b>43</b>
<b>3.2</b>	<b>Objetivos Específicos.....</b>	<b>43</b>
<b>4</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>44</b>
<b>4.1</b>	<b>Procedimentos Metodológicos.....</b>	<b>44</b>
4.1.1	Área de Estudo.....	44
4.1.2	Procedimentos Preliminares.....	44
4.1.3	Da Realização do Estudo.....	44
4.1.4	Seleção da Amostra.....	45
4.1.5	Entrada do Voluntário no Estudo.....	45
4.1.6	Critério de Inclusão de Participantes.....	45
4.1.7	Critério de Exclusão de Participantes.....	46
4.1.8	Critério para Retirada do Estudo.....	46
<b>4.2</b>	<b>Coleta da Amostra de Saliva para Análise Microbiológica.....</b>	<b>46</b>
<b>4.3</b>	<b>Exame Clínico Intra-bucal.....</b>	<b>47</b>
<b>4.4</b>	<b>Fluxograma.....</b>	<b>48</b>
<b>4.5</b>	<b>Protocolo Laboratorial.....</b>	<b>48</b>

4.5.1	Análise Microbiológica.....	48
4.5.2	Preparo do Meio de Cultura.....	49
4.5.3	Preparo da Solução Salina.....	49
4.5.4	Processamento das Amostras.....	49
4.5.4.1	Isolamento, Identificação e Estimativa de <i>S mutans</i> .....	49
4.5.4.2	Testes Bioquímicos.....	51
4.5.4.3	Preparo da Base.....	51
4.5.4.4	Prova da Fermentação do Manitol e Hidrólise de Esculina.....	51
<b>4.6</b>	<b>Análise dos aminoácidos.....</b>	<b>52</b>
<b>4.7</b>	<b>Análise Estatística dos Dados.....</b>	<b>53</b>
<b>5</b>	<b>RESULTADOS.....</b>	<b>54</b>
<b>6</b>	<b>DISCUSSÃO.....</b>	<b>63</b>
<b>7</b>	<b>CONCLUSÕES.....</b>	<b>72</b>
	<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>73</b>
	<b>APÊNDICES.....</b>	
	<b>ANEXO.....</b>	

## 1 INTRODUÇÃO

A deficiência nutricional é um problema sério que está diretamente ligado aos fatores econômicos, sociais e subhumanos de vida: pobreza, nível de escolaridade e precárias condições sanitárias, tornando-se assim um problema de Saúde Pública. No Brasil a desnutrição energética protéica (DEP) apresenta índice elevado, especialmente no nordeste onde a prevalência atinge em algumas comunidades até 70% das crianças menores de 5 anos (ARRUDA *et al.*,1996), podendo promover a ocorrência de patologias através de modificações na formação do esmalte, apresentada especialmente pela hipoplasia e hipocalcificação dos dentes (BHASKAR, 1978). O estado nutricional tem influência na formação dental e contribui para um aumento da susceptibilidade a cárie (ALVARES; NAVIA, 1989). Por outro lado, a desnutrição crônica está associada ao atraso na erupção dentária e ocasiona uma mudança na prevalência da doença com relação à idade. Menaker e Navia (1973) investigaram em ratos, os efeitos da desnutrição calórica e da desnutrição protéica, no período perinatal, sobre a experiência de cárie. Inicialmente a desnutrição protéica específica possibilitou um aumento na susceptibilidade à cárie. Entretanto com adição de proteínas, houve reversão do quadro. Foi demonstrado que as proteínas e não a quantidade de calorias constitui-se fator primário para reverter os efeitos da desnutrição, podendo seus efeitos sistêmicos alterar o desenvolvimento dos dentes, a qualidade e quantidade da saliva e o sistema imunológico.

A cárie dentária é uma doença infecto-contagiosa, transmissível de pessoa para pessoa através do contato direto, que acomete principalmente crianças e adultos jovens, resultando na perda localizada de superfícies dentárias causadas por ação de ácidos orgânicos presentes na boca, provenientes da fermentação microbiana dos carboidratos da dieta, sendo considerada um significativo problema de saúde pública (HELLER *et al.*, 2000), ocasionando um maior número de hospitalizações e visitas médicas de emergência (SHELLER; WILLIAMS; LOMBARDI, 1997), aumentando tempo e custo de tratamento (RAMOS-GOMEZ *et al.*,1999; GRIFFIN *et al.*,2000), com subsequente desenvolvimento físico insuficiente (em altura e peso) (AYHAN, 1996), reduzindo qualidade de vida (THOMAS *et al.*, 2002) de crianças acometidas pela doença.

Sabe-se que a saliva atua como papel importante da saúde oral controlando o metabolismo, a aderência e o crescimento de microorganismo patógenos, aumentando a remoção dos resíduos dos carboidratos, promovendo a remineralização do dente e neutralizando ácidos orgânicos produzidos por microorganismo acidogênicos que levam à

desmineralização, devido aos seus componentes imunológicos e não imunológicos, como proteínas antimicrobianas e enzimas específicas. Deste modo a absorção seletiva das proteínas salivares e aminoácidos resulta na formação da película adquirida (DAWES; JENKINS; TONGE, 1963). Essa camada protetora parece desempenhar uma importante função na prevenção da desmineralização, apesar de haver poucos dados publicados dos efeitos de proteínas e aminoácidos isolados no processo cariioso.

O já estabelecido caráter infecto-contagioso da cárie da primeira infância (BERKOWITZ; TURNER; GREEN, 1981) aponta em direção a uma ativa participação de componentes salivares específicos, de caráter imunológico e não imunológico. Embora muito já se conheça da relação cárie-saliva, um pequeno universo desses estudos buscou investigar a relação do perfil de proteínas e aminoácidos salivares como uma maior ou menor susceptibilidade à cárie dentária em adultos ou crianças. Ademais, estudo realizado com saliva estimulada de adultos sugere uma contribuição do catabolismo microbiano de aminoácidos dibásicos na neutralização de ácidos produzidos pela placa dentária, parcialmente responsável pelo elevado pH de repouso da placa, observado em indivíduos livres de cárie (VAN WUYCKHUYSE *et al.*, 1995). Tendo sido mais recentemente relatadas diferenças existentes entre o perfil de peptídeos encontrados em saliva de pacientes adultos com e sem cárie (AYAD *et al.*, 2000). Sendo o aspecto nutricional na primeira infância de extrema importância na capacidade de defesa orgânica, qualidade de vida, crescimento e desenvolvimento infantil; quando associada à cárie dentária, essas condições se agravam.

Ainda não se sabe a relação que existe entre alimentação, estado nutricional e a condição bucal. As pesquisas mostram muitas vezes, resultados controversos (LAMY *et al.*, 1999) e conhecimento limitado (SHEIHAM *et al.*, 2001). Existe concordância de que o estado nutricional e a condição bucal estão inter-relacionados, no entanto há poucos dados na literatura para confirmar esta afirmação (PAPAS *et al.*, 1998).

Na ausência de estudos capazes de definir parâmetros desta natureza em populações de crianças com e sem cárie precoce da infância, o presente trabalho visa contribuir com o estudo do perfil dos aminoácidos salivares em crianças saudáveis e com diferentes graus de desnutrição, portadoras e livres de cárie da primeira infância. Assim sendo, visa esclarecer o fato que leva determinadas crianças a apresentarem um maior risco ao desenvolvimento de lesões cariosas quando estão aparentemente sujeitas às mesmas condições ambientais, alimentares e de higienização da cavidade oral.



## 2 REVISÃO DA LITERATURA

### 2.1 Desnutrição

A desnutrição infantil é uma doença de origem multifatorial e complexa que tem suas raízes na pobreza. Ocorre quando o organismo não recebe os nutrientes necessários para o seu metabolismo fisiológico. Na maioria dos casos, a desnutrição é o resultado de uma ingestão insuficiente de alimentos, fome e doenças (UNITED NATIONS, 2000). A desnutrição infantil continua a ser um dos problemas mais importantes de saúde pública do mundo atual, devido aos danos que podem causar no crescimento, desenvolvimento e sobrevivência das crianças. Recentemente, baseada em pesquisas nutricionais realizadas em todos os continentes, a Food and Agriculture Organization (FAO, 2001), relatou que, embora em termos percentuais, tenha havido decréscimo na incidência de desnutrição entre os anos de 1990 e 1999, ainda 623,7 milhões de pessoas no mundo são acometidas por deficiências nutricionais.

O termo desnutrição calórico-protéica ou energético-protéica (DEP) foi proposto e oficializado pela FAO para as deficiências de proteína e de caloria, ocorrendo mais freqüentemente em pré-escolares e comumente associadas às infecções (OLIVEIRA, 1998). Esta patologia (DEP), ou simplesmente desnutrição, é uma das mais comuns e a mais importante das deficiências nutricionais, vitimando cerca de 200 milhões de crianças menores de 5 anos no mundo (BATISTA *et al.*, 1996). Neste contexto, a desnutrição energético-protéica resulta do consumo insuficiente dos nutrientes indispensáveis à manutenção da saúde, caracterizando-se, de modo geral, por estado físico deficiente, baixo peso, apatia, fadiga, inapetência, resistência reduzida às infecções e capacidade limitada para realizar esforços físicos (BORSOI, 2001). No Brasil a DEP apresenta índice elevado, especialmente no nordeste onde a prevalência atinge em algumas comunidades, até 70% das crianças menores de 5 anos (ARRUDA *et al.*, 1996). A DEP em seus diferentes estágios, desde as formas mais leves, expressa em déficits discretos do crescimento ou pequenas perdas de peso, até as manifestações mais graves, como o *Kwashiorkor* (desnutrição edematosa) e o *marasmo*, é uma das mais difundidas das doenças carenciais, constituindo um dos maiores problemas de saúde coletiva do mundo (ROMBEAU, 1998).

Em concordância com a meta governamental de reduzir em 50% a prevalência das desnutrições moderada e grave até o ano 2000, assumida na Reunião da Cúpula Mundial em favor da Infância, o Ministério da Saúde vem fazendo esforços para promover a nutrição e

reduzir a mortalidade infantil (BRASIL, 1996). Na tentativa de ampliar o acesso da população a essas ações, foram implantados a partir dos anos 80, o Programa de Agentes Comunitários de Saúde (PACS), o Programa de Saúde da Família (PSF), (BRASIL, 1996) e, em conjunto com a Organização Mundial de Saúde/Organização Pan-americana de Saúde, a Atenção Integral às Doenças Prevalentes da Infância (AIDIPI), (BRASIL, 1997a, 1997b).

Os parâmetros antropométricos usualmente utilizados para avaliar a condição nutricional de crianças são o peso e a altura, com os quais podem ser calculados os três índices mais freqüentemente empregados: peso/idade, estatura/idade e peso/altura (D'AVILA, 1999; BATISTA FILHO, 2003; DEVINCENZI *et al.*, 2004). Os indicadores de uso mais comum nos estudos de saúde coletiva e na própria rotina clínica são as classificações antropométricas, em razão do comprometimento precoce dos processos básicos de crescimento e desenvolvimento na criança (D'AVILA, 1999; BATISTA FILHO, 2003; DEVINCENZI *et al.*, 2004). A Organização Mundial de Saúde (OMS) recomenda a tabela de referência da *National Center for Health Statistics* (NCHS), que contém dados sobre peso e altura por idade, relação peso/altura, por sexo masculino e feminino, desde o nascimento até os 18 anos (D'AVILA, 1999). São considerados desnutridos, crianças com índices inferiores a  $-2Z$  escores abaixo da média de referência (DEVINCENZID *et al.*, 2004).

Atualmente, por recomendação da OMS (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1995a, 1995b), são utilizados os indicadores altura por idade (A/I), peso por altura (P/A) e peso por idade (P/I) para a classificação do estado nutricional. Cada um desses índices oferece diferentes informações sobre o crescimento e a composição corporal da criança (CARLSON; WARDLAW, 1990). O peso baixo em relação à altura indica a situação atual, uma perda de peso recente ou a dificuldade de ganhar peso. As causas são a ingestão inadequada de alimentos, enfermidades, infecções ou combinação destes fatores. Este indicador é bastante utilizado para detectar quadros agudos de desnutrição. A altura em relação à idade permite identificar uma interrupção do crescimento linear. Este indicador reflete o crescimento deficiente, indica processos crônicos de desnutrição. O peso por idade dimensiona o terceiro indicador e é composto pelos outros dois indicadores e não é capaz de diferenciar crianças altas e magras de crianças baixas e bem nutridas, pois, seu emprego é recomendado para análise e interpretação dos três indicadores conjuntamente. (SULLIVAN; GORSTEIN, 1994) Por definição, para qualquer dos indicadores, o escore Z médio da população de referência é zero. O escore Z negativo indica que a criança e/ou a população estudada está abaixo do padrão de estado nutricional desejável. Se o escore Z é igual ou

inferior a -3 DP, considera-se que existe desnutrição grave, entre 2 a -2,9 DP, desnutrição moderada e entre -1 e -2,9 DP, desnutrição leve (DEVINCENZI *et al.*, 2004).

Os pontos para a classificação do estado nutricional (desnutrição grave se menor que -3 DP, moderada entre -2 e -3 DP e leve entre -1 e -2 DP) são baseados, por um lado, em relações estatísticas entre os indicadores antropométricos e, por outro, nos impedimentos funcionais, nos riscos aumentados de morbidade e mortalidade e em outras evidências das conseqüências de fatores de risco relacionadas a alimentos e aos fatores de risco não alimentares.

Como referido anteriormente, a DEP está relacionada com consumo alimentar inadequado e infecções de repetição, sendo essas duas condições intimamente relacionadas com o padrão de vida da população, que inclui o acesso à alimentação, moradia e assistência à saúde (DEVINCENZI *et al.*, 2004). A DEP pode, quanto à origem, ser primária (dieta deficiente) secundária (condicionada). Na desnutrição primária o consumo inadequado de nutrientes é o determinante. A secundária é causada por outros fatores diferentes da dieta, como, por exemplo, a absorção e utilização dos nutrientes (OLIVEIRA, 1998). A desnutrição energético-protéica primária em crianças compromete o seu crescimento e desenvolvimento, onde acaba se estabelecendo um déficit de peso em relação à altura (ANGELIS, 1980). Portanto, o indivíduo desnutrido é aquele cujas células não recebem os nutrientes de que necessita para desempenhar suas funções de produzir energia, formar ou reparar tecidos e regular o seu próprio funcionamento (BORSOI, 2001). A DEP apresenta como condicionante biológico um consumo energético e protéico inadequado, agravado por freqüentes surtos de gastroenterites e outros processos infecto-contagiosos que, além de aumentar os requerimentos do organismo, dificultam o aproveitamento biológico dos alimentos ingeridos (D'AVILA, 1999; LAJOLO e TIRAPEGUI, 2003; DEVINCENZI *et al.*, 2004), sendo essas condições intimamente relacionadas com o padrão de vida da população, que inclui o acesso à alimentação, moradia e assistência à saúde (DEVINCENZI *et al.*, 2004).

Pelletier *et al.* (1995) pesquisando os efeitos da desnutrição na mortalidade infantil em 53 países em desenvolvimento, observaram que a desnutrição estava relacionada com mais da metade de mortes entre crianças de 6 a 60 meses, sendo a maior parte delas atribuídas às formas leves e moderadas da DEP.

A desnutrição grave pode apresentar-se de três formas: marasmo, kwashiorkor e marasmo-kwashiorkor. As alterações bioquímicas e metabólicas são semelhantes nas crianças com marasmo, kwashiorkor e kwashiorkor-marasmático (ASHWORTH;

SCHOFIELD, 1998; OMS, 2000). Devido à gravidade e complexidade das alterações metabólicas, os exames laboratoriais podem ser de difícil interpretação ou até mesmo confusos. A proteína sérica total no kwashiorkor está diminuída devido à baixa de albumina, em consequência à alteração da sua síntese hepática, enquanto no marasmo é normal. Os aminoácidos essenciais podem estar baixos e os não essenciais, normais ou altos, sobretudo no Kwashiorkor.

O kwashiorkor e o marasmo se manifestam clinicamente de forma distinta. As principais características do kwashiorkor são retardo no crescimento, perda de gordura subcutânea e muscular menos intensa que no marasmo, edema depressível que se localiza principalmente nas pernas, mas que pode atingir todo o corpo, e alterações mentais e de humor. Podem ocorrer lesões de cabelos (textura, cor, sem brilho, queda) generalizadas ou localizadas (sinal da bandeira), e também lesões de pele despigmentação, descamação. Anorexia, diarreia, infecções e deficiências de micronutrientes (vitamina A, zinco, ferro) são também frequentes. A presença de um significativo grau de perda de peso e a presença de edema são os aspectos essenciais para o diagnóstico de kwashiorko. Uma proporção das crianças desnutridas pode apresentar uma forma de desnutrição mista, o kwashiorkor-marasmático, com características mistas em relação às duas outras formas clínicas (OMS, 2000).

Segundo Alvarez e Navia (1989), o estado nutricional tem influência na formação dental e contribui para um aumento da susceptibilidade à cárie. As alterações nutricionais são muito mais comuns e severas durante o período gestacional (manifestados no nascimento com baixo peso) e durante o primeiro ano de vida (antes e depois do desmame), portanto, a susceptibilidade dos dentes decíduos ao ataque da cárie, depende da história nutricional da criança. A nutrição compromete os dentes não somente na fase pós-eruptiva, mas também durante a fase pré-eruptiva, quando atua diretamente em sua formação, no que (ALFANO, 1984) classificou de “período crítico” do desenvolvimento, época em que ocorre um rápido crescimento da estrutura dental, durante o qual a desnutrição pode provocar danos irreversíveis causando alterações na estrutura, composição, tamanho e susceptibilidade dos dentes a cárie.

De fato, Bhaskar (1978) afirmou que uma deficiência nutricional pode modificar a formação do esmalte promovendo a ocorrência de patologias representada especialmente pela hipoplasia e hipocalcificação dos dentes.

Uma deficiência nutricional de proteínas e minerais durante a formação do dente pode causar alterações em sua estrutura tanto na dentição decídua como na dentição

permanente, sendo que a época da agressão está determinada pela localização do defeito na coroa dental (GONÇALVES; FERREIRA, 2000). A carência de vitaminas, particularmente da vitamina D, é a forma mais comum de hipoplasia de esmalte (BRAIDO; YASSUDA 1991; RUGG-GUNN, 1993) e tem sido encontrada, principalmente entre populações, de baixo nível socioeconômico (GOODMAN; MARTINSES; CHAVEZ, 1991). A deficiência de vitamina A também é conhecida por alterar a amelogênese, dentinogênese e função imunológica. Reduz ainda a síntese de glicoproteínas salivares específicas para aglutinação de bactérias (TOLEDO *et al.*, 1989). A vitamina C também está relacionada com a hipoplasia de esmalte (BRAIDO; YASSUDA, 1991). Quando a deficiência nutricional ocorre logo no início da formação da matriz orgânica, a expressão clínica pode ser hipoplasia de esmalte, caracterizada por rugosidades e ausência de esmalte. Se, porém, ocorre posteriormente, durante o processo de maturação, o resultado pode ser uma hipocalcificação expressa por manchas brancas, circundadas por esmalte normal (ALVAREZ; NAVIA, 1989).

O baixo peso ao nascer (<2.500 g) pode ser tomado como um bom indicador do risco da desnutrição materno-fetal. Nos países com boas condições de saúde e nutrição, menos de 8% das crianças nascidas vivas têm peso inferior a 2.500 g, enquanto nas áreas de pobreza a incidência pode chegar a 30% dos nascimentos ocorridos (UNICEF, 1998).

A desnutrição retarda a cronologia de erupção dentária, o que implica dizer que crianças desnutridas têm seus dentes expostos ao meio bucal mais tardiamente (INFANTE; GILLESPIE, 1976; ALVAREZ; NAVIA, 1989; ALVAREZ *et al.*, 1990; DUARTE, 1992). Um estudo retrospectivo feito por Psoter *et al.*, (2008) para determinar os efeitos da DEP na primeira infância mostrou um atraso na esfoliação dos dentes decíduos o que levou também estas crianças a apresentarem um atraso na erupção dos dentes permanente. A dieta pode afetar os dentes de duas maneiras: pré-eruptivamente (enquanto os dentes estão se formando) e pós-eruptivamente (localmente, na boca), de modo positivo ou negativo em relação à suscetibilidade à cárie (RUGG-GUNN, 1991).

A prevalência de cárie dentária em função da idade foi também pesquisada por Alvarez *et al.* (1990). Estes autores em seu estudo utilizaram 1.481 crianças (nutridas e desnutridas) e observaram que as crianças desnutridas apresentavam uma maior prevalência de cárie (ceo = 7) aos 7,6 anos que as crianças nutridas (ceo = 5,5). Alvarez *et al.* (1993) conduziram um estudo longitudinal com 209 crianças na idade de 6 a 11 meses residentes em Campo Grande (Peru). As crianças foram divididas em quatro grupos, de acordo com o estado nutricional (desnutrição crônica, aguda, aguda e crônica e normal), nos quais foram

avaliados o número de dentes erupcionados e índice de cárie (ceo) nas idades de 1 ano, 1 ano e 6 meses, 2 anos, 2 anos e 6 meses, 3 anos e 4 anos. Nas idades de 1 ano e 1 ano e 6 meses, as crianças com estado nutricional normal tinham, significativamente, maior quantidade de dentes que aquelas com desnutrição crônica, aguda e crônica e aguda. Aos 3 anos de idade, as crianças dos grupos referidos apresentavam igual número de dentes. Não houve diferença significativa no número de dentes cariados, perdidos e obturados, entre os grupos até a idade de 3 anos. Na idade de 4 anos, as crianças que sofriam de desnutrição crônica e aguda apresentaram maior ceo em comparação com os outros três grupos.

Sawyer e Nwoku (1985) pesquisaram o nível de saúde oral em 52 crianças com desnutrição severa, com idade de 1 a 5 anos de uma área rural da Nigéria. Do grupo com desnutrição 18,6% foram acometidas por hipoplasia de esmalte, enquanto que, no grupo das crianças bem nutridas, não houve registro desta alteração. Quanto à gengivite, também houve maior comprometimento das crianças desnutridas. Porém apenas 11,6% das crianças mal nutridas apresentaram lesão de cárie. A baixa prevalência de cárie neste presente estudo foi relacionada à dieta com baixo consumo de carboidratos e alto teor de fibras.

Segundo Navia (1973) a ausência de nutrientes afeta não só a estrutura celular da matriz orgânica, como o processo de calcificação e maturação do esmalte durante a amelogênese. A hipoplasia de esmalte ocorre como resultado de um distúrbio na formação da matriz do esmalte, injuriando o ameloblasto e resultando numa matriz deficiente, com defeito na sua superfície (SEOW, 1991; LI; NAVIA; BIAN, 1996). E mais, os efeitos sistêmicos provenientes da desnutrição podem alterar o desenvolvimento dos dentes, a qualidade e quantidade da saliva e afetar o sistema imunológico (BEZERRA; TOLEDO, 1997).

Por outro lado, a desnutrição crônica está associada ao atraso na erupção dentária e ocasiona uma mudança na curva de prevalência cárie x idade (MENAKER; NAVIA, 1973). Estes autores investigaram em ratos os efeitos da desnutrição calórica e da desnutrição protéica, no período perinatal, sobre a experiência de cárie. Numa primeira etapa a desnutrição protéica específica possibilitou um aumento na susceptibilidade à cárie. Com a adição de proteínas, entretanto, houve reversão do quadro. Foi demonstrado que a proteína e não a caloria constitui-se fator primário para reverter os efeitos da desnutrição. Bruno *et al.* (2006) estudaram a prevalência de cárie em crianças desnutrida na faixa etária de 2 a 5 anos de idade, na cidade de Fortaleza – Ceará, e encontraram uma maior prevalência de lesões cariosas no gênero masculino que em relação ao gênero feminino. O mesmo estudo também mostrou que o número de dentes cariados aumentava com a idade.

Em estudo seccional feito na cidade de Diadema avaliando a relação entre cárie e estado nutricional em crianças de 12-59 meses de idade, foi observado que as crianças com peso inferior ao normal tinham 5,58 vezes maior probabilidade de desenvolver ECC do que crianças com peso normal (OLIVEIRA; SHEIHAM; BONECKER, 2008).

## **2.2 Cárie Dentária**

### 2.2.1 Epidemiologia

A cárie dentária é uma doença infecciosa de grande prevalência e incidência na espécie humana, constituindo um relevante problema de saúde pública na maioria dos países (LORENZO; LORENZO, 2002). Esta morbidade afeta 80% da população infanto-juvenil nos Estados Unidos e é considerada a quinta doença mais onerosa ao tratamento no Reino Unido (MAIA; SAMPAIO; SILVA, 2006). Apesar do seu declínio mundial em todas as idades, em especial pela utilização do flúor, sua prevalência permanece estável na dentição decídua (CAUFIELD; GRIFFEN, 2000; HARRIS *et al.*, 2004), sendo uma doença comum em crianças, estimando-se que, nos Estados Unidos, tenha uma prevalência cinco vezes maior que a asma e sete vezes maior que a rinite alérgica (PIERCE; ROZIER; VANN, 2002; AMERICAN ACADEMY OF PEDIATRICS, 2007). Embora o pediatra seja o principal responsável pela promoção da saúde oral da criança, poucos artigos científicos com foco nesse assunto têm sido publicados em revistas pediátricas (AMERICAN ACADEMY OF PEDIATRICS, 2007). Apesar de não ser mais uma doença universal, por que já é uma realidade a diminuição na sua prevalência nos grandes centros, ainda assim, continua sendo de interesse identificar indivíduos predispostos à esta doença sendo alvo de constantes pesquisas (DINI; HOLT; BEDI, 2000). Por outro lado, paralelamente à substancial melhoria na saúde bucal, houve mudança no padrão de distribuição da cárie dentária. A maioria da população encontra-se livre de cárie, enquanto pequena parcela concentra a maior proporção e os mais altos níveis da doença, conhecido como "fenômeno da polarização" (NADANOVSKY, 2000; SALES-PERES; BASTOS, 2002). Esta doença acomete crianças menos favorecidas socioeconomicamente, nos países desenvolvidos e em muitos outros em desenvolvimento (MILNES, 1996; MEHROON; CLEATON-JONES, 1998).

No Brasil, constitui o principal agravo com que se defronta a Odontologia Social. Quase 27% das crianças de 18 a 36 meses apresentam pelo menos um dente decíduo com experiência de cárie dentária, sendo que a proporção chega a quase 60% das crianças com 5

anos de idade. As crianças do norte e nordeste do país apresentam os maiores números de dentes cariados (BRASIL, 2002-2003). Dados sobre a prevalência de cárie dentária na dentição decídua realizado pela Secretaria de Saúde do Estado do Ceará/Brasil verificou que o índice ceo-d, entendido como a proporção de indivíduos com dentes decíduos cariados, perdidos e obturados para o grupo etário de 18 a 36 meses e idade de 5 anos era igual a zero (ceo-d=0), portanto, livre de cárie dentária era de 75,81% e 34,24%, respectivamente. Entretanto, o ceo-d igual ou maior que 1 foi de 24,19% e 65,76% para esse mesmo grupo etário e idade, evidenciando que à medida que aumenta a idade, aumenta também o ceo-d, sendo que a totalidade dos dentes afetados foi devido ao componente cariado, indicando uma visível deficiência de acesso a serviços de saúde bucal e a ausência de programas de promoção e prevenção à saúde bucal nessa faixa etária (CEARÁ, 2004).

Por ser um sério problema de saúde pública o seu controle deve ser prioridade na dentição decídua, pois pode levar a uma má-oclusão dos dentes permanentes, causar problemas fonéticos, reduzindo a auto-estima da criança (DAVIES, 1998; RAMOS-GOMEZ *et al.*, 1999).

### 2.2.2 Etiologia

Através dos tempos, muitas teorias sobre a etiologia da cárie dentária foram levantadas, porém só em 1890 com os estudos de Miller é que se formou a base para a teoria acidogênica de desenvolvimento da cárie. Newbrun (1988) relatou que a cárie dentária é uma doença infecciosa crônica e multifatorial, ou seja, é dependente da interação de três fatores essenciais: o hospedeiro representado pela saliva e pelos dentes, a microbiota bucal específica e a dieta, e além disso, um quarto fator, o tempo. Na microbiota bucal o principal microrganismo envolvido no processo da cárie é o *Streptococcus mutans* pela sua capacidade de metabolizar carboidratos e produzir ácido.

A progressão da cárie dentária, geralmente, ocorre de forma lenta, cerca de um a dois anos. O fator hospedeiro, que auxilia na sua formação e que controla o seu crescimento a anatomia dental, onde sulcos e fissuras profundos e o apinhamento dentário favorecem a colonização bacteriana, pela dificuldade de remoção durante a higienização oral (TAPPUNI; CHALLACOMBE, 1993).



### 2.2.2.1 Microbiota Bucal Específica

O principal microorganismo responsável pela lesão cariosa é o *Streptococcus* do grupo *mutans* (*EGM*), que induzem à desmineralização da estrutura dental. Esses patógenos são capazes de colonizar a superfície do dente e produzir ácidos em velocidade superior à capacidade de neutralização do biofilme em ambiente abaixo do pH crítico (menor que 5,5), permitindo a dissolução do esmalte (SCHAFFER; ADAIR, 2000; MCDONALD; AVERY; STOOKEY, 2001; TENUTA *et al.*, 2003; AIRES *et al.*, 2006). Em meio de cultura rica em sacarose, apresentam características morfológicas peculiares no seu crescimento, são diferenciadas das demais espécies bacterianas por sua forma de amora, superfície de vidro moído, crescimento aderente no ágar e produção de polissacarídeos que se localizam ao redor e/ou sobre a colônia bacteriana (VAN PALENSTEIN HELDERMAN *et al.*, 1983).

Os *EGM* representam o principal agente etiológico da cárie dental em humanos, sendo responsáveis principalmente pela fase inicial da lesão (LOESCHE, 1986; BOWEN, 1998). Esta espécie foi a primeira da cavidade bucal em apresentar o seu genoma seqüenciado (AJDIC *et al.*, 2002), e incluem sete espécies distintas: *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sobrinus* (ambas exclusivas de humanos), *Streptococcus cricetus* (isoladas de hamsters), *Streptococcus ferus* (de ratos selvagens), *Streptococcus rattus* (isoladas de ratos e de humanos em algumas populações), *Streptococcus downei* e *Streptococcus macacae* (em macacos) (WHILEY; BEIGHTON, 1998). A fase inicial de colonização depende da interação específica entre *EGM* e proteínas/glicoproteínas de origem salivar e microbiana, aderidas às superfícies dentárias (película adquirida do esmalte dental). Esta ligação inicial à película adquirida envolve interações específicas com adesinas microbianas. Diversas adesinas bacterianas foram identificadas em várias espécies de estreptococos da placa dental (HASTY *et al.*, 1992). Este microorganismo reúne vários fatores de virulência para o desenvolvimento da cárie dental, como a acidogenicidade e aciduricidade além da capacidade de adesão às superfícies dentárias (HAJISHENGALLIS; MICHALEK, 1999). A engenharia genética vem sendo um meio útil no avanço dos estudos biomoleculares da virulência dos *EGM*, possibilitando o isolamento e caracterização dos genes responsáveis por seu potencial cariogênico (JACQUES, 1998).

Inicialmente a presença de *EGM* foi observada por Caufield, Cutter e Dasanayake (1993), o qual encontrou o microorganismo em 36 crianças, na idade média de 26 meses, sendo este período descrito como “Janela de Infectividade”. Os autores também avaliaram a colonização da cavidade bucal por *EGM* em crianças desde o nascimento até os 05 anos de

idade e observaram que o período crítico para a implantação do microrganismo na cavidade bucal ocorreria entre 19 e 31 meses, correspondendo à época de erupção dos molares decíduo. Portanto, a colonização da cavidade bucal do ser humano inicia-se durante os primeiros momentos após o nascimento e a sucessão de bactérias continua por toda a vida do indivíduo (BOWDEN; EDWARDSON, 1995). As crianças com um ecossistema bucal em desenvolvimento são particularmente susceptíveis à colonização bacteriana. Na cavidade bucal, somente as superfícies mucosas como o palato, rolete gengival, dorso de língua e mucosa jugal, estão susceptíveis à colonização durante os primeiros meses de vida. Após a erupção dos dentes, ocorre um aumento significativo na natureza e número de sítios disponíveis para a aderência, havendo neste momento o efetivo estabelecimento do *EGM* embora ele também tenha sido encontrado em bebês edêntulos (EKSTRAND; BOREUS; CHATEAU, 1981; WANDERLEY *et al.*, 1999; TANNER *et al.*, 2002; RAMOS-GOMEZ *et al.*, 2002). Essa transmissão precoce, antes dos dentes irromperem, pode está relacionada com fatores como: níveis elevados de SM da mãe, contato salivar materno, nível educacional e econômico da mãe (WANDERLEI *et al.*, 1999). Apesar da vasta literatura a respeito da época precisa de colonização da cavidade bucal por *EGM*, o principal fator microbiano relacionado à iniciação da doença é ainda controverso (WAN *et al.*, 2001), e a melhor identificação da época em que estes patógenos colonizam a cavidade bucal irá certamente colaborar para o entendimento dos mecanismos de iniciação da doença e para o desenvolvimento de medidas preventivas e interceptivas em seu diagnóstico e tratamento (SEOW, 1998; TANNER *et al.*, 2002).

Considerando-se a saliva como o principal veículo de transmissibilidade, Caufield, Cutter e Dasanayake (1993) encontraram uma associação significativa entre os níveis salivares de *EGM* maternos e o risco de infecção do bebê. Assim, justifica-se avaliar a atividade de cárie materna antes que o bebê nasça com a finalidade de reduzir os riscos de infecção na criança após o seu nascimento (PINHEIRO, 1994). Essa transmissão precoce, antes dos dentes, pode está relacionada a alguns fatores como: elevado nível salivar de *EGM* na mãe, intensidade do contato salivar materno associado a métodos de alimentação do bebê e da mãe, saúde bucal, bem como níveis educacionais e socioeconômicos maternos (WANDERLEY *et al.*, 1999; NAPIMOGA *et al.*, 2005). Estudando os níveis de *EGM* na saliva materna e a primeira infecção bucal do bebê, Berkowitz *et al.* (1981), observaram que a frequência de crianças infectadas foi aproximadamente 9 vezes maior quando os níveis dos microrganismos da saliva materna excediam dez unidades formadoras de colônias por mL. Portanto, o bebê de uma mãe com elevado nível *EGM* salivar apresenta maior risco de se

infectar precocemente (KOHLENER; BRATTHALL; KRASSE, 1983; BOTTENBERG *et al.*, 2004), quanto mais cedo o bebê for infectado e colonizado por *EGM*, maior será a prevalência de cárie na dentição decídua (KOHLENER; BRATTHALL, 1978; ALALUUSUA; RENKONEN, 1983; LOESCHE, 1986; CAUFIELD *et al.*, 1988; KRAMER; FELDENS 2005).

Segundo Pinheiro (1994), para prevenir a cárie dentária, faz-se necessário retardar a transmissão dos *EGM* e evitar a sua proliferação, reduzindo assim a possibilidade de contagens microbianas acima daquelas consideradas naturais na saliva. Embora se acredite que a atividade de cárie na dentição decídua seja diretamente dependente do aumento nos níveis de *EGM* e do seu estabelecimento precoce na cavidade bucal (FUJIWARA *et al.*, 1991; LI; WANG; CAUFIELD, 2000), estes patógenos podem ser detectados em altos níveis até mesmo em crianças livres de cárie (CARLSSON; OLSSON; BRATTHALL, 1985; MATTOS-GRANER *et al.*, 2001b; NAKAS; ZUKANOVIC, 2007), estudando *EGM* em saliva de crianças e adolescentes (12 – 18 anos de idade), concluíram que os adolescentes apresentavam os maiores níveis de *EGM* quando comparados às crianças mais jovens e que este aumento foi maior em seu país (Bósnia e Herzegovina) que em outros países onde estudos semelhantes foram realizados (Bangkok, Cambódia, Pakistan, China e Sweden). Santos *et al.*, (2002) estudaram a placa dentária de crianças entre 18 e 48 meses sem cárie, com cárie de fissura e cárie de mamadeira, e encontraram uma concentração mais alta de *EGM* nas crianças que apresentavam cárie. O mesmo estudo também mostrou que crianças com cárie de mamadeira estavam mais expostas aos açúcares, aumentando assim os níveis de *EGM* em suas placas. Este resultado colabora com o conceito de que uma dieta rica em açúcar muda a composição bioquímica e microbiológica da placa dentária, o que pode explicando em parte os diferentes padrões de cárie observados na dentição decídua.

Considerando que a microbiota bucal é um dos fatores essenciais na etiologia da cárie (KEYES, 1969), um bom método para se prever o risco de cárie seria o uso dos testes microbiológicos (CARVALHO; BEZERRA, 2003). Uma avaliação quantitativa e qualitativa da microbiota oral, associando-a ao pH e volume de fluxo salivar é capaz de determinar o risco à cárie dentária (HARDLEY, 2000).

#### 2.2.2.2 Dieta

A sacarose é o alimento cariogênico mais importante e mais amplamente utilizado pelo homem. Tem o poder de transformar alimentos não-cariogênicos e anti-cariogênicos em

cariogênicos (CAUFIELD; GRIFFEN, 2000; SCHAFER; ADAIR, 2000; CURY, *et al.*, 2001). Outros açúcares envolvidos na cariogênese são a glicose e a frutose, encontrados no mel e nas frutas (CURY, *et al.*, 2001; BERKOWITZ, 2003). Uma simples exposição aos alimentos cariogênicos não é fator de risco para cárie, e sim o freqüente e prolongado contato desses substratos com os dentes (CURY, *et al.*, 2001). No desenvolvimento da cárie, o mais importante não é a quantidade de açúcares ingeridos, mas sim a consistência dos açúcares e a freqüência do seu consumo (HOLT; JOELS; WINTER, 1992). Nas crianças de 0 a 36 meses de idade, essa relação com os açúcares da dieta vem sendo especialmente investigada frente ao desenvolvimento da cárie precoce da infância (GOMES; SOUSA; MODESTO, 1996).

Van Houte, Gibbs e Butera (1982) em um estudo observaram que embora o alto consumo de sacarose possa promover intensa infecção por *EGM* e quadros severos de cárie, foi verificado que um grupo pequeno de indivíduos, altamente expostos à sacarose, não desenvolveram esta doença. Outros estudos (MATTOS-GRANER *et al.*, 2001a; KLEIN *et al.*, 2004) pesquisaram crianças com dieta rica em sacarose. Estes pesquisadores observaram colonização precoce por *EGM* onde altos níveis de infecção estiveram associados à alta incidência de cárie em um ano, mas uns pequenos subgrupos de crianças altamente infectadas em idade precoce não desenvolveram a doença. Smith *et al.* (1998), observaram grandes oscilações nos níveis bucais de *EGM* após os 30 meses de idade, em outras populações de baixo risco de cárie. As variações nas condições imunológicas e na virulência de genótipos de *EGM* podem contribuir para estas observações (MATTOS-GRANER *et al.*, 2001).

Uma alimentação cariogênica estabelecida no primeiro ano de vida tende a se manter durante toda a infância (KING, 1978; WENDT *et al.*, 1996; WEINSTEIN *et al.*, 1996), pois é essa a época em que os hábitos relacionados à saúde bucal são formados e firmados. Pois sabe-se que a dieta desempenha um papel fundamental no desenvolvimento da cárie dental em todos os grupos etários, entretanto essa relação assume uma posição ainda mais relevante quando analisada em relação à criança.

### 2.2.3 Fatores de Risco

A Academia Americana de Odontologia Pediátrica (AAPD) recomenda o primeiro exame dentário na época da erupção do primeiro dente para avaliação do risco de cárie. Os principais fatores de risco seriam: contaminação precoce por *EGM*; aleitamento noturno sem

higiene; consumo de açúcares em alta frequência; ausência de flúor na água de abastecimento; ausência de hábitos de limpeza e/ou escovação (DI REIS; MOREIRA, 1995; WALTER; FERELLE; ISSÃO, 1996).

Os estudos feitos por Barbosa e Medeiros (2000), concluíram que o índice de cárie dentária aumentava paralelamente com a concentração na saliva de microorganismos cariogênicos, e que a sua contagem seria importante para o diagnóstico de risco desta doença. Outros fatores de risco incluem: esmalte pós-eruptivo ainda imaturo; presença de defeitos no esmalte, caracterizados especialmente pela hipoplasia (SEOW, 1998; SCHAFER; ADAIR, 2000; HARRIS *et al.*, 2004), morfologia, características genéticas do próprio dente (tamanho, superfície, profundidade de fossas e fissuras) e apinhamento dentário.

A composição e o fluxo da saliva, higiene bucal e exposição ao flúor participam também da regulação da progressão da doença, tanto diminuindo, como aumentando a resistência dos dentes à cárie, controlando não só a quantidade como o tipo de microbiota relacionados com a instalação da doença e com a cariogenicidade do substrato (ARAÚJO, 1994). Estudos na área da imunologia progrediram nas últimas décadas, desenvolvendo-se importantes conceitos, principalmente no que diz respeito à ação dos sistemas de defesa orais. Entretanto, o aumento do potencial cariogênico da dieta da população moderna associada à vigilância que o sistema imune desenvolve, sob condições naturais, não parece ser suficiente para conferir proteção à doença cárie (FERNANDES *et al.*, 1995). O sistema de defesa da mucosa desenvolve-se para promover o equilíbrio da microbiota oral, limitando a colonização bacteriana e prevenindo as suas ações destrutivas, bem como, a ação de suas substâncias nocivas (ácidos) sobre as estruturas bucais, principalmente os dentes (AKIYOSHI *et al.*, 1998).

Entre os fatores relacionados com o hospedeiro, torna-se importante ressaltar os vários mecanismos antimicrobianos inespecíficos presentes na saliva, e os anticorpos IgA. A imunidade à cárie pode estar relacionada a anticorpos IgA que funcionam como primeira linha de defesa contra diferentes agentes infecciosos específicos secretados na saliva, embora os dados existentes na literatura sejam muito contraditórios. Arnold *et al.* (1977), verificaram que indivíduos deficientes em IgA têm uma experiência mais alta de cárie que controles normais ou pacientes com deficiência seletiva de IgA, mas com aumento compensatório de IgM anti-*S. mutans*. Para Gregory *et al.* (1990), a resistência à cárie pode ser devida à atividade neutralizante de anticorpos, capazes de inibir o crescimento de streptococcus, produção de ácidos e atividade das enzimas glicosiltransferase e fosfoglicosiltransferase.

#### 2.2.4 Características Clínicas

A primeira visão clínica da cárie dentária é a lesão de mancha branca. Apesar de ser considerada uma lesão incipiente pela maioria dos clínicos, ela apresenta-se como um estágio relativamente tardio do processo cariioso em que já houve perda de mineral da superfície do esmalte. Sendo assim a mancha branca ativa torna-se um sinal precoce da doença cárie e, quando não tratada, pode evoluir para lesões cavitadas num período de seis meses a um ano (BARROS *et al.*, 2001). O desenvolvimento desta doença segue um padrão muito característico que permite retirar algumas conclusões a respeito de seus fatores etiológicos. Os primeiros dentes afetados são os incisivos superiores decíduos, logo após a sua erupção, que ocorre geralmente entre os 12 e os 24 meses (TINANOFF; O’SULLIVAN, 1997).

Durante a sua evolução, freqüentemente são envolvidas superfícies dentárias geralmente pouco afetadas por lesões de cárie, como as superfícies vestibulares e linguais dos dentes antero-superiores (COSME; MARQUES, 2005). Os molares decíduos e caninos são afetados imediatamente após a erupção, ou logo a seguir aos incisivos. Se a patologia evoluir sem tratamento, todos os dentes decíduos serão afetados antes dos 4 anos de idade (DAVIES, 1998). A progressão da doença segue praticamente a seqüência de erupção dos dentes decíduos, sendo que os incisivos inferiores constituem uma exceção, uma vez que são geralmente os primeiros dentes a erupcionarem e os últimos a serem afetados pela cárie (TINANOFF; O’SULLIVAN, 1997). Uma das explicações para este fenômeno se dá através do hábito de sucção, onde o mamilo ou a chupeta, uma vez na boca, são empurrados pela língua, que protege os dentes do contacto com substâncias cariogênicas, evitando ou atrasando o seu envolvimento com a cárie. O fato de nesta região se encontrar a saída de algumas das principais glândulas salivares também contribui para esta ocorrência (HOROWITZ, 1998).

#### 2.2.5 Cárie Precoce de Infância (CPI)

O nome Cárie Precoce da Infância (CPI) corresponde a uma tradução do inglês “*Early Childhood Caries*” que foi a denominação proposta durante a *Early Childhood Caries Conference* em 1997, (TINANOFF, 1998). A AAPD considera cárie do lactente e do pré-escolar (CLPE) como a presença de qualquer superfície de dente decíduo cariado (cavitado ou não), perdida (devido à cárie) ou obturada em crianças menores de 6 anos de

idade. Com este conceito, adotou-se a expressão cárie severa do lactente e do pré-escolar (CSLPE), substituindo à cárie rampante quando existe a presença de pelo menos um destes critérios: a) qualquer sinal de cárie em superfície lisa em crianças menores de 3 anos de idade; b) qualquer superfície lisa de dente decíduo ântero-superior cariada ou perdida (devido à cárie) ou obturada, em crianças dos 3 aos 5 anos; c) índice de superfície cariada, perdida ou obturada (ceo-s) igual ou superior a 4 aos 3 anos, a 5 aos 4 anos e a 6 aos 5 anos AAPD (AMERICAN ACADEMY OF PEDIATRIC DENTISTRY, 2007). Vale ressaltar que a Organização Mundial de Saúde (OMS) não considera a presença de lesões não-cavidades na composição do índice ceo-s (WHO, 1997).

A cárie dental precoce é um problema grave de saúde pública tanto de países industrializados como daqueles em desenvolvimento (DAVIES, 1998), pois a progressão da doença pode mutilar a dentição de bebês e crianças de pequena idade, resultando em sofrimento e comprometendo a sua futura dentição (WEINSTEIN *et al.*, 1996). É ainda uma situação bastante difícil de tratar, sendo também capaz de retardar toda a evolução infantil, o desenvolvimento e a fala da criança (WYNE *et al.*, 1995).

A amamentação materna é uma prática saudável para o bebê, pois o leite materno é considerado um alimento completo porque reforça o sistema imunológico, protegendo a criança contra possíveis fontes de infecção. Quando necessário, funciona também como um hidratante natural fornecendo os nutrientes para proteção das enfermidades PRB, (1999). Entretanto, se sabe através de estudos científicos que envolvem a amamentação noturna que a amamentação materna é o fator principal no desenvolvimento de cárie de mamadeira, Kroll e Stone (1967) em suas pesquisas comprovaram essa estreita relação. Estudos que investigam padrões de cárie precoce e amamentação noturna sugerem que o leite permanece estagnado sobre e ao redor do dente, quando a criança dorme. Nesse período ocorre a diminuição do reflexo de deglutição e o declínio da secreção salivar, aumentando a formação da placa, conduzindo a uma grande redução do seu “*pH*”, tornando-se um fator causal à sua evolução (ABBEY, 1979; WALTER *et al.*, 1987; RIPPA, 1988).

Alguns pesquisadores (ROBERTS, 1982; DEGANNO; DEGANNO, 1993) acreditam que a denominação “cárie de mamadeira” deva ser mudada pela expressão mais abrangente como “cárie devido a hábitos de amamentação prolongados” desde que o leite humano seja reconhecido como outro agente causador para esse tipo de cárie. Estudos prévios advertiram que o hábito da amamentação se tornaria uma contribuição significativa para o desenvolvimento da cárie se utilizado como método para confortar a criança (MILLER; TRUHE, 1995). Segundo Bowen (1998) a mamadeira pode bloquear totalmente o acesso da

saliva às superfícies dentais, principalmente da arcada superior, o que aumentaria a cariogenicidade do alimento ingerido, devido ao seu maior tempo de permanência na boca. A cárie de mamadeira está associada ao uso incontrolado e irrestrito (principalmente noturno) do aleitamento materno e artificial, como também do uso de chupeta (WEERHEIJM *et al.*, 1998). Portanto o aleitamento materno, especialmente à noite e por longo período de tempo, provoca cárie (THEILADE; BIRKHED, 1988; NOWAK; CRALL, 1994; DAVIES, 1998; MCDONALD; AVERY; STOOKEY, 2001) tornando o leite materno assunto de significativa importância, por ser este, juntamente com seus substitutos lácteos, a principal fonte nutritiva nos primeiros anos de vida da criança. Um potencial cariogênico maior do que o do leite bovino foi identificado no leite materno, por possuir o mesmo, uma maior concentração de lactose, que o apontou como uma das possíveis causas para o desenvolvimento da cárie em crianças (ROBERTS, 1982; WEERHEIJM *et al.*, 1998; SLAVKIN, 1999). Essas conclusões têm sido questionadas gerando assim divergências de opiniões sobre o papel do leite humano na formação da cárie. Estudos sugerem que alimentação por mamadeira ou amamentação não leva a uma prevalência maior de cárie, a menos que esteja disponível outra fonte de carboidratos para a fermentação bacteriana (THIBODEAU; O'SULLIVAN, 1999; LIENEA-PUY; MONTANANA-LIORENS; FORNER-NAVARRO, 2000.). De fato Olmez, Uzamis e Erdem (2003), concluíram estudos em crianças que viviam na zona rural da Turquia e de forma semelhante, também sugerem que ao avaliar hábitos de amamentação prolongada com mamadeira ou peito como fatores contribuintes para CPI, outros fatores como a ingestão de alimentos cariogênicos e hábitos de higiene oral também devem ser considerados.

Vachirarojpisan *et al.* (2004), investigando a relação entre fatores sócio-econômicos, comportamento e a gravidade de CPI em crianças tailandesas de 6 a 19 meses verificaram uma alta prevalência de CPI, com 82.2% das crianças de 15 a 19 meses manifestando a doença, mostrando assim uma elevada prevalência de cárie dentária infantil nesta população. Oliveira, Sheiham e Bonecker (2008) também investigaram a relação entre fatores socioeconômicos e prevalência de cárie em 1.018 crianças de 12 a 59 meses de idade e encontraram que 23.4 % das crianças do estudo apresentavam CPI. O estudo também mostrou que o grupo de crianças de 48-59 meses de idade teve uma prevalência de cáries mais alta quando comparada com os outros grupos estudados. Milgrom *et al.* (2000) estudando prevalência de cárie e infecção bacteriana em crianças com idade de 6 a 36 meses confirmaram que a colonização das crianças por espécies cariogênicas é influenciada pelo comportamento dietético. Drury *et al.* (1999), disseram ser uma lesão precoce de cárie em



uma criança de 1 ano de idade mais grave do que uma lesão única encontrada em uma criança de 5 anos de idade. Portanto, os índices ceo-d e ceo-s não discriminam a severidade da doença, especialmente em crianças que não têm todos os dentes irrompidos.

### 2.3 Saliva

A saliva é composta por um líquido transparente e insípido secretado pelas glândulas salivares maiores e menores, compostos quimicamente por 99,5% de água, ptialina, mucina, nitrogênio, enxofre, sódio, cloro, cálcio, magnésio, ácido úrico e ácido cítrico, além do ar que proporciona o aspecto espumoso (SILVA, 1996). Apesar de ser um fluido totalmente ignorado pelos fisiologistas, e pouco relevado pelos dentistas regula, monitora e mantém a integridade dos tecidos duros e de alguns tecidos moles da cavidade bucal, sendo assim fundamental na homeostase desse ambiente (SREENBY, 2000). Segundo Gindzienski *et al.*, (2003) esta secreção desempenha um papel importante na manutenção da saúde bucal, e nas alterações que afetam as funções salivares que podem comprometer a integridade dos tecidos moles e duros da boca e mucosas gastrintestinais, facilitando a fala, mastigação e deglutição. Participa no controle da quantidade de água do organismo, pois quando o corpo está com deficiência de água, a boca fica seca, manifestando a sede (IVNITSKI; SITDYKOV; IVNITSKI, 2004). A cavidade bucal é constantemente banhada pela saliva, que mantém a temperatura entre 35-36 °C e um pH entre 6,75 e 7,25, o que promove excelentes condições para o crescimento de muitas bactérias (EDGAR; O'MULLANE, 1990). Por umedecer os tecidos moles e duros da cavidade bucal, tem função de destaque no controle da quantidade de água do organismo, variando sua produção diária de 0,5 a 1,0 litro.

A constituição salivar varia de indivíduo para indivíduo, mas divide-se basicamente em componentes orgânicos e inorgânicos, destacando-se dentre os compostos orgânicos as glicoproteínas. Com relação aos inorgânicos, os principais constituintes salivares são os íons cálcio, fosfato e fluoreto. A concentração de cálcio na saliva depende do fluxo salivar. A saliva “estimulada” apresenta baixa concentração de cálcio sendo que esta concentração não é afetada pela dieta alimentar. De acordo com o pH da saliva, o cálcio é distribuído como cálcio ionizado e cálcio ligado. O cálcio ionizado (livre) é o que está diretamente relacionado aos índices de cáries O íon fosfato, assim como o cálcio, proporciona estabilidade ao íon hidroxiapatita existente no esmalte, evitando o processo de desmineralização. Sendo que a concentração de íon fosfato também diminui na saliva estimulada. O fluoreto existente na saliva, obtido através da água potável, dentifrício e outros produtos utilizados na profilaxia

oral, atua no processo de mineralização do esmalte, mantendo a estrutura dentária, atuando como fonte de liberação de flúor na placa (CURY *et al.*, 2001; THYLSTRUP; FEJERSKOV, 2001).

A composição da saliva varia em função da velocidade do fluxo salivar, e está intimamente relacionado ao tipo, intensidade e duração do estímulo utilizado na obtenção da amostra. Há também variações significativas na composição salivar em diferentes indivíduos, e no mesmo indivíduo sob diferentes circunstâncias (JENKINS, 1972). No entanto, a velocidade do fluxo salivar é considerada o principal fator que afeta sua composição (TENOVUO; LAGERLÖF, 1995).

Cury (1989, 2001) observou que um dente, quando irrompe na cavidade bucal, fica sujeito às alterações do meio ambiente, e a saliva, por apresentar cálcio e fosfato, protege naturalmente a estrutura dentária. Porém, essa propriedade biológica da saliva é pH dependente, e fica limitada às variações do pH do meio, seja pelos produtos da dieta, ou transformação de açúcar em ácido pela placa. Assim, o conceito de pH crítico, que é de 5,5, define o limite da capacidade da saliva em proteger a estrutura mineral dos dentes. Além do fluxo salivar há vários outros fatores de desequilíbrio na saliva que podem ser avaliados, como a capacidade tampão. O fluxo salivar representa a quantidade de saliva secretada em determinado tempo, e quanto mais saliva, maior é a proteção contra a cárie, já a capacidade tampão da saliva é a capacidade de modificar o pH ácido do meio para um pH neutro (LENANDER-LUMIKARI; LOIMARANTA, 2000). Quando o meio bucal permanece por tempo prolongado com um pH ácido, ocorre a desmineralização do esmalte, aumentando assim o risco do dente ao ataque da cárie (GENESTRA; SOUZA, 2001). Se o pH se mantiver acima de 5,5 por um período de tempo significativo, a remineralização do esmalte poderá reverter o dano inicial, mas a uma velocidade muito inferior àquela da desmineralização (MOBLEY, 2003).

Thylstrup e Fejerskov (2001), afirmaram que a saliva possui substâncias capazes de aumentar o pH como a sialina, um tetrapeptídeo produzido pela parótida que é mais conhecido como “fator de aumento do pH”. Esses fatores estimulam a produção de bases através de bactérias orais, levando ao rápido aumento de pH. Outro fator importante é a capacidade tampão da saliva, isto é, sua resistência às variações de pH, que se dão principalmente por meio do sistema ácido carbônico/bicarbonato. No entanto, esse sistema tampão ainda é questionável quanto a sua relação com as lesões cariosas, pois na placa bacteriana e abaixo da superfície do esmalte, essas substâncias podem não atuar de maneira significativa nas mudanças de pH. Além da capacidade tampão da saliva, através da qual é

realizada a proteção da cavidade oral contra as variações de pH, os referidos autores citaram também, que a saliva possui múltiplas funções, como por exemplo: efeito de lavagem, solubilização de substâncias que dão sabor aos alimentos, formação do bolo alimentar, limpeza de alimento e de bactérias, diluição de detritos, lubrificação dos tecidos moles orais, e facilitação da mastigação, deglutição e fonação. Quanto aos componentes específicos podemos citar: proteção do dente pela neutralização de ácidos através de sua capacidade-tampão, manutenção de concentrações supersaturadas de cálcio e fosfato em relação a hidroxiapatita, e participação na formação da película adquirida do esmalte. Além disso, componentes salivares participam no revestimento da mucosa oral e na defesa antimicrobiana, bem como em funções digestivas, onde a ação de enzimas (amilase salivar) dá início à digestão dos alimentos. Lagerlof e Oliveby (1994) descreveram os fatores protetores da saliva contra a cárie, enfatizando a importância do fluxo salivar na diluição e eliminação do açúcar na cavidade bucal, sendo que, quanto maior o fluxo salivar mais rápida essa eliminação. Quando um indivíduo apresenta uma redução do fluxo salivar, há um aumento na prevalência de cárie quando comparados àqueles com fluxo salivar normal.

A saliva é um fluido essencial para o controle da cárie agindo no processo de des e remineralização promovendo a limpeza da superfície dentária, com ação antibacteriana, ainda mantendo uma supersaturação com relação aos minerais do esmalte. Apresenta em sua composição, agentes de defesa como as proteínas específicas que produzem uma camada de proteção sobre a superfície de esmalte que atua como barreira prevenindo a livre difusão dos ácidos através dela (DOWD, 1999).

Johanson *et al.* (1992), verificaram, em estudos realizados com crianças indianas que a desnutrição pode afetar as glândulas salivares, reduzindo o seu fluxo e alterando a composição da saliva. De acordo com Johanson, Lenander-Lumikari e Saellstrom (1994), a saliva tem um papel importante na proteção dos dentes à cárie dentária, pois provavelmente o aumento da susceptibilidade à cárie dentária em indivíduos desnutridos seja proveniente das alterações na velocidade na secreção salivar e nos componentes salivares, pois a redução do fluxo salivar aumenta não só a susceptibilidade à cárie dentária, como também a possibilidade de erosão dental. As principais funções protetoras da saliva contra as cáries dentárias são: o efeito tampão da saliva que previne a redução intra-oral do pH após a ingestão de açúcar (sacarose); a saliva aumenta o nível de remoção de microorganismos cariogênicos da boca, não só pelo seu efeito de fluxo, mas também pela sua capacidade de aglutinar bactérias (FAGUNDES; LEITE, 2000). Um abundante fluxo de saliva combate eficazmente microrganismo da cavidade bucal e um fluxo reduzido contribui para uma

proliferação de bactéria, causando assim uma inflamação gengival (ATKINSON; BAUM, 2001; TENOVUO, 2002).

A saliva controla o metabolismo, a aderência e o crescimento de microorganismos patogênicos, aumenta a remoção dos resíduos dos carboidratos, promove a remineralização do dente e neutraliza ácidos orgânicos produzidos por microorganismos acidogênicos que levam à desmineralização do dente. O índice de cárie dentária aumenta paralelamente com a concentração na saliva de microorganismos cariogênicos, sendo a sua contagem importante para o diagnóstico de risco desta doença (BARBOSA; MEDEIROS, 2000; FARIAS; BEZERRA, 2003). Segundo Ericsson *et al.* (1980) ela atua no processo cariioso de diferentes maneiras: diretamente através das trocas iônicas com as estruturas dentárias; neutralizando os ácidos através de sua capacidade tampão; realizando limpeza mecânica através do fluxo salivar e influenciando o equilíbrio ecológico das bactérias bucais. Outra característica da saliva é a prevenção de infecções, já que ela apresenta vários componentes, como enzimas e anticorpos que possuem ação contra bactérias, vírus e fungos. Um estudo feito por (ALAMOUDI *et al.*, 2004) demonstrou que não há diferença entre a contagem de *S. mutans* da saliva estimulada e não estimulada.

As patologias da cavidade bucal ocorrem com a presença da saliva e são conseqüentemente influenciados por ela. A deficiência salivar extrema resulta em aumento da atividade cariogênica (FOX *et al.*, 1985). A saliva contém sistemas com capacidade de tamponamento, que neutralizam os ácidos formados durante o metabolismo de carboidratos pelas bactérias, minerais para remineralização do esmalte, anticorpo, especialmente a IgA importante no sistema de defesa (ALMSTAHL; WIKSTROM, 1999; GIBSON, 1998). A saliva apresenta um sistema de tamponamento que possibilita uma rápida neutralização de ácidos (LEONE; OPPNHEIM, 2001) e também contém diversas proteínas com ação antimicrobiana, como lisozima, lactoperoxidase, imunoglobulinas, aglutininas, mucinas e a lactoferrina, (VAN NIEUW AMERONGEN; VEERMAN, 2002; VAN NIEUW AMERONGEN *et al.*, 2004). A lactoferrina (LF) possui efeito bactericida contra vários microrganismos, inclusive o *Streptococcus mutans* (OHO; MITOMA; KOGA, 2002; FRANCESCA *et al.*, 2004), o que pode fornecer subsídios para a importância dessa proteína na etiopatogênese da cárie dentária. A saliva também contém fatores de defesa, que são capazes de inibir o crescimento e/ou o metabolismo bacteriano, por meio de diferentes mecanismos, como a inibição da aderência bacteriana e da produção de ácidos por estreptococos bucais (VAN NIEUW AMERONGEN *et al.*, 2004). As mucinas salivares, secretadas pelas glândulas submandibulares, sublinguais e acessórias, são componentes da

saliva total que tem a função de proteger a superfície das mucosas do ressecamento, das injúrias mecânicas e da invasão de microorganismos (BAUGHAN *et al.*, 2000; LIU *et al.*, 2002).

Durante muito tempo a saliva tem sido usada como meio de monitorar o risco de cárie sendo utilizada para medir a capacidade tampão e avaliação microbiológica de microorganismos. Hoje, a saliva é objeto de estudos mais detalhados para o diagnóstico de doenças sistêmicas que afetam a função das glândulas salivares e a composição da saliva, como por exemplo, na síndrome de Sjögren, fibrose cística, sarcoidose, diabete mellitos e doenças do córtex adrenal (REILLY *et al.*, 1997). Um grande número de pesquisas também tem demonstrado o potencial da saliva como de grande utilidade nos exames para diagnóstico de doenças sistêmicas ou localizadas na boca, devido à facilidade na coleta quando comparada ao sangue, despertando especial interesse nos pesquisadores (MOURA, 2004).

Estudos demonstram que o polimorfismo genético na saliva, fatores variáveis como a nutrição, bem como características fisiológicas específicas, podem promover modificações no conteúdo e na função salivar (AZEN, 1993; AGUIRRE *et al.*, 1993). Existem diferenças significantes do fluxo e concentração protéica salivar com relação ao sexo, nutrição e idade dos indivíduos ou mesmo na maneira de obtenção da amostra da saliva (mediante estímulo ou não) (BANDERAS-TARABAY *et al.*, 1997, AMERONGEN; BOLSCHER; VEERMAN, 2004).

Agarwal, Agarwal e Agarwal (1984), estudaram a concentração protéica e atividade da enzima arginase no soro e na saliva de 94 crianças, das quais 52 estavam sofrendo de má nutrição protéica (DEP), e 42 serviram como controle. Os autores observaram que houve uma diminuição progressiva na atividade da arginase no soro, na saliva, e nos níveis de proteínas e ferritina das crianças que apresentavam DEP severa. As mudanças na proteína salivar, atividade da arginase, e ferritina na DEP podem ser usadas no reconhecimento da severidade, como também em um indicativo de estágio inicial da doença, podendo ser utilizado como meio de diagnóstico da desnutrição.

Quanto à coleta da saliva, esta pode ser feita de forma estimulada ou não estimulada. A estimulação da saliva pode ser feita de forma mecânica (goma de mascar, látex, parafina) ou química (ácidocítrico). A estimulação afeta a quantidade da saliva produzida, portanto, alguns de seus constituintes também são alterados (MANDEL, 1990). A coleta não estimulada é feita sem estímulos exógenos e o fluxo salivar pode ser alterado por estímulos olfatórios, ciclo circadiano, exposição à luminosidade, posição do corpo (KAUFMAN;

LAMSTER, 2000). Assim, a saliva desempenha um papel muito importante na saúde oral, e qualquer alteração que venha afetar as funções salivares pode comprometer os tecidos moles e duros da cavidade bucal (THYLSTRUP; FEJERSKOV, 2001).

## 2.4 Aminoácidos

Métodos de detecção de aminoácidos vêm sendo usados, há muito tempo, em pesquisas bioquímicas e, mais recentemente na área de ciência de alimentos no intuito de melhor se conhecer a composição das proteínas. Sabendo-se que os aminoácidos são unidades estruturais das proteínas, a quantificação e a qualificação das mesmas são de grande importância. Kipp *et al.* (1996) definiram o aminoácido como sendo uma pequena molécula que atua como um bloco construtor de qualquer célula. Enquanto os carboidratos fornecem energia para as células, os aminoácidos fornecem o material "construtor" de que as células necessitam para crescer e manter suas estruturas. A terminologia aminoácidos é usada porque essas moléculas contêm um grupamento amina ( $\text{NH}_2$ ) e um grupo de ácido carboxílico ( $\text{COOH}$ ). Eles diferem entre si devido à cadeia lateral que possuem, pois as demais estruturas são as mesmas para aminoácidos como um todo. A cadeia lateral confere ao aminoácido característica hidrofóbica, como é o caso da tirosina e do triptofano, ou hidrofílica, como é o caso da arginina e da lisina (NELSON; COX, 2002).

O ser humano apresenta dois tipos diferentes de aminoácidos: 9 essenciais e 11 não-essenciais. Os aminoácidos não-essenciais são aqueles que o nosso corpo pode produzir a partir de outros produtos químicos encontrados em nosso organismo. Já os aminoácidos essenciais não podem ser produzidos, sendo a dieta sua única fonte. A carência destas estruturas ocasiona alterações nos processos bioquímicos, fisiológicos e de síntese protéica, provocando em crianças diminuição do crescimento e profundas alterações bioquímicas. A ausência ou a inadequada ingestão de alguns desses aminoácidos resulta em balanço nitrogenado negativo (perda de N pelo organismo), perda de peso, crescimento menor em crianças e bebês. Já os aminoácidos não essenciais são igualmente importantes na síntese protéica; no entanto se houver deficiência na ingestão de um deles, ele pode ser sintetizado em nível celular a partir de aminoácidos essenciais ou de precursores contendo carbono e nitrogênio. Os aminoácidos essenciais são: treonina, triptofano, histidina, lisina, leucina, isoleucina, metionina, valina, fenilalanina (LAJOLA; TIRAPÉGUI, 1998). Segundo Oliveira, Cunha e Marchini (1996), os aminoácidos denominados não essenciais são: glicina, prolina, tirosina, serina, ácido glutâmico, alanina, prolina, cisteína, asparagina, ácido

aspártico, e arginina. Entre aminoácidos essenciais e não-essenciais completa-se um total de vinte aminoácidos que se unem em diversas combinações para formarem as proteínas.

As moléculas de proteínas são constantemente degradadas e renovadas no organismo, repostas através da ingestão de novas proteínas pela dieta, as quais veicularão os aminoácidos essenciais e os não essenciais para essa reposição, bem como para as necessidades adicionais decorrentes do crescimento, gestação e lactação. Para que essa reposição possa ser feita, a proteína deve ter valor nutritivo adequado, ou seja, digerível; possuir uma adequada distribuição qualitativa e quantitativa de aminoácidos e ser acompanhada por ingestão suficiente de calorias (OLIVEIRA; SANTOS; WILSON, 1982). As necessidades protéicas de um indivíduo, ou seja, a quantidade de proteínas que fornece a composição quantitativa e qualitativa de aminoácidos necessária para promover um crescimento ótimo, e manter esse indivíduo em boas condições de saúde tem sido objeto de estudo.

A saliva é de grande importância para a proteção dos tecidos moles e duros da cavidade oral (DOWD, 1999). Estudo da correlação entre os aminoácidos livres na saliva e doenças da cavidade oral tem sido objeto de grande interesse (Quadro 1). A busca pela identificação de aminoácidos salivares levou ao uso de várias técnicas de análise, com o objetivo de encontrar procedimento analítico apropriado. Tendo sido descritas as seguintes técnicas: reação com niidrina (SOBEL *et al.*, 1945), calorimetria (MOORE; SPACKMAN; STEIN, 1958), método microbiológico (KIRCH *et al.*, 1947), e técnicas cromatográficas (GOLDBERG *et al.*, 1948; WOLDRING, 1955; BATTISTONE; BURNETT, 1961; POTOCZEK *et al.*, 1969; PAPANAYOTOU *et al.*, 1973; EL-SHOBAKI *et al.*, 1978; LIAPPIS; HILDENBRAND, 1982; VRANIC; GRANIC; RAJIC, 1991; VAN WUYCKHUYSE, 1995; FONTELES *et al.*; 2008, no prelo) com níveis de identificação qualitativa e quantitativamente variáveis. A introdução da cromatografia líquida de alta pressão (HPLC) e o aprimoramento da técnica, com o desenvolvimento de maior sensibilidade de detecção, utilizando equipamentos de maior eficiência e menor custo (KAN; SHIPE, 1981), foi um marco nesta área da ciência.

Conforme indicado por várias investigações, os aminoácidos livres estão presentes na saliva total humana, mas o papel e a origem desses aminoácidos salivares são variáveis, podendo ser produtos da metabolização da microbiota oral, ou mesmo de processos enzimáticos diferenciados do hospedeiro (SYRJANEN *et al.*, 1984, 1987, 1990; VRATSANOS; MANDEL, 1985, 1986). Pouco se tem estudado sobre a relação entre aminoácidos e cárie na saliva humana. O trabalho de Kirch *et al.* (1947) parece ter sido o

precursor deste estudo, uma vez que inexistiam, nesta época pesquisas retratando este assunto como mostra o quadro abaixo.

Quadro 1 - Trabalhos científicos publicados desde 1945 – 2008, com metodologias de análise quantitativa e qualitativa de aminoácidos salivares

<b>Autor/Ano</b>	<b>Método utilizado</b>	<b>Aminoácidos</b>	<b>Relação com cárie</b>	<b>Quantidade de aminoácidos</b>	<b>População</b>
KIRCH, <i>et al.</i> , (1947)	Saliva autoclavada e diluída	Trp, Arg, Val, Glu, Phe, Thr, Lys, Gly, Tyr, Pro, Leu, Ser, Ile, Cys, His, Met	Não	16	18 adultos
GOLDBERG, GILDA, TISHKOFF (1948)	Cromatografia bidimensional em papel	Glu, Asp, Gly, Ala, Met, Arg, Leu, Lys, Phe, Taur, Tyr, Val, Pro, Ala, Ser, His	Não analisada	13	Não determinada
KIRCH, <i>et al.</i> , (1950)	Hidrólise protéica da amostra	Leu, Met, His, Trp, Pro, Cys, Arg, Ser	Não analisada	4 para cada grupo com e sem cárie	7 universitários
WOLDRING (1955)	Cromatografia	Taur, Asp, Thr, Ser, Ser+Asn, Glu, Pro, Gly, Ala, Cys, Val, Mat, Ile, Leu, Tyr, Phe, B-Ala, Trp, His, Lys, Arg	Não analisada	18	5 indivíduos
BATTISTONE e BURNETT (1961)	Cromatografia bidimensional	Asp, Glu, Thr, Ser, Pro, Gly, Ala, Cys, Val, Met, Phe, Leu, Ile, Tyr, Trp, His, Lys, Arg	Não analisada	18	56 indivíduos
POTOCZE; RZADKOWSKA-KAZMIERCZAK (1969)	Cromatografia	Glu, Asp, Gln, Leu, Ile, Ala, Phe, Gly, His, Trp	Sim	10	30 indivíduos
PAPANAYOTOU; DOZIVASSILLIADES; KOVATSI (1971)	Cromatografia	Ala, Arg, Asp, Glu, Gly, Val, Met, Thr, His, Citr, Cys, Leu, Lys, Orn, Pro, Ser, Trp, Tyr, Phe, Hypro	Não	20	100 indivíduos
EL-SHOBAKI, <i>et al.</i> , (1978)	Cromatografia em papel	Leu, Phe, Lys, Val, Thr, Met, Trp, Ala, Glu, Asp, Ser+Gly, Tyr, Asn, Cys, Glu	Não analisada	16	22 crianças sadias 104 crianças desnutridas



<b>Autor/Ano (continuação)</b>	<b>Método utilizado</b>	<b>Aminoácidos</b>	<b>Relação com cárie</b>	<b>Quantidade de aminoácidos</b>	<b>População</b>
LIAPPIS; HILDENBRAND (1982)	Cromatografia	Taur, Asn, Thr, Ser, Glu, Gln, Pro, Gly, Ala, Citr, Val, Ile, Leu, Tyr, Phe, Orn, Lys, His, Ácido $\delta$ - aminovalérico, Arg, o-fosfoetanolamina, Cys, Met, Ácido $\beta$ - aminobutírico	Não	24	65 crianças
SYRJANEN; PIIRONEN; MARKKANEN (1984)	Cromatografia gasosa	Ala, Gly, Ser, Val, Leu, Nle, Pro, Hrpo, Met, Asx, Phe, Orn, Glx, Lys, Tyr	Não analisada	15	03 adultos
SYRJANEN; PIIRONEN; MARKKANEN (1987)	Cromatografia gasosa	Ala, Gly, Ser, Leu, Nle, Pro, Dava, Asx, Phe, Glx, Lys, Tyr	Não analisada	12	13 adultos
SYRJANEN <i>et al.</i> , (1990)	Cromatografia	Tau, Asp, Thr, Ser, Asn, Glu, Gln, Gly, Ala, Val, Cys, Met, Ile, Leu, Tyr, Phe, Hylys, Orn, Lys, His, Carn, Arg, Dava, Pro, Hypro, Tam	Não analisada	26	05 adultos
VRANIC; GRANIC; RAJIC (1991)	Cromatografia	Phser, Taur, Asp, Thr, Ser, Gln, Pro, Glu, Citr, Gly, Ala, Val, Ile, Leu, Tyr, The, Orn, Arg	Sim	18	82 crianças
FONTELES (2008, no prelo)	Cromatografia HPLC	Phser, Taur, Asp, Hypro, Thr, Ser, Asn, Glu, Gln, Sarc, Aaaa, Pro, Gly Ala, Citr, Aaba, Val, Cys, Met, Cysth_d, Cysth_1, Ile, Leu, Norleu, Tyr, $\beta$ _Ala, Phe, Aaiba, Homocys, Gaba, Ethamin, Hylys, Orn, Lys, Mhis 1, His, Mhis 3, Ans, car, Arg	Sim	40	78 crianças sadias

Antener *et al.* (1981), determinaram os aminoácidos no plasma de 22 mães jovens e de 33 crianças com DEP. Antes do tratamento dietético, não foi encontrada nenhuma diferença significativa nos aminoácidos da população estudada, exceto para alanina. Uma característica marcante dos achados no plasma foi o desequilíbrio entre aminoácidos essenciais e não-essenciais. Com exceção da lisina, os aminoácidos essenciais estavam bem abaixo do normal. Foram valores de importância os baixos níveis de treonina em todos os indivíduos, incluindo o controle, e níveis extremamente baixos de triptofano em crianças desnutridas antes do tratamento.

Liappis e Hildebrand (1982) pesquisaram os aminoácidos livres na saliva total de 65 crianças saudáveis com cárie e sem cárie, e quantificaram 24 aminoácidos, mais não encontraram nenhuma relação entre esses aminoácidos e a doença cárie.

Vranić, Granić e Rajić (1987) estudaram o conteúdo qualitativo dos aminoácidos livres na saliva de crianças com cárie e na saliva de crianças com fenilcetanúria, foi observada, uma baixa incidência de cárie, tendo mostrado diferenças significativas no padrão de aminoácidos livres. Desta forma, Vranić, Granić e Rajić (1991) conduziram outro estudo sobre condições padronizadas na identificação e qualificação dos aminoácidos livres em saliva de crianças com e sem cárie. Foram estudadas 43 crianças com cáries, com idade entre 12-15 anos, usando o método da cromatografia de troca iônica. Os resultados foram comparados com aqueles obtido no grupo controle de 39 crianças sem cárie. Na saliva das crianças com cáries, um nível inferior significativo de arginina (22,02  $\mu\text{mol/L}$ ) e uma completa ausência de histidina e seus derivados foram observados quando comparado ao grupo controle, onde as concentrações de arginina e 1-metahistidina foram de 28,34  $\mu\text{mol/L}$  e 26,34  $\mu\text{mol/L}$ , respectivamente. Os resultados obtidos sugeriram que uma concentração inferior de arginina e a ausência de histidina e seus derivados poderiam implicar em um aumento do risco à cárie.

A análise do conteúdo de aminoácidos livres na saliva colhida da glândula parótida confirmou esta tendência (VAN WUYCKHUYSEL *et al.*, 1995). De acordo com os autores, uma explicação para a elevação nos níveis de arginina e lisina relacionar-se-ia a diferenças no estado metabólico do biofilme da população livre de cárie. Fonteles *et al.* (2008, no prelo) desenvolveram um estudo para identificação de aminoácidos livres na saliva de crianças sadias sem e com CPI, tendo correlacionado esses dados com níveis de *Streptococcus mutans* e experiência de cárie, por meio dos índices ceo-s. Os autores mediram níveis de *S. mutans* salivar com o intuito de avaliar risco de cárie. Um maior risco

de experiência de cárie foi verificado na presença de prolina, enquanto a presença de glicina livre associou-se a um menor risco de ter a experiência da doença.

### **3 OBJETIVOS**

#### **3.1 Objetivo Geral**

Estudar o perfil de aminoácidos salivares em crianças saudáveis e com desnutrição leve e moderada, livres e portadoras de cárie da primeira infância.

#### **3.2 Objetivos Específicos**

- Determinar o perfil de aminoácidos livres de saliva total humana (STH);
- Avaliar experiência de cárie dentária;
- Determinar os níveis de Estreptococos do grupo mutans (EGM) presentes em saliva total humana (STH);
- Correlacionar a composição de aminoácidos salivares dos três grupos estudados à experiência de cárie e níveis de *S. mutans* no fluido salivar.

## **4 MATERIAIS E MÉTODOS**

### **4.1 Procedimentos Metodológicos**

#### 4.1.1 Área de Estudo

Foi realizado um estudo transversal no Instituto de Prevenção à Desnutrição e Excepcionalidade (IPREDE), instituição filantrópica que promove assistência às crianças desnutridas, centro de referência no tratamento da desnutrição no Município de Fortaleza e na Clínica de Odontopediatria da Faculdade de Farmácia e Odontologia e Enfermagem (FFOE) da Universidade Federal do Ceará. Período de realização: janeiro a dezembro de 2007.

#### 4.1.2 Procedimentos Preliminares

Inicialmente foi feito contato com os órgãos envolvidos na pesquisa (IPREDE e UFC) a fim de verificar a viabilidade da realização do estudo. De posse de todas as autorizações, instrumentos e materiais necessários e com a metodologia definida, a pesquisa de campo teve seu início. Toda a coleta dos dados foi realizada pela principal investigadora do estudo, tendo os trabalhos executados no turno matutino nos consultórios odontológicos instalados nas instituições.

#### 4.1.3 Da Realização do Estudo

O presente estudo foi conduzido de acordo com a determinação da resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde Pública do Ministério da Saúde em 10 de outubro de 1996, tendo sido aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará (protocolo nº 262/05) (Anexo A). Os responsáveis legais por cada criança participante do estudo assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido (Apêndice A).

#### 4.1.4 Seleção da Amostra

Foram selecionadas 75 crianças desnutridas com faixa etária de 12 a 71 meses, de ambos os sexos, livres ou portadores de cárie da primeira infância (CPI) no IPREDE. Essas crianças haviam sido classificadas por nutricionistas, segundo os padrões de crescimento da OMS 2006, em levemente ( $Z$ -score  $< -1$  to  $> -2$ ) ou moderadamente ( $Z$ -score  $< -2$  to  $> -3$ ) desnutridas; respectivamente, graus I (GI,  $n=22$ ) e II (GII,  $n=53$ ) de desnutrição. O  $Z$ -score (número de desvios padrões que uma criança se encontra da média) para medidas antropométricas foi calculado usando o programa Epi Info versão 6.0 (*Centers for Disease Control, Atlanta, USA*) através da inserção dos seguintes dados: data de nascimento, gênero, peso e altura/comprimento e 47 crianças saudáveis, na mesma faixa etária, de ambos os sexos, livres ( $n = 22$ ) e portadores de CPI ( $n = 25$ ) na Clínica de Odontopediatria da Universidade Federal do Ceará foram usadas para controle dos parâmetros analisados (GS).

#### 4.1.5 Entrada do Voluntário no Estudo

Os voluntários que se apresentaram para participar da pesquisa foram cadastrados e convidados a participar do estudo, desde que se enquadrassem nos critérios de inclusão ora descritos. Após as devidas assinaturas de termo de consentimento informado (Apêndice A) foram submetidas a uma anamnese, onde se obteve informações concernentes ao seu estado geral de saúde (Apêndice B). Subsequentemente realizou-se o exame clínico dos participantes (Apêndice C).

#### 4.1.6 Critérios de Inclusão de Participantes

Para a participação no estudo foram considerados os seguintes critérios de inclusão:

- Crianças de ambos os sexos;
- Com ausência de doenças sistêmicas (hereditárias ou congênitas) não relacionadas ao quadro de desnutrição propriamente dito;
- Sadias;
- Desnutridas (leve e moderada) segundo a OMS;
- Com idade situada na faixa de 12 a 71 meses;

- Devidamente cadastradas no IPREDE;
- Livres de cárie (ausência de lesões cáries clinicamente detectadas);
- Portadores de cárie da primeira infância (presença de lesões cáries clinicamente detectadas, cavitadas ou não-cavitadas).

#### 4.1.7 Critérios de Exclusão de Participantes

Foram excluídos do estudo voluntários que se enquadravam nos seguintes critérios:

- Crianças com doenças sistêmicas, hereditárias ou congênitas, identificadas durante o momento da anamnese;
- Crianças que tivessem tomando medicamento, além dos suplementos vitamínicos rotineiramente prescritos no tratamento da desnutrição;
- Crianças cujos pais ou responsáveis legais se recusaram a assinar o termo de consentimento livre esclarecido.

#### 4.1.8 Critérios para Retirada do Estudo

Os participantes foram retirados do estudo dentro das seguintes situações:

- Diante da intercorrência de doenças infecciosas de caráter crônico;
- Participantes, pais ou responsáveis legais, que desejaram descontinuar a participação no estudo por motivo de razões pessoais.

### **4.2 Coleta da Amostra de Saliva para Análise**

A saliva foi coletada no IPREDE no período da manhã, entre 8:00 e 11:00 horas para reduzir possíveis contribuições circadianas, com as crianças apresentando um mínimo de 1 hora de jejum. Realizaram-se 2 coletas, sendo a primeira de saliva não estimulada para análise de aminoácidos e a segunda estimulada, para análise microbiológica.

Para a coleta de saliva não estimulada a criança foi colocada no colo da mãe em repouso durante um período de 30 minutos, tendo sido a saliva coletada com uma pipeta

esterelizada do tipo pauster, redundando em um volume total de cerca de 0,1 mL de saliva, colocado em tubo tipo “Eppendorf” esterelizado e armazenado em recipiente térmico com gelo, para posterior análise de aminoácidos. Em seguida, uma segunda amostra foi coletada com estímulo, ou seja, após mascar um pedaço de Parafilm “M”® (Laboratory Film) preso a um fio dental para evitar a deglutição do material (KLOCK; KRASSE, 1979) por um período de 60 (sessenta) segundos, coletou-se através de uma pipeta 0,1mL de saliva, depositando-a de forma semelhante, em tubo tipo “Eppendorf” esterelizado e armazenada em recipiente térmico com gelo. O transporte até o laboratório de microbiologia foi feito de forma imediata.

As amostras de saliva coletada das crianças saudáveis na UFC seguiram o mesmo protocolo acima descrito.

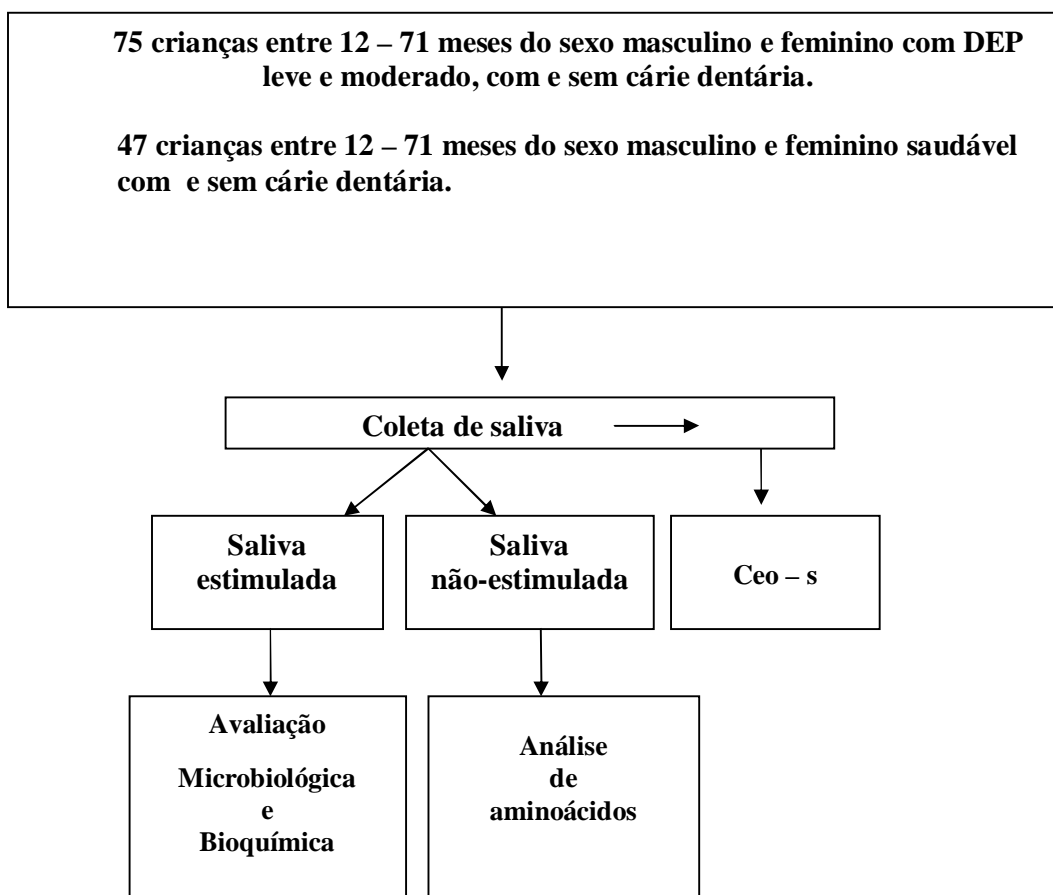
### **4.3 Exame Clínico Intra-Bucal**

Após a coleta das amostras salivares, os dentes irrompidos foram limpos com uma escova dental infantil de cerdas macias. Feita a escovação, as crianças foram levadas até a cadeira odontológica para realização dos exames clínicos intra-bucais. As superfícies dentárias foram secas com jato de ar e com o auxílio de espelho bucal plano, sonda exploradora nº 5 e luz artificial (refletor) foram registradas em fichas clínicas os números de dentes irrompidos, e feita à identificação de todas as superfícies dentárias, cariadas (cavitadas e não cavitadas), restauradas e extraídas devido à cárie. Os dentes foram registrados como irrompidos quando qualquer porção da coroa pudesse ser observada. As lesões de cárie inicial foram definidas como lesões de mancha branco-opacas (não indicativas de hipoplasias de esmalte) e registradas como MB. As lesões de cárie cavitadas (C) foram consideradas quando qualquer sinal de cavitação foi visualmente detectado. Em caso de dúvidas, a superfície dentária examinada foi considerada como hígida. Todos os exames bucais foram realizados por um único examinador.

Durante as consultas odontológicas as mães receberam orientação envolvendo os conceitos relacionados à transmissibilidade da cárie dentária e importância da manutenção da saúde bucal de hábitos saudáveis de alimentação para a criança. Instruções de higiene bucal (uso correto do fio dental e escovação) foram realizadas na frente de um espelho. Foram distribuídos aos participantes da pesquisa, kits de higiene compostos por escova de dente, creme dental e um folheto ilustrativo. Também foi oferecido tratamento odontológico conforme a necessidade de cada criança.



#### 4.4 Fluxograma



#### 4.5 Protocolo Laboratorial

##### 4.5.1 Análise Microbiológica

As amostras de saliva foram processadas no Laboratório de Microbiologia do Departamento de Patologia e Medicina Legal da Universidade Federal do Ceará.

O meio de cultura utilizado para a contagem de *Streptococcus mutans* foi o ágar mitis salivarius bacitracina (MSB) (Difco Detroit, Michigan, USA), suplementado com telurito de potássio (Vetec Química) a 1%, bacitracina (Sigma) a 1% e sacarose (Merck) a 15%. Esse meio de cultura é seletivo para *S. mutans*, pois quando usado em altas

concentrações, não é tolerado por outros estreptococos do grupo *viridans* (GOLD; JORDAN; VAN HOUTE, 1973).

#### 4.5.2 Preparo do Meio de Cultura

Para cada 100 mL de meio MSB reconstituído, foram adicionados 15g de sacarose, 9g de meio, base ágar mitis salivarius (MAS) e 100 mL de água destilada. Sendo a sacarose e o MAS devidamente misturados com água destilada no tubo de Erlenmeyer, esse foi colocado na autoclave a 121° C por 15 minutos. Após o tubo de Erlenmeyer ser retirado da autoclave, esperou-se a temperatura baixar até aproximadamente 45° C e acrescentou-se 0,1 mL da solução de telurito de potássio a 1% e 0,1 mL da solução de bacitracina a 1%. Através de pipetas esterilizadas foram colocados 10 mL de meio em cada placa.

#### 4.5.3 Preparo da Solução Salina

Para o preparo da solução salina a 0,9% foram necessários 0,9g de cloreto de sódio e 100 mL de água destilada. Após a homogeneização dos componentes, a solução foi levada à autoclave a 121 ° C por 15 minutos. Em cada tubo de hemólise foram colocados 0,9 ml de solução salina estéril.

#### 4.5.4 Processamento das Amostras

##### 4.5.4.1 Isolamento, Identificação e Estimativa de *S. mutans*

Para cada amostra de saliva foram utilizadas 4 placas de Petri contendo o meio MSB suplementado com Bacitracina e Telurito de Potássio, sendo usadas 2 placas para cada diluição (1:100, 1:1000) Retirou-se 0,1 mL de saliva do tubo tipo “Eppendorf” e colocou-se em um tubo de hemólise contendo 0,9 mL de solução salina, deixando a solução com uma concentração de 1:10. Logo em seguida retirou-se 0,1 mL do tubo de hemólise de concentração 1:10, colocando-se em tubo de hemólise com 0,9 mL de solução salina tendo redundado em uma concentração de 1:100. Repetiu-se o processo de diluição para obter-se uma concentração de 1:1000. Em seguida, 0,1 mL da solução de 1:100 foi semeada em duas placas de Petri, respectivamente. Espalhou-se o conteúdo semeado nas placas de Petri

contendo o meio Agar Mitis Salivarius Bacitracina-MSB com uma alça de Drigalski, previamente flambada. Repetiu-se o processo em mais duas placas de Petri para a diluição de 1:1000 (WESTERGREN; KRASSE, 1978).

Todas as placas de Petri foram marcadas com um número de identificação, ou seja, a respectiva diluição da saliva e o dia do processamento das amostras. Após as sementeiras, as placas foram colocadas em uma jarra com vela para criar um ambiente de microaerofilia, necessária para crescimento das colônias de *S. mutans*. A jarra foi incubada em uma estufa bacteriológica (Biomatic) a 37° C por 48 horas. Após esse período, as placas foram submetidas à leitura para contagem das colônias de *S. mutans*. A leitura foi feita por observação visual através da contagem manual na placa de Petri e transformada em UFC/mL de saliva, multiplicando-se o número de colônias encontradas pela respectiva diluição, sendo anotados os valores encontrados em cada placa semeada. Os estreptococos do grupo *mutans* (EGM) apresentam características peculiares em meio de cultura ricos em sacarose. Eles são distinguidos das demais espécies bacterianas, por apresentarem colônias com características morfológicas ovaladas, de cor azul, medindo aproximadamente, 0,5 a 0,75 µm de diâmetro, apresentando bordas irregulares, fortemente aderidas ao meio e quando observados ao microscópio, são vistos agrupados aos pares ou em cadeia (KONEMAN *et al.*, 2001). (Figura 1)

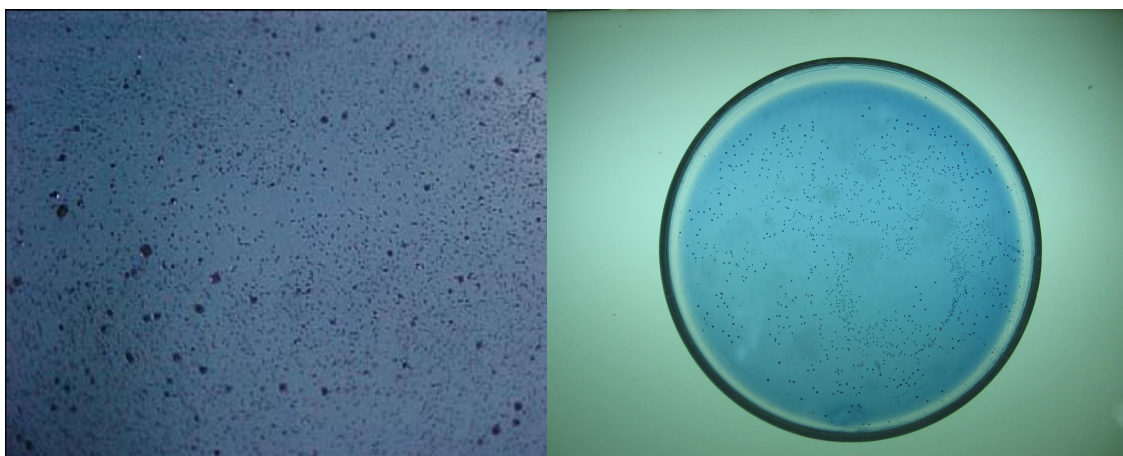


Figura 1 - *S. mutans*-crescimento em MAS suplementado  
Fonte: O autor

#### 4.5.4.2 Testes Bioquímicos

A série bioquímica para caracterização de espécies de EGM utilizou o meio tioglicolato de sódio (Difco), suplementado por carboidratos (manitol) para fermentação, e agar esculina para hidrólise (RUOFF *et al.*, 2003) Esses meios são utilizados como prova Bioquímica na identificação das bactérias Gram-positivas.

#### 4.5.4.3 Preparo da Base

Foram pesados 7,25g de tioglicolato e 3,75g de ágar bacteriológico, e ambos colocados em um balão volumétrico sendo adicionados 250 mL de água destilada. A mistura foi então colocada em um forno de microondas até total dissolução do agar, acrescentando-se em seguida 0,25 mL de púrpura de bromocresol. Após resfriamento foi realizado o teste do pH com fita teste, devendo o mesmo estar neutro. Levou-se à autoclave para esterilizar e em seguida foi distribuído 2 mL da base do meio em tubos de ensaio.

#### 4.5.4.4 Prova da Fermentação do Manitol e Hidrólise de Esculina

Foi realizado o teste bioquímico para comprovar se as colônias eram realmente de EGM. Retirou-se uma colônia com uma alça bacteriológica, previamente flambada e inoculou-se em um tubo de hemólise contendo manitol sólido. O procedimento foi repetido, colocando-se outra colônia em um tubo de hemólise contendo esculina. Os tubos foram levados à estufa a 37°C. Após 72 horas de incubação, foi feita a leitura do teste, sendo considerado positivo quando ocorreu mudança de cor do manitol de roxo para amarelo, e da esculina, de cinza para preto (MURRAY *et al.*, 2003).

Quadro 2 - Provas bioquímicas utilizadas para identificação de bactérias do grupo *S. mutans*, onde + significa teste positivo, - significa teste negativo e v significa variável.

Provas bioquímicas Espécies	MANITOL	ESCULINA
<i>S. mutans</i>	+	+
<i>S. sobrinus</i>	+	-
<i>S. sanguis</i>	-	-
<i>S. salivarius</i>	-	+
<i>S. mitis</i>	-	-
<i>S. anginosus</i>	-	v

Fonte: Adaptado de Murray *et al.* (2003)

#### 4.6 Análise dos Aminoácidos

Uma vez coletadas, as amostras de saliva foram transportadas para o Laboratório de Farmacologia Metabólica e Fisiologia Celular/Plaquetas, onde foram centrifugadas (Janetzki T 32C) por 5 minutos a uma rotação de 3000 rpm. O sobrenadante foi retirado e colocado em tubos de “ependorf” esterilizados, previamente identificados com o número do paciente e a data da coleta. Em seguida as amostras foram armazenadas a uma temperatura de -20° C, para posterior análise.

O protocolo utilizado para análise de aminoácido foi conduzido de acordo com o método descrito por Garcia *et al.* (2007). Anteriormente, amostras de saliva fresca foram desproteinizadas usando o protocolo descrito por Antunes-Neto *et al.* (2006), onde a desproteinização foi feita através da adição de 50µg de ácido sulfosalicílico para 1mL de amostras. As amostras bem homogeneizadas foram mantidas a 4°C durante 1hora e, em seguida, centrifugadas a 10.000g por 5 minutos. 30 µL do sobrenadante foram analisados em uma Biochem 20 e analisador de aminoácidos (Amersham Pharmacia, Piscataway, NJ), utilizando uma coluna de troca catiônica de alto desempenho PEEK com detecção de ninidrina. Os aminoácidos foram quantificados, utilizando um padrão (Sigma) de aminoácido, conforme anteriormente descrito (DELGHINGARO-AUGUSTO *et al.*, 2004)

por meio do uso de um controle Biochrom 20 de software versão 3,05, a integração e resultados da análise foram realizadas utilizando pacote de software ENZYCHROM. Os resultados foram expressos como  $\mu\text{Mol/mL}$ .

#### **4.7 Análise Estatística dos Dados**

Análises dos dados em duas (presença/ausência de cada aminoácido e graus de desnutrição) e três (presença/ausência de cárie, graus de desnutrição e presença/ausência de cada aminoácido) dimensões foram realizadas por meio do teste do qui-quadrado de Pearson. Para avaliar a contribuição conjunta das seguintes variáveis: presença de cada aminoácido, níveis de EGM, graus de desnutrição e idade, na experiência de cárie utilizou-se um modelo de regressão logística binária. Valores de  $p < 0.02$  foram considerados significativos.

## 5 RESULTADOS

No presente estudo um total de 40 aminoácidos foi identificado, com grande variabilidade nas suas concentrações (Tabela 1).

**Tabela 1** - Aminoácidos identificados em saliva total humana de crianças saudáveis (N=47) e desnutridas (N=75)

Aminoácidos	Média	Desvio padrão	Mínimo	Mediana	Máximo
β_ALA	0,673	1,029	0	0	7,438
AAAA	0,021	0,170	0	0	1,871
AABA	0,009	0,087	0	0	0,965
AAIBA	0,003	0,010	0	0	0,062
ALA	0,252	0,518	0	0	3,760
AMÔNIA	8,650	5,476	0	9	21,146
ANS	0,042	0,353	0	0	3,750
ARG	0,241	0,684	0	0	6,670
ASN	0,013	0,056	0	0	0,562
ASP	0,099	0,345	0	0	3,000
CAR	0,031	0,121	0	0	0,832
CITR	0,171	0,990	0	0	8,750
CYS	0,191	0,616	0	0	4,630
CYSTH_D	0,042	0,184	0	0	1,267
CYSTH_L	0,016	0,106	0	0	0,873
ETHAMIN	0,082	0,464	0	0	4,100
GABA	0,022	0,188	0	0	2,018
GLN	0,120	0,433	0	0	3,150
GLU	0,378	1,216	0	0	9,600
GLY	0,092	0,430	0	0	2,863
HIS	0,011	0,076	0	0	0,762
HOMOCYS	0,262	1,037	0	0	9,350

Aminoácidos	Média	Desvio padrão	Mínimo	Mediana	Máximo
<b>(continuação)</b>					
HLYS	0,194	0,669	0	0	5,980
HYPRO	0,187	0,669	0	0	2,220
ILE	0,001	0,005	0	0	0,034
LEU	0,118	0,468	0	0	3,500
LYS	0,167	0,940	0	0	8,125
MET	0,131	0,858	0	0	9,250
MHIS 1	0,001	0,006	0	0	0,067
MHIS 3	0,091	0,775	0	0	8,5
NORLEU	0,081	0,624	0	0	6,670
ORN	0,156	0,956	0	0	9,380
PHE	0,098	0,956	0	0	9,380
PHSER	0,464	0,881	0	0	4,790
PRO	0,133	0,851	0	0	8,500
SARC	0,115	0,779	0	0	8,000
SER	0,119	0,393	0	0	2,500
TAUR	0,571	0,837	0	0	4,343
THR	0,185	0,841	0	0	7,500
TYR	0,089	0,411	0	0	3,421
URÉIA	1,830	2,179	0	1	9,564
VAL	0,020	0,088	0	0	0,838

**Notas:** Resultados expressos em  $\mu\text{mol/ml}$ .

Limites de detecção de 0.1 nmol ( $0.1 \times 10^{-3} \mu\text{mol/ml}$ ) para todos os aminoácidos exceto prolina, e aminoácidos derivados de cisteína, como a metionina, que foram de 0.25 0.25 nmols ( $0.25 \times 10^{-3} \mu\text{mol/ml}$ ) e 0.4 nmols ( $0.4 \times 10^{-3} \mu\text{mol/ml}$ ) por mL das amostras analisadas, respectivamente.

$\beta$ -Ala, beta-alanina; AAAA, ácido L- $\alpha$ -aminoadípico; Aaba, ácido  $\alpha$ -amino butírico; Aaiba, ácido D-L- $\beta$ -Aminoisobutírico ; Ala, alanina; Ans, L-Anserina; Arg, arginina; Asn, asparagina; Asp, ácido aspártico; Car, carnitina; Citr, citrulina; Cys, cisteína; Cysth\_D, D\_cistatinina; Cysth\_L, L\_cistationina; Ethamin, etanolamina; GABA, ácido gama-amino-butírico; Gln, glutamina; Glu, ácido glutâmico; Gly, glicina; His, histidina; Homocys, homocisteína; Hypro, hidroxiprolina; Hyls, hidroxilisina; Ile, isoleucina; Leu, leucina; Lys, lisina; Met, metionina; Mhis 1, 1-metil-L-histidina; Mhis 3, 3-metil-L-histidina; Norleu, norleucina; Orn, ornitina; Phe, fenilalanine; Phser, fosfo-serine; Pro, prolina; Sarc, sarcosina; Ser, serina; Taur, taurina; Thr, treonina; Tyr, tirosina; Val, valina.



A análise estatística em três dimensões, considerando presença/ausência de cada aminoácido, presença/ausência de cárie, nos diversos estados nutricionais ( saudáveis, GS; levemente desnutridos, GI; e moderadamente desnutridos, GII), demonstrou ausência de relação entre estas variáveis com os seguintes aminoácidos: **Mhis1** (GS, p=0,926; GI, p=0,427; GII, p=0,301); **Mhis3** (GS, p=0,82; GI, p=0,746; GII, p=0,481); **AAAA** (GS, p=0,476; GI, p=0,696; GII, p=0,164); **AABA** (GS, p=0,343; GI, p=0,452; GII, p=0,342); **AAIBA** (GS, p=0,281; GI, p=0,277; GII, p=0,972); **Ala** (GS, p=0,861; GI, p=0,867; GII, p=0,446); **Ans** (GS, p=0,894; GI, p=0,035; GII, p=0,042); **Arg** (GS, p=0,202; GI, p=0,262; GII, p=0,767); **Asn** (GS, p=0,116; GI, p=0,696); **ASP** (GN, p=0,113; GI, p=0,571; GII, p=0,349); **B\_Ala** (GS, p=0,724; GI, p=0,350; GII, p=0,654); **Car** (GS, p=0,025; GI, p=0,145; GII, p=0,214); **Citr** (GS, p=0,079; GI, p=0,892; GII, p=0,599); **Cys** (GS, p=0,138; GI, p=0,650; GII, p=0,289); **Cysth\_D** (GS, p=0,297; GI, p=0,078; GII, p=0,694); **Cysth\_L** (GS, p=0,476; GI, p=0,867; GII, p=0,981); **Ethamin** (GS, p=0,157; GI, p=0,190; GII, p=0,561); **GABA** (GS, p=0,175; GI, p=0,484; GII, p=0,092); **Gln** (GS, p=0,820; GI, p=0,452; GII, p=0,693); **Glu** (GS, p=0,775; GI, p=0,035; GII, p=0,784); **Gly** (GS, p=0,118; GI, p=0,571; GII, p=0,481); **His** (GS, p=0,629; GI, p=0,277; GII, p=0,071); **Homocys** (GS, p=0,861; GI, p=0,429; GII, p=0,101); **Hyllys** (GS, p=0,798; GI, p=0,696; GII, p=0,208); **Hypro** (GS, p=0,121; GI, p=0,350; GII, p=0,200); **Ile** (GS, p=0,532; GI, p=0,176; GII, p=0,238); **Leu** (GS, p=0,553; GI, p=0,190; GII, p=0,784); **Lys** (GS, p=0,354; GI, p=0,892; GII, p=0,342); **Met** (GS, p=0,629; GI, p=0,867; GII, p=0,938); **Norleu** (GS, p=0,056; GI, p=0,392; GII, p=0,301); **Orn** (GS, p=0,532; GI, p=0,078; GII, p=0,981); **Phe** (GS, p=0,557; GI, p=0,145; GII, p=0,784); **Phser** (GS, p=0,706; GI, p=0,176; GII, p=0,187); **Pro** (GS, p=0,358; GI, p=0,746; GII, p=0,248); **Sarc** (GS, p=0,157; GI, p=0,145; GII, p=0,342); **Ser** (GS, p=0,478; GI, p=0,746; GII, p=0,150); **Taur** (GS, p=0,421; GI, p=0,176; GII, p=0,165); **Thr** (GS, p=0,295; GI, p=0,867; GII, p=0,780); **Tyr** (GS, p=0,297; GI, p=0,096; GII, p=0,780); **Val** (GS, p=0,894; GI, p=0,639; GII, p=0,620). Verificou-se a presença de relação entre presença/ausência do aminoácido **Asn** e presença/ausência de cárie dentária em GII (p=0,003), onde na presença do aminoácido crianças GII permaneceram livres de cárie (Tabela 2).

**Tabela 2** - Relação entre o aminoácido ASN, estado nutricional e experiência de cárie de 122 crianças através do teste do qui-quadrado de Pearson

Estado nutricional	ASN	Condição		Total	Estatística		
		Sem cárie	Com cárie		Valor	Grau de liberdade	Significância
GS	Ausente	24	18	42	2,476	1	0,116
	Presente	01	04	05			
	Total	25	22	47			
GI	Ausente	05	07	12	0,153	1	0,696
	Presente	05	05	10			
	Total	10	12	22			
GII	Ausente	22	18	40	8,859	1	0,003*
	Presente	13	0	13			
	Total	35	18	53			

(\*) Significância estatística quando  $p < 0,02$

A análise em duas dimensões da relação entre presença/ausência de cada aminoácido e estado nutricional demonstrou uma relação estatisticamente significativa associada aos seguintes aminoácidos: AAAA ( $p=0,000$ ); AABA ( $p=0,001$ ); AAIBA ( $p=0,001$ ); Ans ( $p=0,000$ ); Arg ( $p=0,000$ ); Asn ( $p=0,006$ ); Car ( $p=0,000$ ); Cys ( $p=0,000$ ); Cysth\_L ( $p=0,002$ ); GABA ( $p=0,014$ ); Gln ( $p=0,000$ ); His ( $p=0,004$ ); Hypro ( $p=0,000$ ); Met ( $p=0,000$ ); Norleu ( $p=0,000$ ); Phser ( $p=0,001$ ); Taur ( $p=0,001$ ); Val ( $p=0,002$ ) (Tabelas 3, 4).

**Tabela 3** - Análise estatística bidimensional através do teste do qui-quadrado de Pearson para verificar relação entre presença/ausência de cada aminoácido e estado nutricional

Aminoácidos		Qui-quadrado de Pearson	
(N = 122)	Valor	Grau de liberdade	Significância
β_ALA	6,012	2	0,049
AAAA	23,587	2	0,000*
AABA	13,006	2	0,001*
AAIBA	13,006	2	0,001*
ALA	2,698	2	0,260
ANS	31,002	2	0,000*
ARG	16,589	2	0,000*
ASN	10,404	2	0,006*
ASP	1,406	2	0,495
CAR	19,852	2	0,000*
CITR	1,486	2	0,476
CYS	24,176	2	0,000*
CYSTH_D	3,338	2	0,188
CYSTH_L	12,640	2	0,002*
ETHAMIN	0,140	2	0,933
GABA	8,486	2	0,014
GLN	21,593	2	0,000*
GLU	4,814	2	0,090
GLY	0,489	2	0,783
HIS	10,967	2	0,004*
HOMOCYS	0,938	2	0,626
HLYYS	2,260	2	0,323
HYPRO	22,935	2	0,000*
ILE	0,312	2	0,856
LEU	3,624	2	0,163
LYS	4,715	2	0,095
MET	28,841	2	0,000*
MHIS 1	3,107	2	0,212
MHIS 3	4,421	2	0,110
NORLEU	18,080	2	0,000*
ORN	4,757	2	0,093
PHE	2,139	2	0,343
PHSER	14,810	2	0,001*
PRO	0,045	2	0,978
SARC	7,131	2	0,028
SER	1,498	2	0,473
TAUR	15,030	2	0,001*
THR	2,803	2	0,246
TYR	6,844	2	0,033
VAL	12,202	2	0,002*

(\*) Significância estatística quando  $p < 0,02$

**Tabela 4** - Relação entre presença/ausência de cada aminoácido e estado nutricional de 122 crianças

Aminoácidos		Estado Nutricional*			Total
		GS (%)	GI	GII	
β_ALA	Ausente	14 (29,8%)	1 (4,5%)	10 (18,9%)	25
	Presente	33 (70,2%)	21 (95,5%)	43 (81,1%)	97
AAAA	Ausente	44 (93,6%)	10 (45,5%)	45 (84,9%)	99
	Presente	3 (6,4%)	12 (54,5%)	8 (15,1%)	23
AABA	Ausente	46 (97,9%)	15 (68,2%)	47 (88,7%)	108
	Presente	1 (2,1%)	7 (31,8%)	6 (11,3%)	14
AAIBA	Ausente	46 (97,9%)	15 (68,2%)	47 (88,7%)	108
	Presente	1 (2,1%)	7 (31,8%)	6 (11,3%)	14
ALA	Ausente	22 (46,8%)	7 (31,8%)	17 (32,1%)	46
	Presente	25 (53,2%)	15 (68,2%)	36 (67,9%)	76
ANS	Ausente	43 (91,5%)	8 (36,4%)	46 (86,8%)	97
	Presente	4 (8,5%)	14 (63,6%)	7 (13,2%)	25
ARG	Ausente	26 (55,3%)	1 (4,5%)	25 (47,2%)	52
	Presente	21 (44,7%)	21 (95,5%)	28 (52,8%)	70
ASN	Ausente	42 (89,4%)	12 (54,5%)	40 (75,5%)	94
	Presente	5 (10,6%)	10 (45,5%)	13 (24,5%)	28
ASP	Ausente	25 (53,2%)	14 (63,6%)	34 (64,2%)	73
	Presente	22 (46,8%)	8 (36,4%)	19 (35,8%)	48
CAR	Ausente	40 (85,1%)	8 (36,4)	42 (79,2)	90
	Presente	7 (14,9%)	14 (63,6%)	11 (20,8%)	32
CITR	Ausente	39 (83,0%)	20 (90,9%)	42 (79,2%)	101
	Presente	8 (17,0%)	2 (9,1%)	11 (20,8%)	21
CYS	Ausente	36 (76,6%)	3 (13,6%)	30 (56,6%)	69
	Presente	11 (23,4%)	19 (86,4%)	23 (43,4%)	53
CYSTH_D	Ausente	41 (87,2%)	17 (77,3%)	49 (92,5%)	107
	Presente	6 (12,8%)	5 (22,7%)	4 (7,5%)	15
CYSTH_L	Ausente	44 (93,6%)	15 (68,2%)	50 (94,3%)	109
	Presente	3 (6,4%)	7 (31,8%)	3 (5,7%)	13
ETHAMIN	Ausente	40 (85,1%)	18 (81,8%)	45 (84,9%)	103
	Presente	7 (14,9%)	4 (18,2%)	8 (15,1%)	19
GABA	Ausente	45 (95,7%)	16 (72,7%)	48 (90,6%)	109
	Presente	2 (4,3%)	6 (27,3%)	5 (9,4%)	13
GLN	Ausente	40 (85,1%)	7 (31,8%)	40 (75,5%)	87
	Presente	7 (14,9%)	15 (68,2%)	13 (24,5%)	35
GLU	Ausente	33 (70,2%)	10 (45,5%)	37 (69,8%)	80
	Presente	14 (29,8%)	12 (54,5%)	16 (30,2%)	42
GLY	Ausente	33 (70,2%)	14 (63,6%)	38 (71,7%)	85
	Presente	14 (29,8%)	8 (36,4%)	15 (28,3%)	37
HIS	Ausente	44 (93,6%)	15 (68,2%)	49 (92,5%)	108
	Presente	3 (6,4%)	7 (31,8%)	4 (7,5%)	14
HOMOCYS	Ausente	25 (53,2%)	9 (40,9%)	27 (50,9%)	61
	Presente	22 (46,8%)	13 (59,1%)	26 (49,1%)	61
HYLYS	Ausente	29 (61,7%)	10 (45,5%)	26 (49,1%)	65
	Presente	18 (38,3%)	12 (54,5%)	27 (50,9%)	57
HYPRO	Ausente	31 (66,0%)	1 (4,5%)	23 (43,4%)	55
	Presente	16 (34,0%)	21 (95,5%)	30 (56,6%)	67

GS, saudáveis (N = 47); GI, desnutrição leve (N = 22); GII, desnutrição moderada (N = 53)

Aminoácidos (continuação)		Estado Nutricional*			Total
		GS (%)	GI	GII	
ILE	Ausente	42 (89,4%)	20 (90,9%)	46 (86,8%)	108
	Presente	5 (10,6%)	2 (9,1%)	7 (13,2%)	14
LEU	Ausente	40 (85,1%)	18 (81,8%)	37 (69,8%)	95
	Presente	7 (14,9%)	4 (18,2%)	16 (30,2%)	27
LYS	Ausente	35 (74,5%)	20 (90,9%)	47 (88,7%)	102
	Presente	12 (25,5%)	2 (9,1%)	6 (11,3%)	20
MET	Ausente	44 (93,6%)	7 (31,8%)	32 (60,4%)	83
	Presente	3 (6,4%)	15 (68,2%)	21 (39,6%)	39
MHIS 1	Ausente	45 (95,7%)	19 (86,4%)	51 (96,2%)	115
	Presente	2 (4,3%)	3 (13,6%)	2 (3,8%)	7
MHIS 3	Ausente	40 (85,1%)	14 (14,9%)	38 (71,7%)	92
	Presente	7 (14,9%)	8 (36,4%)	15 (28,3%)	30
NORLEU	Ausente	44 (93,6%)	11 (50%)	43 (81,1%)	98
	Presente	3 (6,4%)	11 (50%)	10 (18,9%)	24
ORN	Ausente	42 (89,4%)	17 (77,3%)	50 (94,3%)	109
	Presente	5 (10,6%)	5 (22,7%)	3 (5,7%)	13
PHE	Ausente	36 (76,6%)	14 (63,6%)	34 (64,2%)	84
	Presente	11 (23,4%)	8 (36,4%)	19 (35,8%)	38
PHSER	Ausente	27 (57,4%)	2 (9,1%)	20 (37,7%)	49
	Presente	20 (42,6%)	20 (90,9%)	33 (62,3%)	73
PRO	Ausente	31 (66,0%)	14 (63,6%)	35 (66,0%)	80
	Presente	16 (34,0%)	8 (36,4%)	18 (34,0%)	42
SARC	Ausente	40 (85,1%)	14 (63,6%)	47 (88,7%)	101
	Presente	7 (14,9%)	8 (36,4%)	6 (11,3%)	21
SER	Ausente	34 (72,3%)	14 (63,6%)	41 (77,4%)	89
	Presente	13 (27,7%)	8 (36,4%)	12 (22,6%)	33
TAUR	Ausente	20 (42,6%)	2 (9,1%)	7 (13,2%)	29
	Presente	27 (57,4%)	20 (90,9%)	46 (86,8%)	93
THR	Ausente	40 (85,1%)	15 (68,2%)	40 (75,5%)	95
	Presente	7 (14,9%)	7 (31,8%)	13 (24,5%)	27
TYR	Ausente	41 (87,2%)	13 (59,1%)	40 (75,5%)	94
	Presente	6 (12,8%)	9 (40,9%)	13 (24,5)	28
VAL	Ausente	43 (91,5%)	12 (54,5%)	39 (73,6%)	94
	Presente	4 (8,5%)	10 (45,5%)	14 (26,4%)	28

GS, saudáveis (N = 47); GI, desnutrição leve (N = 22); GII, desnutrição moderada (N = 53)

Entretanto, ausência de significância estatística na relação entre presença/ausência de cada aminoácido e grau de desnutrição foi verificada conforme segue: Mhis1 ( $p=0,212$ ); Mhis3 ( $p=0,110$ ); Ala ( $p=0,260$ ); Asp ( $p=0,495$ ); Ayls ( $p=0,519$ ); B\_Ala ( $p=0,049$ ); Citr ( $p=0,476$ ); Cysth\_D ( $p=0,188$ ); Ethamin ( $p=0,933$ ); Glu ( $p=0,090$ ); Gly ( $0,783$ ); Homocys ( $p=0,626$ ); Hylys ( $p=0,323$ ); Ile ( $p=0,856$ ); Leu ( $p=0,163$ ); Lys ( $p=0,095$ ); Orn ( $p=0,093$ ); Phe ( $p=0,343$ ); Pro ( $p=0,978$ ); Sarc ( $p=0,028$ ); Ser ( $p=0,473$ ); Thr ( $p=0,246$ ); Tyr ( $p=0,033$ ).

A regressão logística do aumento ou redução da probabilidade de se ter experiência de cárie frente às variáveis presença/ausência de cada aminoácido, estado nutricional, sexo, idade e contagem de EGM (logaritmo natural da contagem de EGM) demonstrou que a presença dos aminoácidos Ala ( $p = 0,014$ ) e Car ( $p = 0,008$ ) reduz a chance de se ter experiência de cárie. Em contrapartida, a presença do aminoácido His ( $p = 0,012$ ) aumenta a chance de se ter experiência de cárie. Este modelo logístico binário demonstrou que nesta população, quanto maior a idade, maior seria a chance de se ter cárie dentária ( $p = 0,003$ ), mas os níveis de EGM em saliva não demonstraram influência significativa sobre a chance de se ter experiência de cárie ( $p = 0,065$ ) (Tabela 5).

**Tabela 5** - Regressão logística da probabilidade de cárie considerando todas as variáveis

Variáveis	Coeficiente de Regressão	Estatística		
		Wald	Grau de Liberdade	Significância
Sexo	0,583	0,292	1	0,589
Idade	0,168	8,951	1	0,003*
LogCont	0,209	3,394	1	0,065
GI	2,132	0,193	1	0,660
GII	-7,288	3,649	1	0,056
$\beta$ _ALA	-13,204	4,198	1	0,040
AAAA	-3,414	0,725	1	0,395
AABA	-1,934	0,078	1	0,780
AAIBA	7,815	2,511	1	0,113
ALA	-8,683	6,056	1	0,014*
AMÔNIA	-1,322	5,270	1	0,022
ANS	-1,832	0,144	1	0,705
ARG	1,204	0,310	1	0,577
ASN	-7,177	2,706	1	0,100
ASP	2,935	0,406	1	0,524
CAR	-16,265	7,117	1	0,008*
CITR	10,448	3,925	1	0,048
CYS	-6,632	3,305	1	0,069
CYSTH_D	-0,594	0,009	1	0,924
CYSTH_L	4,313	0,898	1	0,343
ETHAMIN	2,500	0,278	1	0,597
GABA	-20,412	4,419	1	0,036
GLN	11,654	3,397	1	0,065
GLU	6,012	4,634	1	0,031
GLY	8,721	4,200	1	0,040
HIS	23,520	6,347	1	0,012*
HOMOCYS	-6,021	3,057	1	0,080
HYLYS	-8,218	4,598	1	0,032
HYPRO	13,603	5,212	1	0,022
ILE	-2,691	0,461	1	0,497
LEU	1,588	0,331	1	0,565
LYS	-4,089	1,059	1	0,303
MET	-1,325	0,279	1	0,597
MHIS 1	-8,926	2,651	1	0,103
MHIS 3	-0,767	0,099	1	0,753
NORLEU	9,989	3,259	1	0,071
ORN	-13,741	2,883	1	0,090
PHE	3,114	2,022	1	0,155
PHSER	-2,568	0,645	1	0,422
PRO	-2,889	1,112	1	0,292
SARC	984	0,023	1	0,880
SER	775	0,083	1	0,773
TAUR	8,209	3,101	1	0,078
THR	-8,736	3,190	1	0,074
TYR	2,621	0,432	1	0,511
URÉIA	1,138	2,265	1	0,132
VAL	6,729	2,096	1	0,148

## 6 DISCUSSÃO

Os aminoácidos livres presentes em saliva total humana são originalmente fruto de uma série de complexos processos metabólicos bacterianos ou do próprio hospedeiro (SYRJANEN *et al.*, 1984, 1987, 1990; VRATSANOS; MANDEL, 1985). Portanto, as alterações nas condições locais e/ou sistêmicas irão determinar uma maior ou menor concentração destas biomoléculas, permitindo avaliar uma possível relação entre desajustes orgânicos e perfil de aminoácidos salivares. A DEP é um exemplo vivo de desajuste metabólico existente em função de carência de nutrientes para o organismo (D'AVILA, 1999; BORSOL, 2001). No presente trabalho buscou-se encontrar uma possível relação existente entre presença de aminoácidos salivares, diferentes graus de desnutrição e CPI. Não somente para investigar a DEP como doença, mas também para avaliar a influência dessa condição sobre o risco do desenvolvimento de cárie dentária em uma população que, conforme anteriormente descrito, estaria sujeita a um maior risco (OLIVEIRA; SHEIHAM e BÖNECKER, 2008) e a uma maior prevalência (ALVAREZ *et al.*, 1988,1990; JOHANSSON *et al.*, 1992) de CPI.

Anteriormente, nosso grupo de pesquisa estudou o perfil de aminoácidos salivares em saliva total humana de crianças nutridas com e sem CPI. Para a detecção do risco de cárie da população estudada, foram medidos os níveis de EGM em saliva. O objetivo principal do referido estudo foi de identificar os aminoácidos livres salivares que tivessem alguma associação com o risco de desenvolvimento de CPI. Observou-se uma relação entre a presença de prolina em crianças com maiores níveis de contaminação por EGM e um maior risco de desenvolver a doença. Em contrapartida, a presença de glicina desempenhou um papel contrário, ou seja, sua presença entre crianças com maiores níveis de contaminação por EGM levou a um menor número de crianças sem lesões de cárie (FONTELES *et al.*, 2008, no prelo). Embora vários trabalhos científicos tenham buscado identificar o perfil de aminoácidos em saliva (KIRCH *et al.*, 1947; BATTISTONE; BURNET, 1961; VRANIC; GRANIC; RAJIC, 1991), nosso grupo foi pioneiro na realização desse estudo durante a primeira infância. Acredita-se ser este fato devido às grandes dificuldades encontradas durante o momento de coleta das amostras, já que a coleta de saliva para medição de parâmetros salivares requer uma padronização com o intuito de minimizar a interferência de processos fisiológicos inerentes. A idade é também um componente de importância no momento da coleta, já que crianças em idade jovem frequentemente tornam-se agitadas durante este procedimento, podendo alterar por meio da secreção de neurohormônios, como



por exemplo, adrenalina, os níveis dos constituintes salivares que se procura dosar (KAUFMAN; LAMSTER, 2000). No presente trabalho, um grande número de voluntários foi eliminado para controle deste viés.

Anteriormente, estudos buscaram verificar qualitativa e quantitativamente o perfil de aminoácidos em saliva total humana. Kirck *et al.* (1947) pesquisou a saliva de 18 voluntários classificados conforme o risco à cárie, através da contagem de lactobacilos, como sendo indivíduos com: cárie inativa, ativa, moderadamente ativa e muito ativa. Estes autores encontraram 16 aminoácidos: triptofano, arginina, valina, ácido glutâmico, fenilalanina, treonina, lisina, glicina, tirosina, prolina, leucina, serina, isoleucina, cisteína, histidina, metionina, não tendo observado correlação entre o conteúdo ou concentração de aminoácido salivar e susceptibilidade à cárie. Battistone e Burnet (1961) também buscando estudar a composição dos aminoácidos na saliva humana, pesquisaram a saliva de 6 indivíduos e encontraram 16 aminoácidos: ácido aspártico, ácido glutâmico, treonina, serina, prolina, glicina, alanina, cisteína, valina, metionina, fenilalanina, leucina, isoleucina, tirosina, triptofano, histidina, lisina, arginina. Potoczek e Rządowska-Kazmierczak (1969) buscaram verificar se havia diferenças qualitativas na composição de aminoácidos livres na saliva de 30 indivíduos susceptíveis (cpo-d entre 13 e 28) à cárie dentária ou considerados resistentes (cpo-d entre 0 e 3) à doença. Neste estudo foram isolados ácido glutâmico, ácido aspártico, glutamina, leucina, isoleucina, alanina, fenilalanina, glicina, histidina e triptofano. Estes autores reportaram haver uma maior concentração destes aminoácidos no grupo de indivíduos considerados como susceptíveis à cárie, muito embora a metodologia então utilizada não tenha permitido a quantificação de cada aminoácido isolado. Foram relatados os aminoácidos mais freqüentemente isolados da saliva de indivíduos susceptíveis à cárie: ácido aspártico, ácido glutâmico, isoleucina, alanina, glicina e histidina.

Liappis e Hildebrand (1982) buscaram estudar a relação existente entre aminoácidos e cárie dentária em 65 crianças com 6-13 anos de idade, sendo 32 crianças sem cárie e 33 com cárie. Os autores identificaram nos dois grupos estudados, 24 aminoácidos conforme segue: taurina, asparagina, treonina, serina, ácido glutâmico, glutamina, prolina, glicina, alanina, citrulina, valina, isoleucina, leucina, tirosina, fenilalanina, ornitina, lisina, histidina, ácido  $\delta$ -aminovalérico, arginina, o-fosfoetanolamina, cistina, metionina e ácido  $\beta$ -aminobutírico. Nenhuma relação qualitativa ou quantitativa foi encontrada entre os aminoácidos dosados e cárie dentária. Entretanto, uma tendência a uma maior concentração de arginina e lisina, embora sem significância estatística, foi observada no grupo de crianças sem cárie. Uma falha observada na metodologia destes autores é vista na forma de

diagnóstico de cárie do estudo, onde apenas poucas lesões de cárie foram consideradas, tendo sido desprezadas lesões incipientes e manchas brancas, bem como experiência passada de cárie.

Vranic', Granice' e Rajic' (1991) buscando verificar uma possível associação entre o perfil de aminoácidos salivares e cárie dentária, estudaram a saliva de 43 crianças com cárie e 39 crianças sem cárie, com idades na faixa de 12-15 anos. Foi identificado um total de 18 aminoácidos: fosfoserina, taurina, asparagina, treonina, serina, glutamina, prolina, ácido glutâmico, citrulina, glicina, alanina, valina, isoleucina, leucina, tirosina, fenilalanina, ornitina, arginina. Embora, tenham procurado relacionar as concentrações dos aminoácidos identificados com a condição de cárie da população estudada, nenhuma descrição foi feita pelos autores dos métodos utilizados para diagnóstico da doença, comprometendo a confiabilidade dos dados referentes à cárie, e dificultando comparações com outros estudos. Seus resultados demonstraram que entre crianças com cárie houve maiores concentrações de asparagina, glutamina, valina, fenilalanina; menores concentrações de treonina, ornitina, arginina; e uma total falta de histidina. Os autores concluíram seu estudo afirmando que a presença de uma menor concentração de arginina e ausência de histidina poderiam ser considerada como fatores capazes de aumentar o risco à cárie dentária.

Contraopondo-se aos achados de Kirck *et al.* (1947) e Liappis e Hildebrand (1982) nossos resultados em amostras de crianças desnutridas confirmaram haver uma relação entre aminoácidos salivares e cárie dentária, embora esta associação tenha se limitado aos aminoácidos: asparagina, alanina, carnitina e histidina. A presença de asparagina demonstrou uma relação a um menor risco à cárie, tendo havido total ausência deste aminoácido entre crianças moderadamente desnutridas com cárie e um maior número de ausências de asparagina no grupo de crianças saudáveis com cárie, associação esta inversa à anteriormente descrita por Vranic', Granic' e Rajic' (1991) entre crianças saudáveis com cárie, que apresentaram maiores níveis deste aminoácido. Também observamos relação significativa entre a presença/ausência de asparagina e o estado nutricional das crianças estudadas, independente da condição de cárie observada. Outro dado de importância visto em nossos achados foi uma associação entre a presença de histidina e uma maior chance de se ter cárie, em discordância aos resultados propostos por Vranic', Granic' e Rajic' (1991), onde a total ausência deste aminoácido é que estaria associado a um maior risco de desenvolvimento da doença. Embora, Potoczek e Rzedkowska-Kazmierczak (1969) tenham descrito histidina como um dos aminoácidos mais freqüentemente presentes entre indivíduos saudáveis com cpo-d entre 13 e 28, denominados pelos autores como susceptíveis à cárie, observamos também um

aumento na probabilidade de se ter cárie dentária na presença de alanina e carnitina. Apesar da carnitina não ter sido anteriormente encontrada em saliva total humana, a alanina foi descrita por Potoczek e Rzadkowska-Kazmierczak (1969) como sendo um aminoácido isolado com frequência de indivíduos sadios com cpo-d entre 13 e 28.

VanWuyckhuysse *et al.* (1995) analisaram o conteúdo de aminoácidos livres em saliva de parótida de indivíduos com e sem cárie, com o intuito de evitar a detecção de produtos microbianos frequentemente encontrados em saliva total humana. A população estudada consistiu de 20 adultos livres de cárie, 19 adultos e 17 crianças (10-14 anos) com cárie. Foi reportada uma tendência a um maior nível de glutamina, histidina, arginina e lisina nos grupos de adultos e crianças livres de cárie. Entretanto, alta significância estatística ao comparar as concentrações desses aminoácidos em cada grupo só foi verificada para os aminoácidos arginina e lisina. Foi sugerido pelos autores que a maior disponibilidade desses aminoácidos em indivíduos sem cárie viabilizaria uma produção aumentada de poliaminas, como putrescina e cadaverina, levando à síntese de  $\text{NH}_4^+$ , aumentando o pH da placa nestes indivíduos, tornando-os menos susceptíveis à cárie dentária. Os autores isolaram 20 aminoácidos conforme segue: ácido aspártico, ácido glutâmico, asparagina, serina, glutamina, histidina, glicina, treonina, alanina, arginina, tirosina, valina, metionina, triptofano, fenilalanina, isoleucina, leucina, lisina, hidroxiprolina, prolina. Nossos resultados mostraram um total de 40 aminoácidos isolados, dos quais 8 essenciais, e não foi observada relação significativa entre a presença dos aminoácidos arginina e lisina e uma maior ou menor probabilidade de desenvolvimento de cárie dentária nos grupos estudados. Duas possíveis explicações para estes achados estão primeiramente no fato de haver desenvolvido um trabalho com saliva total humana e não com saliva isolada da parótida, e secundariamente por termos estudado saliva de pacientes com desnutrição, fato este que em si já causa alterações no perfil de aminoácidos salivares capazes de mascarar essas diferenças. Entretanto, estudo prévio feito por nosso grupo com saliva total humana de crianças sadias (FONTELES *et al.*, 2008, no prelo) não confirmou os achados de VanWuyckhuysse *et al.* (1995), possivelmente por ser a amostra estudada por Fonteles *et al.* (2008, no prelo) bem mais jovem ( $40 \pm 14$  meses de idade, para ambos os sexos) que a amostra estudada por esses autores (adultos com 50-83 anos, e crianças 10-16 anos).

Embora haja um grande número de trabalhos científicos reportando dosagens de aminoácidos salivares, observamos que há apenas uma descrição na literatura de análise de aminoácidos em crianças desnutridas. El-Shobaki *et al.* (1978) investigaram o conteúdo de aminoácidos e proteínas na saliva de 22 crianças sadias e 104 crianças com DEP, com faixa

etária entre 6 e 36 meses de idade. Não foi interesse dos autores verificar a relação de seus achados com cárie dentária. Foi isolado um total de 16 aminoácidos: leucina, fenilalanina, lisina, valina, treonina, metionina, triptofano, alanina, ácido glutâmico, ácido aspártico, serina, glicina, tirosina, asparagina, cisteína e ácido glutâmico. Ao comparar as concentrações destas biomoléculas salivares entre crianças com desnutrição e crianças saudias foi verificado aumento nos níveis dos seguintes aminoácidos essenciais: leucina, valina, treonina, metionina, triptofano. No caso dos aminoácidos não essenciais houve aumento na alanina, glutamina, ácido aspártico, serina+glicina e tirosina. Presentemente, observamos relação de apenas 3 aminoácidos essenciais com o estado nutricional das crianças, histidina, metionina e valina. Os demais aminoácidos identificados que apresentavam relação com o estado nutricional dos grupos estudados foram identificados sendo de natureza não essencial: asparagina, arginina, hidroxiprolina, norleucina, fosfoserina e taurina.

Em adição, verificou-se no presente estudo uma associação entre a presença dos aminoácidos ácido L- $\alpha$ -aminoadípico, ácido  $\alpha$ -aminobutírico, ácido D-L- $\beta$ -aminoisobutírico, L-anserina, arginina, asparagina, carnitina, cisteína, L-cistationina, ácido gama-amino-butírico, glutamina, histidina, hidroxiprolina, metionina, norleucina, fosfoserina, taurina, valina e o estado nutricional dos diferentes grupos estudados. Ao avaliar individualmente as concentrações referentes a cada aminoácido entre crianças nutridas, levemente e moderadamente desnutridas, observou-se que há uma tendência a um menor percentual de presença dos aminoácidos no grupo das crianças nutridas, entretanto, este percentual aumenta consideravelmente entre as crianças levemente desnutridas, havendo uma queda do percentual de presenças no grupo com desnutrição moderada, permanecendo, entretanto, acima dos níveis observados entre crianças saudáveis. Essa flutuação no percentual de presença dos aminoácidos livres salivares se dá muito provavelmente pela reação orgânica inicial ao estado de desnutrição. A DEP grau leve deve levar a um aumento no catabolismo protéico que irá se refletir no fluido salivar, por meio de um aumento no percentual de presença desses aminoácidos. Em contrapartida, na DEP moderada o organismo iniciaria um processo de adaptação ao estado de desnutrição pré-existente, que no caso da desnutrição moderada muitas vezes se cronifica.

Em suporte a esta hipótese, Kilberg *et al.* (2005) descreveram em células de mamíferos duas prováveis vias de monitoramento e resposta à disponibilidade dos diferentes aminoácidos, sendo estas responsáveis por mudanças nos índices de síntese protéica em direções opostas. Os autores reportaram que uma dessas vias, denominada via de alvo da rapamicina em mamíferos (mTOR), estaria associada a uma suficiência de aminoácidos

capaz de ativar a cascata de mTOR quinase, resultando na fosforilação da quinase S6 associada ao ribossomo, que redundaria em um maior nível de tradução das espécies de RNAm que codificam proteínas ribossomais. Por meio deste mecanismo, haveria disponibilidade de nutrientes no organismo, síntese protéica e índices de crescimento celular seriam mantidos de forma consistente. A segunda via de resposta aos aminoácidos existiria para detectar deficiência destas biomoléculas, ou seja, uma limitação na disponibilidade de qualquer aminoácido deflagraria essa cascata, chamada via de resposta a aminoácido (AAR). Neste contexto, a limitação de qualquer aminoácido essencial à célula iniciaria uma cascata de sinalização, levando a um aumento na tradução de um “regulador mestre”, capaz de ativar o fator de transcrição ATF4, levando por fim a regulação de muitos passos ao da via de DNA para RNA, e deste para síntese protéica. Esses mecanismos biomoleculares diferenciados explicam a adaptação orgânica às diferentes situações onde há excesso ou falta de aminoácidos, unidades básicas na construção de proteínas no corpo, sendo o fluido salivar possivelmente um espelho das carências orgânicas ora existentes.

Considerando-se o metabolismo basal de indivíduos desnutridos expressos em m<sup>2</sup> de superfície corporal, e por dia, sabe-se que o mesmo encontra-se reduzido a 70% dos valores normais, equivalendo a 85% dos valores normais quando expresso por kg e por dia (KERR; STEVENS; ROBINSON, 1978). Esta adaptação para requerimentos energéticos mais baixos se produz em parte através do uso mais eficiente das proteínas da dieta e de uma redução na excreção urinária de nitrogênio após poucos dias. Em associação a esses fatores, aminoácidos liberados durante a degradação tissular deixarão de ser oxidados, passando-se a utilizar uma maior proporção dos mesmos para a reativação da síntese protéica. Desta forma as crianças desnutridas obtêm apenas 4% da energia total a partir das proteínas (103 mg N/kg/dia), em comparação a 7% (226 mg N/kg/dia) obtida após reabilitação do estado de desnutrição (GOLDENG; WATERLOW; PICAU, 1977). Alguns estudos demonstraram através da análise química de cadáveres que o conteúdo total de nitrogênio do organismo sofre uma redução de cerca de um terço (GARROW; FLETCHER; HALLIDAY, 1965; HALLIDAY, 1967), afetando principalmente o músculo estriado que pode chegar a perder mais da metade do seu nitrogênio (REEDS *et al.*, 1978). A depleção do músculo se deve principalmente à perda de proteínas solúveis e contráteis, já que o conteúdo de colágeno encontra-se relativamente conservado (HANSEN-SMITH; PICAU; GOLDENG, 1976). No presente trabalho, a hidroxiprolina seguiu o mesmo perfil de aumento e redução no percentual de presenças. Sendo este aminoácido parte integrante das moléculas de colágeno, sua presença em saliva total humana pode está sinalizando quebra destas moléculas,

processo esse que se difere do encontrado em tecido muscular. Dando suporte a este argumento, Syrjanen *et al.* (1990) estudando o conteúdo de aminoácidos livres em saliva total humana de pacientes adultos com doença periodontal encontraram total ausência de hidroxiprolina em pacientes saudáveis (com ausência da doença). Entretanto, em pacientes com doença periodontal presente, a hidroxiprolina foi detectada em saliva total humana, dado este consistente com o processo de destruição tecidual.

A ausência de consenso entre nossos dados e resultados previamente descritos na literatura se deve possivelmente a falta de padronização em estudos prévios nos métodos diagnósticos empregados para detecção da cárie dentária. O presente trabalho é o primeiro do gênero a trabalhar com critérios adaptados da Academia Americana de Odontologia Pediátrica (2007), onde manchas brancas na primeira infância foram computadas no cálculo do número de dentes cariados, extraídos e obturados devido à cárie. Afinal, as bases científicas ligadas à cárie dentária sofreram grandes mudanças ao longo do século XX, tendo-se hoje uma compreensão bem diferente da doença, seus critérios diagnósticos e fatores de risco (FEJERSKOY, 2004). A dosagem de EGM em saliva foi obtida como um meio de acessar grau de risco da população estudada. Esse grupo de bactérias foi outrora identificado como os principais patógenos relacionados à inicialização do processo cariioso (BOWEN *et al.*, 1998), desempenhando papel de extrema importância no risco à cárie na primeira infância (SCHAFER; ADAIR, 2000; TENUTA *et al.*, 2003; AIRES *et al.*, 2006). Outro aspecto de importância diz respeito às técnicas empregadas nas análises para detecção de aminoácidos em saliva, atualmente mais modernas, com níveis de detecção capazes de identificar concentrações bem inferiores às verificadas no passado, o que viabiliza a separação de um maior número de aminoácidos, muitas vezes presentes no fluido salivar em quantidades ínfimas, outrora indetectáveis. Esse fato gera dados de aminoácidos com grande assimetria, requerendo uma abordagem estatística apropriada para variáveis desta natureza, o que nos levou a optar por analisar relação com a presença/ausência destes aminoácidos, em detrimento de meras comparações entre concentrações de grupos isolados. Estatisticamente investigou-se em conjunto as variáveis capazes de influenciar o risco à cárie dentária: idade, sexo, contagem de EGM, estado nutricional e presença de cada aminoácido identificado por meio de um modelo logístico binário. Essa abordagem estatística possivelmente permite uma melhor avaliação da capacidade de cada variável em aumentar ou reduzir a probabilidade ao desenvolvimento da cárie. Sendo a cárie uma doença que sofre influência de múltiplos fatores, não podemos atribuir a um fator isolado o poder de alterar o risco à doença.

De modo interessante, este modelo estatístico não demonstrou uma associação significativa entre os níveis de EGM em saliva e maior risco ao desenvolvimento da cárie dentária, estando em desacordo com a maioria dos achados na literatura (MATTOS-GRANER *et al.*, 1998; MATTOS-GRANER *et al.*, 2001; ERSIN *et al.*, 2006), já que quanto mais cedo a colonização por EGM maior a incidência de cárie na primeira infância, e em contrapartida, menores níveis de EGM estariam ligados a uma menor atividade de cárie (MATTOS-GRANER *et al.*, 2001). Entretanto, a relação entre EGM e cárie vem sendo questionada, havendo por alguns a compreensão de que EGM seriam bons marcadores de cárie dentária, mas não necessariamente agentes etiológicos da doença (BEIGHTON, 2005). Poucos estudos investigaram os níveis de EGM em população de crianças desnutridas. Li *et al.* (1994) estudaram níveis de EGM e desnutrição em população de crianças entre 3 e 4 anos de idade. O principal objetivo dos autores era investigar a associação entre níveis de EGM e hipoplasia de esmalte, embora tenham também avaliado a cárie dentária. Os autores observaram uma associação significativa entre hipoplasia de esmalte e quantidade de EGM, não tendo verificado associação entre esses dados, peso corporal ou altura. Johansson *et al.* (1992) estudaram o efeito da DEP crônica no fluxo salivar e na susceptibilidade à cárie, tendo observado que em seu estudo, todas as crianças encontravam-se contaminadas por EGM, estando muitas com níveis de contaminação acima de  $10^6$  UFC/mL. No presente trabalho, os níveis de EGM em saliva não se associaram a estado nutricional ou risco à cárie.

Devido ao pioneirismo deste trabalho, onde foram avaliadas diversas variáveis de importância no risco à CPI, níveis de aminoácidos salivares, em amostra de crianças com diferentes graus de desnutrição, e crianças saudáveis, torna-se difícil a tarefa de explicar a importância de cada um dos aminoácidos ora associados com CPI ou ora associados com os diferentes graus de desnutrição. No presente estudo, crianças desnutridas foram classificadas segundo os Padrões de Referência de Crescimento Infantil da OMS (2006). Esse novo critério de referência é recomendado para crianças desde o nascimento até a idade de 5 anos, e leva em consideração os seguintes parâmetros: peso/idade, peso/altura, altura/idade, índice de massa corporal/idade. Há na literatura apenas um relato recente estudando a associação entre estado nutricional e cárie dentária, que utilizou os critérios atuais de classificação da OMS com o objetivo de avaliar as crianças estudadas segundo seus estados nutricionais (OLIVEIRA; SHEIHAM; BONECKER, 2008). Embora os autores tenham verificado uma significativa relação entre estado nutricional e cárie, componentes salivares não foram investigados, e os diferentes graus de desnutrição não foram considerados no estudo. Há, portanto, a necessidade de estudos aprofundados para melhor investigar os diversos fatores

salivares associados à DEP, utilizando o sistema classificatório proposto pela OMS para efeitos comparativos, já que desnutrição leva a uma redução significativa no volume salivar (JOHANSON *et al.*, 1992; BANDERAS-TARABAY *et al.*, 1997; AMERONGEN; BOLSCHER; VEERMAN, 2004), capacidade tampão da saliva (JOHANSON *et al.*, 1992; AZEN, 1993; AGUIRRE *et al.*, 1993) e alterações quantitativa e qualitativa nas proteínas salivares (IBRAHIM *et al.*, 1978; AGARWAL; AGARWAL; AGARWAL, 1984). Ademais, sugerimos investigações específicas acerca da importância individual de cada aminoácido identificado nesta pesquisa para que em um futuro próximo possamos melhor compreender os mecanismos envolvidos na DEP e na doença cárie.



## 7 CONCLUSÕES

Considerando-se as condições específicas desse trabalho, os resultados obtidos permitem concluir que:

1. Nas crianças desnutridas existe uma grande quantidade de aminoácidos livres em saliva total humana (STH), com variabilidade em suas concentrações;
2. Os aminoácidos alanina (ALA), carnitina (CAR), histidina (HIS) e asparagina (ASN) se associam à cárie dentária em crianças com desnutrição energético-proteica, (DEP) aumentando ou reduzindo o risco à cárie;
3. Dezoito aminoácidos específicos se associam à desnutrição energético-proteica (DEP) em seus diferentes graus;
4. Há uma tendência a um maior percentual de ausências de vários aminoácidos em crianças saudáveis, uma redução nessas ausências entre crianças com desnutrição leve, e um aumento entre crianças com desnutrição moderada;
5. Sendo a cárie dentária uma doença multifatorial, na presença de outros fatores de risco, estreptococos do grupo mutans (EGM) não desempenham um papel preponderante no risco à cárie da primeira infância (CPI);
6. As crianças com desnutrição energético-proteica (DEP) não demonstram um maior risco à cárie da primeira infância (CPI), na presença dos diversos fatores de risco avaliados.

## REFERÊNCIAS

- ABBEY, L. M. Is breast feeding a likely cause of dental caries in young children? **Am. Dent. Assoc.**, v. 98, n. 1, p. 21-23, Jan. 1979.
- AGARWAL, P. K.; AGARWAL, K. N.; AGARWAL, D. K. Biochemical changes changes in saliva of malnourished children. **Am. J. Clin. Nutr.**, v. 39, n. 2, p. 181-184, Feb. 1984.
- AGUIRRE, A.; TESTA-WEINTRAUB, L. A.; BANDEIRA, J. A.; HARASZTHY, G. G.; REDDY, M. S.; LEVINE, M. J. Sialochemistry: A diagnostic tool? **Crit. Rev. Oral Biol. Med.**, v. 4, n. ¾, p. 343-350, 1993.
- AIRES, C. P.; TABCHOURY, C. P.; DEL BEL CURY, A. A.; KOO, H.; CURY, J. A. Effect of sucrose concentration on dental biofilm formed in situ and on enamel demineralization. **Caries Res.**, v. 40, n. 1, p. 28-32, 2006.
- AJDIC, D.; MCSHAN, W.M.; MCLAUGHLIN, R.E.; SAVIC, G.; CHANG, J.; CARSON, M.B. *et al.* Genome sequence of *Streptococcus mutans* UA 159, a cariogenic dental pathogen. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, v. 99, n. 22, p. 14434-14449, Oct. 2002.
- AKIYOSHI, N.; ROCHA, R. S. S.; ROSA, O. P. S.; TORRES, S. A. Quantificação da IgA secretora e sua correlação com os níveis salivares de streptococos mutans e lactobacilus em crianças de 7-8 anos de idade. **Rev. Odontol. Univ. São Paulo**, v. 12, n. 2, p. 129-136, abr./jun. 1998.
- ALALUUSUA, S.; RENKONEN, O. V. *Streptococcus mutans* establishment and dental caries experience in children from 2 to 4 years old. **Scand. J. Dent. Res.**, v. 91, n. 6, p. 453-457, Dec. 1983.
- ALAMOUDI, N.; FARSI, F.; FARIS, J.; MASOUD, I.; MERDAD, K.; MEISHA, D. Salivary characteristics of children and its relation to oral microorganism and lip mucosa dryness. **J. Clin. Pediatr. Dent.**, v. 28, n. 3, p. 239-248, 2004
- ALFANO, M. C. Nutrição na cárie dentária. In: MENARKER L. **Cárie dentária: base biológica**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1984. cap.16, p. 302.
- ALMSTAHL, A.; WIKSTRO, M. Oral microflora in subjects with reduced salivary secretion. **J. Dent. Res.**, Chicago, v. 78, n. 8, p. 1410-1416, 1999.
- ALVAREZ, J. O.; CACEDA, J.; WOOLLEY, T. W.; CARLEY, K. W.; BAIOCCHI, N.; CARAVEDO, L.; NAVIA, J. M. A longitudinal study of dental caries in the primary teeth of children who suffered from infante malnutrition. **J. Dent. Res.**, v. 72, n. 12, p. 1573-1576, Dec. 1993.
- ALVAREZ, J. O.; EGUREN, J. C.; CACEDA, J.; NAVIA, J. M. The effect of nutritional status on the age distribution of dental caries in the primary teeth. **J. Dent. Res.**, v. 69, n. 9, p. 1564-1566, Sept. 1990.

ALVAREZ, J.; NAVIA, J. M. Nutricional status, tooth eruption, and dental caries. **Am. J. Clin. Nutr.**, v. 49, p. 417-426, 1989.

AMERICAN ACADEMY OF PEDIATRICS. **Definitions, oral health policies, and clinical guidelines: policy on early childhood caries (ECC): classifications, consequences, and preventive strategies.** 2007. Disponível em: <[http://www.aapd.org/media/Policies\\_Guidelines/P\\_ECCClassification.pdf](http://www.aapd.org/media/Policies_Guidelines/P_ECCClassification.pdf)>. Acesso em: 25 Nov. 2008.

AMERONGEN, N. A.; BOLSCHER, J. G. M.; VEERMAN, E. C. I. Salivary proteins, protective and diagnostic value in cariology? **Caries Res.**, v. 38, p. 247-253, 2004.

ANGELIS, R. C. de. Métodos biológicos de avaliação do valor nutricional de proteínas. **Alimentação**, São Paulo, n. 50, p. 51-54, 1980.

ANTENER, I.; TONNEY, G.; VERWILGHEN, A. M.; MAURON, J. Biochemical study of malnutrition. Part IV. Determination of amino acids in the serum, erythrocytes, urine and stool ultrafiltrates. **Int. J. Vitam. Nutr. Res.**, v. 51, n. 1, p. 64-78, 1981.

ANTUNES-NETO, J. M.; TOYAMA, M. H.; CARNEIRO, E.M.; BOSCHERO, A. C.; PEREIRA-DA-SILVA, L.; MACEDO, D. V. Leucócitos circulantes proteína de choque térmico 70 (HSP70) e marcadores do estresse oxidativo em ratos depois de um turno de exaustivos exercícios. **Stress**, v. 9, p. 107-115, 2006.

ARAÚJO, F. B. Dente erupcionado deve ser selado? *In:* \_\_\_\_\_. **Atualização na clínica odontológica.** São Paulo: Artes Médicas, 1994. p.197-203.

ARNOLD, R. R.; COLE, M. F.; PRINCE, S.; MCGHEE, J. R. Secretory IgM antibodies to *Streptococcus mutans* in subjects with selective IgA deficiency. **Clin. Immunol. Immunopathol.**, v. 8, p. 475-486, Nov. 1977

ARRUDA, B. K. G.; ARRUDA, I. K. G. Aspectos geopolíticos e epidemiológicos da desnutrição. *In:* FIGUEIRA, F.; SCHWAMBACH, O. F.; ALVES, J. G. B. **Pediatria-IMIP.** Rio de Janeiro: Ed. Médica e Científica, 1996. p. 70.

ASHWORTH, A.; SCHOFIELD, C. Latest developments in the treatment of severe malnutrition in children. **Nutrition**, v. 14, p. 244-245, 1998.

ATKISON, J. C.; BAUM, B. Salivary enhancement: current status and future therapies. **J. Dent. Educ.**, v. 65, n. 10, p 109-110, 2001

AYAD, M.; VAN WUYCKHUYSE, B. C.; MINAGUCHI, K.; RAUBERTAS, R. F.; BEDI, G. S.; BILLINGS, R. J. A. *et al.* The association of basic proline-rich peptides from human parotid gland secretions with caries experience. **J. Dent. Res.**, v. 79, n. 4, p. 976-982, 2000.

AYHAN, H. Influencing factors of nursing caries. **J. Clin. Pediatr. Dent.**, v. 20, n. 4, p. 313-316, Summer 1996.

AZEN, E. A. Genetics of salivary protein polymorphisms. **Crit. Rev. Oral Biol. Med.**, Alexandria, v. 4, n. 3/4, p. 479-485, 1993.

BANDERAS-TARABAY, J. A.; GONZALEZ-BEGNE, M.; SANCHEZ GARDUNO, M.; MILLAN-CORTEZ, E.; LOPEZ-RODRIGUEZ, A.; VILCHIS-VELASQUEZ, A. Flujo y concentración de proteínas em saliva total humana. **Salud Publica Mex.**, v. 39, n. 5, p. 433-441, 1997.

BARBOSA, A. R. S.; MEDEIROS, U. V. Correlação entre experiência de cáries e níveis salivares de estreptococos grupo mutans em bebês de 06-36 meses de idade. **Rev. Bras. Odontol. (RBO)**, Rio de Janeiro, v. 57, n. 4, p. 246-249, 2000.

BARROS, S. G.; CASTRO ALVES, A.; PUGLIESE, L. S.; REIS, S. R. A. Contribuição ao estudo da cárie dentária em crianças de 0-30 meses. **Pesqui. Odontol. Bras.**, São Paulo, v. 15, n. 3, p. 215-222, jul./set. 2001.

BATISTA FILHO, M. Alimentação, nutrição. *In*: ROUQUAYROL, M. Z.; ALMEIDA FILHO, N. **Epidemiologia & saúde**. 6. ed. Rio de Janeiro: Medsi, 2003. cap. 13, p. 389-414.

BATISTA. FILHO, M. Introdução à nutrição. *In*: FIGUEIRA, F.; SCHWAMBACH, O. F.; ALVES, J. G. B. **Pediatria-IMIP**. Rio de Janeiro: Ed. Médica e Científica Ltda, 1996. p. 68.

BATTISTONE, G. C.; BURNETT, G. W. The free amino acid composition of human saliva. **Oral Biol.**, v. 3 p. 161-170, 1961.

BAUGHAN, L. W.; ROBERTELLO, F. J.; SARRETT, D. C.; DENNY, P. A.; DENNY, P. C. Salivary mucins as related to oral Streptococcus mutans in elderly people. **Oral Microbiol. Immunol.**, v. 15, n. 1, p. 10-14, 2000

BEIGHTON, D. The complex oral microflora of high-risk individuals and groups and its role in the caries process. **Community Dent. Oral Epidemiol.**, v. 33, p. 248-255, 2005.

BERKOWITZ, R. J.; Cause treatment and prevention of early childhood caries. **J. Can. Dent. Assoc.**, v. 69, p. 304-307, 2003.

BERKOWITZ, R. J.; TURNER, J.; GREEN, P. Maternal salivary levels of Strepto-coccus mutans na primary oral infection of infants. **Arch. Oral Biol.**, v. 26, n. 2, p. 147-149, Feb. 1981.

BEZERRA, A. C. B.; TOLEDO, O. A. Nutrição, dieta e cárie. *In*: KRIEGER, L. (Coord.). **ABOPREV: promoção de saúde bucal**. São Paulo: Artes Médicas, 1997. cap.3, p.43-67.

BHASKAR, S. N. **Histologia e embriologia oral de Orban**. São Paulo: Artes Médicas, 1978.

BORSOI, M. A. **Nutrição e dietética: noções básicas**. São Paulo: SENAC-SP, 2001.

BOTTENBERG, P.; DECLERCK, D.; GHIDEY, W.; BOGAERTS, K.; VANOBBERGEN, J.; MARTENS, L. Prevalence and determinants of enamel fluorosis in Flemish schoolchildren. **Caries Res.**, v. 38, n. 1, p. 20-28, Jan./Feb. 2004.

- BOWDEN, G.; EDWARDSON, S. Ecologia oral e a cárie dentária. *In*: THYLSTRUP, A.; FEJERSKOV, O. **Cariologia clínica**. São Paulo: Ed. Santos, 1995. p. 45-62.
- BOWEN, W. H. Response to Seow: biological mechanisms of early childhood caries. **Community Dent. Oral Epidemiol.**, v. 26, n. 1, p. 28-31, 1998.
- BRAIDO, C. A.; YASSUDA, L. Y. W. Anormalidades de calcificação dentária (hipoplasia de esmalte). **Ped. Mod.**, v. 26, n. 2, p. 103-116, 1991.
- BRASIL. Ministério da Saúde. **Aconselhar a mãe ou ao acompanhante**: curso de capacitação: atenção integrada às doenças prevalentes da infância. Brasília, DF: OPAS/OMS/UNICEF, 1997a.
- BRASIL. Ministério da Saúde. **Metas governamentais para o ano 2000**. Brasília, 1996.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. Coordenação Nacional de Saúde Bucal. Projeto SB Brasil 2003. **Condições de saúde bucal da população brasileira**. Brasília, DF, 2002-2003.
- BRUNO, G. B.; BARBOSA, M. B. C. B.; CALVALCANTE, C. G.; RIBEIRO, D. C.; MENEZES, V. A. Prevalência de cárie dentária em crianças desnutridas na cidade de Fortaleza. **Rev. Iberoam. Odontopediat. Odontol. Bebê**, v. 9, n. 51/52, p. 384-391, 2006.
- CARLSON, B. A.; WORDLAW, T. U. **A global regional and country assessment of child malnutrition**. New York: UNICEF, 1990. (Staff working papers, n. 7).
- CARLSSON, P.; OLSSON, B.; BRATTHALL, D. The relationship between the bacterium *Streptococcus mutans* in the saliva and dental caries in children in Mozambique. **Arch. Oral Biol.**, v. 30, n. 3, p. 265-268, 1985.
- CARVALHO, C. K.; BEZERRA, A. C. Microbiological assessment of saliva from children subsequent to atraumatic restorative treatment (ART). **Int. J. Paediatr. Dent.**, v. 13, n. 3, p. 186-192, 2003.
- CAUFIELD, P. W.; CUTTER, G. R.; DASANAYAKE, A. P. Initial acquisition of mutans streptococci by infants: evidence for a discrete window of infectivity. **J. Dent. Res.**, v. 72, n. 1, p. 37-45, Jan. 1993.
- CAUFIELD, P. W.; GRIFFEN, A. L.; Dental caries: an infectious and transmissible disease. **Pediatr. Clin. North Am.**, v. 47, n. 5, p. 1001-1019, 2000.
- CAUFIELD, P. W.; RATANAPRIDAKUL, K.; ALLEN, D. N.; GUTTER, G. R. Plasmid-containing strains of streptococcus mutans cluster family and racial cohorts: implication in natural transmission. **Infect. Immun.**, v. 56, n. 12, p. 3216-3220, Dec. 1988
- CEARÁ. Secretária de Saúde do Estado. **Levantamento Epidemiológico em Saúde Bucal no Estado do Ceará**: resultados finais. Fortaleza, 2004.

COSME, P.; MARQUES, P. F. Cáries Precoces de Infância: uma revisão bibliográfica. **Rev. Port. Estomatol. Cir. Maxilofac.**, v. 46, p. 109-116, 2005.

CURY, J. A. Uso do flúor e controle da cárie como doença. *In:* BARATIERI, L. N. (Ed.). **Odontologia restauradora: fundamentos e possibilidades**. São Paulo: Santos, 2001. p. 32-67.

CURY, J. A. Uso do flúor. *In:* BARATIERI, L. N.; ANDRADA, M. A. C.; MONTEIRO JÚNIOR, S. **Dentística: procedimentos preventivos e restauradores**. Rio de Janeiro: Quintessence, 1989. p. 43-67.

CURY, J. A.; HASHIZUME, L. N.; DEL BEL CURY, A. A.; TABCHOURY, C. P. M. Effect of dentifrice containing fluoride and/or baking soda on enamel demineralization/remineralization: a in situ study. **Caries Res.**, v. 35, n. 2, p. 106-110, Mar./Apr. 2001.

D'AVILA, E. M. M. Estudo epidemiológico de alguns problemas nutricionais. *In:* GOUVEIA, E. L. C. **Nutrição-Saúde & Comunidade**. 2. ed. Rio de Janeiro: Revinter, 1999. cap 1, p. 1-26.

DAVIES, G. N. Early childhood caries- a synopsis. **Community Dent. Oral Epidemiol.**, v. 26, n. 1 suppl., p. S106-S116, 1998.

DAWES, C.; JENKINS, G. N.; TONGE C. H. The nomenclature of the integument of the enamel surface of the teeth. **Br. Dent. J.**, v. 115, p. 65-68, 1963.

DEGANO, M. P.; DEGANO, R. A. Breast feeding and oral health. A primer for dental practitioner. **NY State Dent. J.**, v. 59, n. 2, p. 30-32, Feb. 1993.

DELGGHINGARO-AUGUSTO, V.; BORDIM, S.; FERREIRA, F.; do AMARAL, M.E.C.; TOYAMA, M. H.; BOSCHERO, A. C. *et al.* Low protein diet induced alteration in gene expression in rat pancreatic islets. **J. Nutr.**, v. 134, n. 2, p. 321-327, Feb. 2004.

DEVINCENZI, M. U.; LESSA, A. C.; SIGULEM, D. M. Nutrição em saúde pública. *In:* LOPEZ, F. A.; BRASIL, A. L. D. **Nutrição e dietética em clínica pediátrica**. São Paulo: Atheneu, 2004. cap 5, p. 127-137.

DI REIS, I. T.; MOREIRA, S. C. Risco de cárie em bebês. **Robrac**, v. 5, n. 14, p. 11-17, mar. 1995.

DINI, E. L.; HOLT, R. D.; BEDI, R. Caries and its association with infant feeding and oral health-related behaviours in 3-4- year-old Brazilian children. **Community Dent. Oral Epidemiol.**, Copenhagen, v. 28, n. 4, p. 241-248, Aug. 2000.

DOWD, F. J. Saliva and dental caries. **Dent. Clin. North Am.**, v. 43, n. 4, p. 579-597, Oct. 1999.

DRURY, T. F.; HOROWITZ, A. M.; ISMAIL, A. I.; MSERTENS, M. P.; ROZIER, R. G.; SELWITZS, R. H. Diagnosing and reporting early childhood caries for research purposes. **J. Public Health Dent.**, v. 59, n. 3, p. 192-197, 1999.

- DUARTE, R. C. **Prevalência de cárie na dentição decídua em crianças nutridas e desnutridas da Grande João Pessoa com base no índice ceo-s.** 1992. 115 p. Dissertação (Doutorado) - Faculdade de Odontologia de Pernambuco, Universidade de Pernambuco, Camaragibe, 1992.
- EDGAR, W. M.; O'MULLANE, D. M. **Saliva and dental health.** London: British Dental Journal Pub., 1990
- EKSTRAND, J.; BOREUS, L. O.; DE CHATEAU, P. No evidence of transfer of fluoride from plasma to breast milk. **Br. Med. J.**, v. 293, p. 761-762, 1981.
- EL-SHOBAKI, F. A.; IBRAHIM, A.; EL-HAWARY, M. F.; SAKR, R.; SAID, A. Salivary amino acids and proteins in normal and malnourished Egyptian infants and young children. **Z. Ernährungswiss**, v. 17, n. 1, p. 19-25, 1978
- ERICSSON, Y.; ERICSSON, T.; BRATTHALL, D.; SALIVEN, O. C. H. Karies. *In*: ERICSSON, Y. **Kariologiske principer klinical inventigations.** Stockholm: [s.n.], 1980. p. 163-186.
- ERSIN, N.K.; ERONAT, N.; CONGULU, D.; UZEL, A. ; AKSIT, S. Association of maternal-Child characteristics as a factor in early childhood caries and salivary bacterial counts. **J. Dent. Child**, v. 73, p. 105-111, 2006.
- FAGUNDES, A. L. A.; LEITE, I. C. G. Inter-relações entre dieta, história de cárie, saliva e função intestinal em crianças de 5 a 13 anos em Descoberto, Minas Gerais. **Rev. CRO-MG**, v. 6, n. 1, p. 18-23, 2000.
- FARIAS, D. G.; BEZERRA, A. C. B. Salivary antibodies, amylase and protein from children with early childhood caries. **Clin. Oral Invest.**, v. 7, p. 154-157, 2003.
- FEJESSKOV, O. Changing paradigm in concepts on Dental Caries consequences for Oral Health Care. **Cares Res**, v. 38, p. 182191, 2004.
- FERNANDES, F. R. C.; FERNANDES, F. R.; NAGAO, A. T.; ZELANTE, F.; CARNEIRO-SAMPAIO, M. M. Dental caries and anti-Streptococcus mutans antibodies in IgA deficient children. **Adv. Exp. Med. Biol.**, v. 371B, p. 1145-1148, 1995.
- FONTELES, C. S. R.; GUERRA, M. H.; RIBEIRO, T. R.; MENDONÇA, D. N.; CARVALHO, C. B. M.; MONTEIRO, A. J. Association of free proline and glycine with caries experience and *mutans streptococci* levels in whole saliva of children with early childhood caries. **Arch. Oral Biol.**, 2008. No prelo.
- FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS (FAO). **Assessment of the World Food Security Situation.** Rome, 2001.
- FOX, P. C.; VAN DER VEM, P. F.; SONIES, B. C.; WEIFFENBACH, J. M.; BAUM, B. J. Xerostomia: evolution of a Symptom With increasing significance. **J. Am Dent. Assoc.**, v. 110, p. 519-525, 1985.

FRANCESCA, B.; AJELLO, M.; BOSSO, P.; MOREA, C.; ANDREA, P.; GIOVANNI, A.; PIERA, V. Bothe lactoferrin and iron influence aggregation and biofilm formation in *Streptococcus mutans*. **Biomaterials**, v. 17, n. 3, p. 271-278, 2004.

FUJIWARA, T.; SASADA, E.; MIMA, N.; OOSHIMA, T. Caries prevalence and salivary mutans streptococci in 0-2-year-old children of Japan. **Community Dent. Oral Epidemiol.**, v. 19, n. 3, p. 151-154, 1991.

FUNDO DAS NAÇÕES UNIDAS PARA A INFÂNCIA (UNICEF). **Situação Mundial da Infância, 1998**: a nutrição em foco. Brasília, 1998.

GARCIA, R. F.; GAZOLA, V. A. F. G.; BARRENA, H. C.; HARTMANN, E.M.; BERTI, J.; TOYAMA, M. H. *et al.* Blood amino acids concentration during insulin induced hypoglycemia in rats: the role of alanine and glutamine in glucose recovery. **Amino acids**, v. 33, p. 151-155, 2007.

GARROW, J. S.; FLETCHER, K.; HALLIDAY, D. Body composition in severe infantile malnutrition. **J. Clin. Invest.**, v. 44, p. 417-425, 1965.

GENESTRA, M. S.; SOUZA, M. R. Avaliação da capacidade-tampão da saliva por titulometria–Estudo comparativo. **Rev. ABO Nac.**, v. 9, n. 1, p. 28-32, fev./mar. 2001.

GIBSON, G. Identifying and treating xerostomia in restorative patiente. **J. Esthet. Dent.**, Ontario, v.10, n. 5, p. 253-264, 1998.

GINDZIENSKI, A.; ZWIERZ, K.; SAROSIEK, J.; GINDZIENSK, A. The role of mucus and its components in protection and repair within the alimentary tract mucosa: polish experience. **J. Physiol. Pharmacol.**, v. 54, supl. 3, p. 127-144, Dec. 2003.

GOLD, O. G.; JORDAN, H. V.; VASN HOUTE, J. A selective medium for *Streptococcus matans*. **Arch. Oral Biol.**, v. 18, p 1357-1364,1973.

GOLDBERG, H. J. V.; GILDA, J. E.; TISHKOFF, G. H. Paper partition chromatography: free amino acids in saliva. **J. Dent. Res.**, v. 6, p.127-493. 1948.

GOMES, M. P.; SOUZA, I. P. R.; MODESTO, A.; RUSCHEL, H. C. Fatores envolvidos no desenvolvimento da cárie de amamentação. **Rev. APCD**, v. 50, n. 6, p. 497-501, nov./dez. 1996.

GONÇALVES, A. F.; FERREIRA, S. L. M. Defeitos hipoplásicos do esmalte dentário. **Rev. Odonto. Univ .Santo Amaro**, v. 5, n. 1, p. 13-20, 2000.

GOLDEN, M. H. N.; WATERLOW, J. C.; PICAU, D. Protein turnover, synthesis and breakdown before and after recovery from protein energy malnutrition. **Clin. Sci. Med.**, v. 53, p.473-477, 1977.

GOODMAN, A. H.; MARTINSES, C.; CHAVEZ, A. Nutritional supplementation and the development of linear enamel hypoplasias in children from Tezonteopan, México. **Am. J. Clin. Nutr.**, v. 53, n. 3, p. 773-781, 1991.



GREGORY, R. L.; KINDLE, J. C.; HOBBS, L. C.; FILLER, S. J.; MALMSTROM, H. S. Function of anti-*Streptococcus mutans* antibodies: inhibition of virulence factors and enzyme neutralization. **Oral Microbiol. Immunol.**, v. 5, p. 181-188, Aug. 1990.

GRIFFIN, S. O.; GOOCH, B. F.; BELTRAN, E.; SUTHERLAN, J. N.; BARSLEY, R. Dental services, costs, and factors associated with hospitalization for Medicaid – eligible children, Louisiana 1996-97. **J. Pub. Health Dent.**, v. 60, p. 21-27, 2000.

HAJISHENGALLIS, G.; MICHALEK, S.M. Current status of mucosal vaccine against dental caries. **Oral Microbiol. Immunol.**, v. 14, p. 1-20, 1999.

HALLIDAY, D. Chemical composition of the whole body end individual tissues of two jamaican children whose death resulted primarily from malnutrition. **Clin. Sci.**, v. 33, p. 365-370, 1967.

HANSEN-SMITH, F. M.; PICAU, D.; GOLDEM, M. Growth of muscle fibres during recovery from severe mal-nutrition in Jamaican infants. **Br. J. Nutr.**, v. 41, p. 275-282, 1976.

HARDLEY, E. P. *apud* PINELLI, C.; LOFFREDO, L. C. M.; SERRA, M. C. Reprodutibilidade de um teste microbiológico paraestreptococos do grupo mutans. **Pesq. Odont. Bras.**, São Paulo, v. 14, n. 1, p.13-18, jan./mar. 2000.

HARRIS, R.; NICOLL, A. D.; ADAIR, P. M.; PINE, C. M. Risk factors for dental caries in young children: a systematic review of the literature. **Community Dent. Health**, v. 21, suppl., p. S71-S85, 2004.

HASTY, D. L.; OFEK, I.; COURTNEY, H.S.; DOYLE, R.J. Multiple adhesins of streptococci. **Infect. Immun.**, v. 60, p. 2147-2152, 1992.

HELLER, K. E.; EKLUND, S. A.; PITTMAN, J.; ISMAIL, A. I. Associations between dental treatment in the primary and permanent dentitions using insurance claims data. **Pediatr. Dent.**, v. 22, p. 469-474, 2000.

HOLT, R. D.; JOELS, D.; WINTER, G. B. Caries in pre-school children- Camden study. **Br. Dent. J.**, v. 153, p. 107-110, 1992.

HOROWITZ, H. S. Research issues in early childhood caries. **Community Dent. Oral Epidemiol.**, v. 26, n. 1 suppl, p. 67-81, 1998.

INFANTE, P. F.; GILLESPIE, G. M. Dental caries experience in the deciduous dentition of rural Guatemalan children ages 6 months to 7 years. **J. Dent. Res.**, v. 55, n. 6, p. 951-57, Nov./Dec. 1976.

IVNITSKI, D.; SITDYKOV, R.; IVNITSKI, N. Hand-held amperometric sensor for saliva and other oral fluid-based diagnostics. **Anal. Chim. Acta**, v.504, p. 265-269, 2004.

JACQUES, N. Molecular biological techniques and their use to study *streptococci* in dental caries. **Austr. Dent. J.**, v.43, n.2, p.87- 98, Apr.1998.

JENKINS, G. N. Current concepts concerning the development of dental caries. **Int. Dent. J.**, v. 22, p. 350, 1972

JOHONSON, I.; LENANDER-LUMIKARI, M.; SAELLSTROM, A. K. Saliva composition in Indian children with chronic protein-energy malnutrition. **Dent. Res.**, v. 73, n. 1, p. 11, 1994.

JOHONSON, I.; SAELLSTRON, A. K.; RAJAN, B. P. Parameswaran A. Salivary flow and dental caries in Indian children suffering from chronic malnutrition. **Caries Res.**, v. 26, p. 38-43, 1992.

KAN, T. A.; SHIPE, N. F. Modification and evaluation of a reversed phase high performance liquid chromatographic method for amino acid analysis. **J. Food Sci.**, Chicago, v. 46, p. 337-341, 1981.

KAUFMAN, E.; LAMSTER, I. B. Analysis of saliva for periodontal diagnosis-a review. **J. Clin. Periodontol.**, v. 27, p. 453-465, 2000.

KERR, D. S.; STEVENS, M. C. G.; ROBINSON, H. M. Fasting nitrogen balance in infants, j. Effect of severe undernutrition on energy and protein utilization. **Metabolism**, v. 27, p. 411-435, 1978.

KEYES, P. H. Present and future measures for dental caries control. **J. Am. Dent. Assoc.**, v. 79, p. 1395-1404, 1969.

KILBERG, M. S.; PAN, Y-X.; CHEN, H.; LEUNG-PINEDA, V. Nutritional control of gene expression: How mammalian cells respond to amino acid limitation. **Ann. Rev. Nutr.**, v. 25, p. 69-85, 2005.

KING, J. M. Patterns of sugar consumption in early infancy. **Community Dent. Oral Epidemiol.**, v. 6, n. 2, p. 47-52, Mar. 1978.

KIPP, B.; BELITZ, H. D.; SEILMEIER, W.; WIESER, H. Comparative studies of high Mr. subunits of rye and wheat. I. isolation and biochemical characterization and effects on gluten extensibility. **J. Cereal Sci.**, v. 23, n. 3, p. 227-234, 1996

KIRCH, E. R.; KESEL, R. G.; O'DONNELL, J. F.; WACH, E. C. Amino acids in human saliva. **J. Dent. Res.**, v. 26, p. 279-301, 1947.

KIRCH, E. R.; KESEL, R. G.; O'DONNELL, J. F.; WACH, E. C. Amino acids in saliva of human beings on a low protein diet. **J. Dent. Res.**, v. 29, n. 6, p. 779-783, 1950.

KLEIN, M. I.; FLORIO, F. M.; PEREIRA, A. C.; HOFLING, J. F.; GONÇALVES, R. B. Longitudinal study of transmission, diversity, and stability of *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sobrinus* genotypes in Brazilian nursery children. **J. Clin. Microbiol.**, v. 42, p. 4620-4626, 2004.

KLOCH, B.; KRASSE, B. A comparison between different methods for prediction of caries activity. **Scand. J. Dent. Res.**, v. 87, p. 129-139, 1979.

- KOHLER, B.; BRATTHALL, D. Intrafamilial levels of *Streptococcus mutans* and some aspects of the bacterial transmission. **Scand. J. Dent. Res.**, v. 86, p. 35-42, 1978.
- KOHLER, B.; BRATTHALL, D.; KRASSE, B. Preventive measures in mothers influence the establishment of the bacterium *streptococcus mutans* in their infants. **Arch. Oral Biol.**, v. 28, p. 225-231, 1983.
- KONEMAN, E. W.; ALLEN, S. D.; JANDA, W. M.; SCHRECKENBERGER, P. C.; WINN JR., W. C. **Diagnostic microbiology**. 5th ed. Rio de Janeiro: MEDSI-Editora Médica e Científica, 2001.
- KRAMER, P. F.; FELDENS, C. A. **Traumatismo na dentição deciduas**: prevenção, diagnóstico e tratamento. São Paulo: Ed. Santos, 2005.
- KROLL, R. G.; STONE, J. H. Nocturnal bottle feeding as a contributory cause of rampant caries in the infant and young child. **J. Dent. Child**, v. 34, p. 454-459, Nov. 1967.
- LAGERLÖF, F.; OLIVEBY, A. Caries-protective factors in saliva. **Adv. Dent. Res.**, v. 8, n. 2, p. 229-238, July 1994.
- LAJOLO, F. M.; TIRAPÉGUI, J. Proteínas e aminoácidos. *In*: OLIVEIRA, J. E. D. de. **Ciências nutricionais**. São Paulo: Sarvier, 1998. cap. 3, p.41-65.
- LAJOLO, F. M.; TRAPÉGUI, J. Ciências Naturais *In*: DUTRA-DE-OLIVEIRA, J. E. MARCHINI, J. S. **Ciências nutricionais**. São Paulo: Sarvier, 2003. cap. 3, p. 41-68.
- LAMY, M.; MAJON, P. H.; KALYKAKIS, G.; LEGRAND, R.; BUTZ-JORGENSEN, E. Oral status and nutrition in the institutionalized elderly. **J. Dent.**, v. 27, n. 6, p. 443-448, 1999.
- LENANDER-LUMIKARI, M.; LOIMARANTA, V. Saliva and dental carie. **Dent. Res.**, v. 14, p. 40-47, 2000.
- LEONE, C.; OPPENHEIM, F. Physical and chemical aspects of saliva as indicators of risk for dental caries in humans. **J. Dent. Educ.**, v. 65, n. 10, p 1054-1061, 2001.
- LEWIS, C. W.; GROSSMAN, D. C.; DOMOTO, P. K.; DEYO, R. A. The role of the pediatrician in the oral health of children: a national survey. **Pediatrics**, v. 106, n. 6, p. E84, Dec. 2000.
- LI, Y.; NAVIA, J. M. Caulfield PW: Colonization by *mutans streptococci* in the mouths of 3- and 4-year-old Chinese children with or without enamel hypoplasia. **Arch.Oral Biol.**, v. 39, p. 1057-1062, 1994.
- LI, Y.; NAVIA, J. M.; BIAN, J. Y. Caries experience in deciduous dentition of rural Chinese children 3-5 years old in relation to the presence or absence of enamel hipoplasia. **Caries Res.**, v. 30, n. 1, p. 8-15, 1996.
- LI, Y.; WANG, W.; CAUFIELD, P. W. The fidelity of *mutans streptococci*

transmission and caries status correlate with breast-feeding experience among Chinese families. **Caries Res.**, v. 34, n. 2, p. 123-132, 2000.

LIAPPIS, N.; HILDEBRAND, F. Freie Amino-sauern Gesamtspeichl gesunder Kinder, Einfluss vor Karies. **Zahn-Mund-Kieferheilkunde Bd.**, v. 70, p. 829-835, 1982.

LIENEA-PUY, M. C.; MONTANANA-LIORENS, C.; FORNER-NAVARRO, I. Cariogenic oral flora and jts relation to dental caries. **J. Dent. Child**, v. 42, p. 67-69. 2000.

LIU, B.; LAGUE, J. R.; NUNES, D. P.; TOSELLI, P.; OPPENHEIM, F. G.; SOARES R. V. *et al.* Expression of membrane-associated mucins MUC1 and MUC4 in major human salivary glands. **J. Histochem. Cytochem.**, v. 50, n. 6, p. 811-820, 2002.

LOESCHE, W. Role of streptococcus mutans in human dental decay. **Microbial. Rev.**, v. 50, p. 353-380, 1986.

LORENZO, J. L.; LORENZO, A. Etiologia da cárie dental: base da prevenção atual. *In:* CARDOSO, R. J. A.; GONÇALVES, E. A. N. **Odontopediatria: prevenção.** São Paulo: Artes Médicas, 2002.

MAIA, M. C. G.; SAMPAIO, H. A. C.; SILVA, C. A. B. **Saúde bucal coletiva: metodologia de trabalho e práticas.** 1. ed. São Paulo: Santos, 2006.

MANDEL, I. D. The diagnostic uses of saliva. **J. Oral Pathol. Med.**, Copenhagen, v. 19, n. 3, p. 119-125, Mar. 1990.

MATTOS-GRANER, R. O.; CORRÊA, M. S.; LATORRES, M. R.; PERES, R. C.; MAYER, M. P. *Mutans streptococci* oral colonization in 12-30-month-old Brazilian children over a one-year follow-up period. **J. Public HealthDent.**, Richmond, v. 61, n. 3, p.161-167, Summer 2001b.

MATTOS-GRANER, R. O.; JIN, S.; KING, W. F.; CHEN, T.; SMITH, D. J.; DUNCAN, M. J. Cloning of the Streptococcus mutans gene encoding glucan binding protein B and analysis of genetic diversity and protein production in clinical isolates. **Infect. Immun.**, v. 69, n. 11, p. 6931-6941, 2001a.

MATTOS-GRANER, R. O.; LI, Y.; CAUFIELD, P. W.; DUNCAN, M.; SMITH, D. J. Genotypic diversity of mutans streptococci in Brazilian nursery children suggests horizontal transmission. **J. Clin. Microbiol.**, v. 39, n. 6, p. 2313-2316, June 2001.

MATTOS-GRANER, R. O.; ZELANTE, F.; LINE, R. C.; MAYER, M. P. Association between caries prevalence and clinical microbiological and dietary variables in 1,0 to 2,5-year-old Brazilian children. **Caries Res.**, v. 32, p.319-323, 1998.

MCDONALD, R. E.; AVERY, D. R.; STOOKEY, G. K. Carie dentária na criança e no adolescente. *In:* McDONALD, R. E.; AVERY, D. R. (Ed.). **Odontopediatria.** 7. ed. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, 2001. p. 151-177.

MEHROON, N. K.; CLEATON-JONES, P. E. Dental caries in peschool children: social factors as disease makers. **J. Publ. Health Dent.**, v. 58, p. 7-11, 1998.

MENAKER, L.; NAVIA, J. M. Effect of undernutrition during the perinatal period on caries development in the rat: II. Cáries susceptibility in underfed rats supplemented with protein or caloric additions during the suckling period. **J. Dent. Res.**, v. 52, n. 4/6, p. 680-687, July 1973.

MILGROM, P.; RIEDY, C. A.; WEINSTEIN, P.; TANNER, A. C. R.; MANIBUSAN, L.; BRUSS, J. Dental caries and its relationship to bacterial infection, hypoplasia, diet, -and oral hygiene in 6-to 36-month-old children. **Community Dent. Oral Epidemiol.**, v. 28, p. 295-306, 2000.

MILLER, M. C.; TRUHE, T. F. Preventive dentistry for pediatric patients. **J. Calif. Dent. Assoc.**, v. 23, n. 2, p. 42-44, Feb. 1995.

MILLER, W.D. **The microorganisms of the human mouth**. Philadelphia: The S. S. White Dental Manufacturing Co.,1980.

MILNES, A. R. Descripton and epidemiology of nursing caries. **J. Public Health Dent.**, v. 4, p. 38-50, 1996.

MOBLEY, C. C. Nutrition and dental caries. **Dent. Clin. North Am.**, Philadelphia, v. 47, p. 319-336, 2003.

MOORE, S.; SPACKMAN, D. H.; STEIN, N. H. Chromatography of amino acids on sulfonated polystyrene resins. **Anal. Chem.**, v. 30, n. 7, p. 1185-1190, 1958.

MOURA, S. A. B. **Análises clínica, sialométrica e sialoquímica em indivíduos portadores da síndrome do ardor bucal**. 2004. 136 f. Tese (Doutorado em Estomatologia) - Universidade Federal da Paraíba, Universidade Federal da Bahia, João Pessoa, 2004.

MURRAY, P. R.; BARON, E. J.; JORGENSEN, J. H.; PFALLER, M. A.; YOLKEN, R. H. **Manual of clinical microbiology**. 8<sup>th</sup> ed. Washington: Asm Press, 2003.

NADANOVSKY, P. O declínio da cárie. *In*: PINTO, V. G. (Org.). **Saúde bucal coletiva**. São Paulo: Editora Santos, 2000. p. 341-351.

NAKAS, E.; ZUKANOVIC, A. A prevalência de cárie salivar microrganismo em crianças de diferentes idades. **Bosn. J. Basic Med. Sci.**, v. 7, n. 2, p. 166-170, May 2007.

NAPIMOGA, M. H.; HOFLING, J. F.; KLEIR, M. I.; KAMIYA, R. U.; GONSALVES, R. B. Transmission diversity and virulence factors of Streptococcus mutans genotypes. **J. Oral Sci.**, v. 47, n. 2, p. 59-64, 2005.

NAVIA, J. M. Prospects for prevention of dental caries,dietary factor. **J. Am. Dent. Assoc.**, v. 87, n. 5, p. 1010-1012, 1973.

NELSON, D. L.; COX, M. M. Aminoácidos, peptídeos e proteínas. *In*: \_\_\_\_\_. **Lehninger: princípios de bioquímica**. 3. ed. Rio de Janeiro: Sarvier, 2002. p. 89-122.

NEWBRUN, E. **Cariologia**. 2. ed. São Paulo: Santos, 1988. 326 p.

NOWAK, A.; CRALL, J. Prevencion de las enfermedades dentales. *In*: PINKHAM, J. R. (Ed.). **Odontologia pediátrica**. 2. ed. México: Nueva Editorial Interamericana, 1994. p. 198-215.

OHO, T.; MITOMA, M.; KOGA, T. Functional domain of bovine milk lactoferrin which inhibits the adherence of *Streptococcus mutans* cells to a salivary film. **Infect. Immun.**, v. 70, n. 9, p. 5279-5282, 2002.

OLIVEIRA, J. E.; SANTOS, A. C.; WILSON, E. D. **Nutrição básica**. São Paulo: Sarvier, 1982.

OLIVEIRA, J. E.; CUNHA, S. F.; MARCHINI, J. S. **A desnutrição dos pobres e dos ricos**: dados sobre a alimentação no Brasil. São Paulo: Sarvier, 1996.

OLIVEIRA, J. E. D. de. **Ciências nutricionais**. 1. ed. São Paulo: Sarvier, 1998.

OLIVEIRA, L. B.; SHEIHAM, A.; BONECKER, M. Exploring the association of dental caries with social factors and nutritional status in Brazilian preschool children. **Eur. J. Oral Sci.**, v. 116, p. 37-43, 2008.

OMEZ, S.; UZAMIS, M.; ERDEM, G. Association between early childhood caries and clinical, microbiological, oral hygiene and dietary variables in rural Turkish children. **Turk. J. Pediatr.**, v. 45, n. 3, p. 231-236, July/Sept. 2003.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE (OMS). **Manejo da desnutrição grave**: um manual para profissionais de saúde de nível superior (médicos, enfermeiros, nutricionistas e outros) e seus auxiliares. Brasília, 2000.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE (OMS). **Levantamentos básicos em saúde bucal**. 4. ed. São Paulo: Santos, 1999. 66 p.

PAPANAYOTOU, P. H.; DOZI-VASSILIADES. J.; KOVATSISS. A. Free amino acids in human saliva. **J. Dent. Res.**, v. 52, n.3, p. 418-419, 1973.

PAPAS, A. S.; PALMER, C. A.; ROUNDS, M. C.; RUSSELL, R. M. The effects of denture status on nutrition. **Special Care Dent.**, v. 18, p. 17-25, 1998.

PELLETIER, D. L.; FRONGILLO JR, E. A.; SCHROEDER, D. G.; HABICHT, J. P. The effects of malnutrition on child mortality in developing countries. **Bull. World Health Org.**, v. 73, n. 4, p. 443-448, 1995.

PIERCE, K. M.; ROZIER, R. G.; VANN, W. F. Accuracy of pediatric primary care providers' screening and referral for early childhood caries. **Pediatrics**, v. 109, n. 5, p. E82-E82, May 2002.

PINHEIRO, A. R. **Informações básicas a respeito da cárie, fatores etiológicos e aspectos preventivos**. Niterói: Universidade Federal Fluminense, Pró-Reitoria de Extensão, 1994.

POPULATION REFERENCE BUREAU (PRB). **Perfil de lactancia del mundo en desarrollo**. Washington, 1999. Proyecto Measure Communication.

POTOCZEK, S.; RZADKOWSKA-KAZMIERCZAK. Studies on the correlation between the presence of free amino acids in saliva and dental caries. **Pol. Med. J.**, v. 8, n. 4, p. 962-985, 1969.

PSOTER, W.; GEBRIAN. B.; PROPHETE. S.; REID, B.; KATZ, R. Effect of early childhood malnutrition on tooth eruption in Haitian adolescents. **Community Dent. Oral Epidemiol.**, v. 36, p. 179-183, 2008.

RAMOS-GOMEZ, F. J.; TOMAR, S. L.; ELLISON, J.; ARTIGA, N.; SINTES, J.; VICUNA, G. Assessment of early childhood caries and dietary habits in a population of migrant Hispanic children in Stockton, California. **ASDC J. Dent. Child.**, v. 66, p. 395-403, 1999.

RAMOS-GOMEZ, F. J.; WEINTRAUB, J. A.; GANSKY, S. A.; HOOVER, C. I.; FEATHERSTONE, J. D. Bacterial, behavioral, and environmental factors associated with early childhood caries. **J. Clin. Pediatr. Dent.**, v. 26, n. 2, p. 165-173, 2002.

REEDSR, P. J.; JACKSON, A. A.; PICAU, D.; PAULTER, N. Muscle mass end composition in malnourished infants end children and composition in malnourished infants end children and changes seen after recovery. **Pediatr. Res.**, v. 12, p. 613-618, 1978.

REILLY, T. G.; POXON, V.; SANDERS, D. S.; ELLIOTT, T. S.; WALT, R. P. Comparison of serum, salivary, and rapid whole blood diagnostic tests for *Helicobacter pylori* and their validation against endoscopy based tests. **Gut**, London, v. 40, n. 4, p. 454-458, Apr. 1997.

RIPPA, L. W. Nursing caries: a comprehensive review. **Pediatr. Dent.**, v. 10, n. 4, p. 268-282, Dec. 1988.

ROBERTS, G. J. Is breast feeding a possible cause of dental caries? **J. Dent.**, v. 10, n. 4, p. 346-352, Dec. 1982

ROMBEAU, J. L. Passado, presente e perspectivas do suporte nutricional. *In*: WAITZBERG, D. L. (Org.). **Nutrição enteral e parenteral na prática clínica**. 2. ed. São Paulo: Atheneu, 1998. p. 31-37.

RUGG-GUNN, A. J. Nutrition, diet and dental public health. **Community Dent. Health**, v. 10, p. 47-56, 1993.

RUGG-GUNN, A. J. Dieta e Cárie Dentária: a importância dos testes de cariogenicidade. **Biblioteca Científica ABOPREV**, São Paulo, v.2, p. 8-10, maio 1991

RUOFF, K. L.; WHILEY, R. A.; BEIGHTON, D. Streptococcus. *In*: MURRAY, P. R.; BARON, E. J.; JORGENSEN, J. W.; PFALLER, M. A.; YOLKEN, R. H. (Ed.). **Manual of clinical microbiology**. 8<sup>th</sup> ed. Washington, DC: ASM Press, 2003. p. 405-421.

SALES-PERES, S. H. C.; BASTOS, J. R. M. Perfil epidemiológico de cárie dentária em crianças de 12 anos de idade, residentes em cidades fluoretadas e não fluoretadas, na Região Centro-Oeste do Estado de São Paulo, Brasil. **Cad. Saúde Pública**, v. 18, n. 5, p. 1281-1288, set./dez. 2002.

SANTOS, M. N.; SANTOS, M. L.; FRANCISCO, S. B.; CURY, J. A. Relationship among dental plaque composition, daily sugar exposure and caries in the primary dentition. **Caries Res.**, v. 36, p. 347-357, 2002.

SAWYER, D. R.; NWOKU, A. L. Malnutrition and the oral health of children in Ogbomosho, Nigeria. **ASDC J. Dent. Child.**, v. 52, n. 2, p. 141-145, Mar./Apr. 1985.

SCHAFFER, T. E.; ADAIR, S. M. Prevention of dental disease. **Pediatr. Clin. North Am.**, v. 47, p. 1021-1042, 2000.

SEOW, W. K. Biological mechanisms of early childhood caries. **Community Dent. Oral Epidemiol.**, v. 26, n. 1 Suppl., p. 8-27, 1998.

SEOW, W. K. Enamel hipoplasia in the primary dentition: a review. **ASDC J. Dent. Child**, Chicago, v. 58, n. 6, p. 441-452, Nov./Dec. 1991.

SHEIHAM, A.; STEELE, J. G.; MARCENES, W.; LOWE, C.; FINCH, S.; BATES, C. J. *et al.* The relationship among dental status, nutrient intake, and nutritional status in older people. **J. Dent. Res.**, v. 80, p. 408-413, 2001.

SHELLER, B.; WILLIAMS, B. J.; LOMBARDI, S. M. Diagnosis and treatment of dental caries-related emergencies in a children's hospital. **Pediatr. Dent.**, v. 19, p. 470-475, 1997.

SILVA, R. C. Saliva: muitos cirurgiões dentistas não lhe dão a devida atenção. **Odont. Mod.**, v. 23, n. 1, p. 10-13, jan./mar. 1996.

SLAVKIN, H. C. Streptococcus mutans, early childhood caries and new opportunities. **J. Am. Dent. Assoc.**, v. 130, p. 1787-1792, 1999.

SMITH, D. J.; KING, W. F.; AKITA, H.; TAUBMAN, M. A. Association of salivary immunoglobulin A antibody and initial mutans streptococcal infection. **Oral Microbiol. Immunol.**, v. 13, p. 278-285, 1998.

SOBEL, A. E.; HIRSCHMAN, A.; BESMAN, L. A convenient microtitration method for the estimation of amino acids. **J. Biol. Chem.**, v. 161, p. 99-103, 1945.

SREEBNY, L. M. Saliva in health and disease: an appraisal and update. **Int. Dent. J.**, v. 50, n. 3, p. 140-161, June 2000.

SULLIVAN, K.; GORSTEIN, J. **Programa para antropometria nutricional: Epi-info versão 6.0: Epidemiologia em microcomputadores.** 1994.

SYRJANEN, S. M.; ALAKUIJALA, L.; ALAKUIJALA, L. P.; MARKKANEN, S. O.; MARKKANEN, H. Free amino acid levels in oral fluids of normal subjects and patients with periodontal disease. **Arch. Oral Biol.**, v. 3, n. 3, p. 189-193, 1990.



- SYRJANEN, S. M.; PIIRONEN, P.; MARKKANEN, H. Free Amino -acid composition of wax-stimulated whole saliva in human subjects with healthy periodontium, severe chronic. Periodontitis and post-juvenile periodontitis. **Arch. Oral Biol.**, v. 29, p. 735-738,1984.
- SYRJANEN, S. M.; PIIRONEN, P.; MARKKANEN, H. Free amino-acid content of wax-stimulated human whole saliva as related to periodontal disease. **Arch. Oral Biol.**, v. 32, p. 607-610, 1987.
- TANNER, A. C. R.; MILGROM, P. M.; KENT, R.; MOKEEM, S. A.; PAGER, R. C.; LIAO, S. I. A.; RIEDY, C. A.; BRUSS, J. Similarity of the oral microbiota of pre-school children with that of their caregivers in a population-based study. **Oral Microbiol. Immunol.**, v. 17, p. 379–387, 2002.
- TAPPUNI, A. R.; CHALLACOMBE, S. J. Distribution and relation frequency of eight streptococcal species in saliva from predentate and dentate children and adults. **J. Dent. Res.**, v. 72, n. 1, p. 31-36, 1993.
- TENOVUO, J. Clinical applications of antimicrobial host proteins lactoperoxidase, lysozyme and lactoferrin in xerostomia: efficacy and safety. **Oral Dis.**, v. 8, n. 1, p. 23-29, 2002.
- TENOVUO, J.; LAGERLOF, F. Saliva, in Thylstrup A, Fejerskov O. **Cariologia clinica**. São Paulo: Santos, 1995.
- TENUTA, L. M.; LIMA, J. E.; CARDOSO, C. L.; TABCHOURY, C. P.; CURY, J. A. Effect of plaque accumulation and salivary factors on enamel demineralization and plaque composition *in situ*. **Pesqui. Odontol. Bras.**, v. 17, p. 326-331, 2003.
- THEILADE, E.; BIRKHED, D. Dieta e cárie. In: THYLSTRUP, A.; FEJERSKOV, O. (Ed.). **Tratado de cariologia**. Rio de Janeiro: Cultura Médica, 1988. p. 117-154.
- THIBODEAU, E. A.; O’SULLIVAN, D. M. Salivary mutans streptococci and caries development in the primary dentition and mixed dentitions of children. **Community Dent. Epidemiol.**, v. 27, p. 406-412, 1999.
- THOMAS, C.; PRIMOSCH, R. Changes in incremental Weight and Well-being of children with rampant caries following complete dental rehabilitation. **Pediatr. Dent.**, v. 24, p. 109-113, 2002.
- THYLSTRUP, A.; FEJERSKOV, O. **Cariologia clinica**. 3. ed. São Paulo: Editora Santos, 2001. 421p.
- TINANOFF, N. Introduction to the early Childhood caries conference: initial description and current understanding. **Community Dent Oral Epidemiol.**, v. 26, n. 1, suppl., p. 5-7, 1998.
- TINANOFF, N.; O’SULLIVAN, D. M. Early childhood caries: overview and recent findings. **Pediatr. Dent.**, v. 1, n. 19, p.12-16, 1997.

- TOLEDO, O. A.; BEZERRA, A. C. B.; BEZERRA, V. L. V. A.; DRISTIG, E. B. Cárie e estado nutricional, prevalência da cárie dentária relacionada com o estado nutricional em população de baixa renda do Distrito Federal. **RGO**, v. 37, n. 4, p. 295, 1989.
- VACHIRAROJPISAN, T.; SHINADA, K.; KAWAGUCHI, Y.; LAUNGWECHAKAN, P.; SOMKOTE, T.; DETSOMBOONRAT, P. Early childhood caries in children aged 6-19 months. Community. **Dent. Oral Epidemiol.**, v. 32, p. 133-142, 2004.
- VAN HOUTE, J.; GIBBS, G.; BUTERA, C. Oral flora of children with "nursing bottle caries. **J. Dent. Res.**, v. 61, p. 382-385, 1982.
- VAN NIEUW AMERONGEN, A.; BOLSCHER, J. G.; VEERMAN, E. C. Salivary proteins: protective and diagnostic volue in cariology? **Caries Res.**, v. 38, n. 3, p 247-253, 2004.
- VAN NIEUW AMERONGEN, A.; VEERMAN, E. C. Saliva. The defender of oral cavity. **Oral Dis.**, v. 8, n. 1, p. 12-22, 2002.
- VAN PALENSTEIN HELDERMAN, W. H.; IJSSELDIJK, M.; HUIS in't VELD, J. H. J. A selective medium for the two major subgroups of bacterium *Streptococcus mutans* isolated from human dental plaque and saliva. **Arch. Oral. Biol.**, v. 28, n. 7, p. 599-603, 1983.
- VAN WUYCKHUYSE, B. C.; PERINPANAYAGAML, H. E.; BEVACQUA, D.; RAUBERTAS, R. F.; BILLINGS, R. J.; BOWEN, W. H.; TABAK, L. A. Association of free arginine and lysine concentrations in human parotid saliva with caries experience. **J. Dent. Res.**, v. 74, n. 2, p. 686-690, Feb. 1995.
- VRANIĆ, L. J.; RAJIC, Z.; CVORISCEC, D.; GRANIC, P.; ARDESIC, D.; ZANINOVIC, M.; DEVERNAY, Z. Changes in the composition of salivary amino acids, proteins and enzymes in children with phenylketonuria. **Acta Stomatol. Croat.**, v. 2, p. 87-92, 1987.
- VRANIĆ, L. J.; GRANIC, P.; RAJIC, Z. Basic amino acid in the pathogenesis of caries School of Dentistry, University of Zagreb. **Acta Stomatol. Croat.**, v. 25, n. 2, p. 71-76, 1991.
- VRATSANOS, S. M.; MANDEL, I. D. Lyslarginine (lysare) as polyamini precursors in plaque (abstract). **J. Dent. Res.**, v. 65, Spec. Iss., p. 340, 1986.
- VRATSANOS, S. M.; MANDEL, I. D. Polyamines of dental plaque in caries-resistant vs. Caries-susceptible adults. **J. Dent. Res.**, v. 64, p. 422-424.1985.
- WALTER, L. R. F.; FERELLE, A.; HOKAMA, N.; PELANDA, V. L. G.; FRANCO, M. P. S.; IEGA, R. Cárie em crianças de 0 a 30 meses de idade e sua relação com hábitos alimentares. **Encic. Bras. Odontol.**, v. 5, p. 129-136, dez. 1987.
- WALTER, L. R. F.; FERELLE, A.; ISSÃO, M. **Odontologia para o bebê**. São Paulo: Artes Medicas, 1996.
- WAN, A. K.; SEOW, W. K.; PURDIE, D. M.; BIRD, P. S.; WALSH, L. J.; TUDEHOPE, D. I. Oral colonization of *Streptococcus mutans* in six-month-old predentate infants. **J. Dent. Res.**, v. 80, n. 12, p. 2060-2065, 2001a.

WANDERLEY, M. T.; NOSÉ, C. C. Educação e motivação na promoção da saúde bucal. *In: CORRÊA, M.S.N.P. Odontopediatria na primeira infância.* São Paulo: Ed. Santos, 1999. p. 389-402.

WEERHEIJM, K. L.; UYTENDAELE-SPEYBROUCK, B. F. M.; EUWE, H. C.; GROEN, H. J. Prolonged demand breast-feeding and nursing caries. **Caries Res.**, v. 32, p. 46-50, 1998.

WEINSTEIN, P.; OBERG, D.; DOMOTO, P. K., JEFFCOTT, E.; LEROUX, B. A prospective study of the feeding and brushing practices of WIC mothers: six-and twelve-month data and ethnicity and familial variables. **J. Dent. Child.**, v. 63, n. 2, p. 113-117, Mar./Apr. 1996

WENDT, L.- K.; HALLOSTEN, A.- L.; KOCK, G.; BIRKHED, D. Analysis of caries-related factors in infants and toddlers living in Sweden. **Acta Odontol. Scand.**, v. 54, p. 131-137, 1996.

WESTERGREN, G.; KRASSE, B. Evaluation of a micromethod for determination of *Streptococcus mutans* and Lactobacillus infection. **J. Clin. Microb.**, v. 7, p. 82-83, 1978.

WHILEY, R.A.; BEIGHTON, D. Current classification of the oral streptococci. **Oral Microbiol. Immunol.**, v.13, p.195-216,1998.

WHO Child Growth standards based on length/height, weight and age. WHO Multicentre growth reference study group. **Acta Paediatrica**, v. 450, suppl., p. 76-85, 2006.

WOLDRING, M. G. Free amino acids of human saliva; a chromatographic investigation. **J. Dent Res.**, v. 34, n. 2, p. 248-259, 1955.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Physical status:** the use and interpretation of anthropometry. Geneva, 1995a. (Report of a WHO Expert Committee. WHO Technical Report Series, 854).

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Working group on infant growth: an evaluation of infant growth: the use and interpretation of anthropometry in infants. **Bull. World Health Org.**, v. 73, p. 165-174, 1995b.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Dentition status and criteria for diagnosis and coding (Caries). *In: WHO Oral Health Surveys: basic methods.* 4th ed. Geneva, 1997. p. 39-44.

WYNE, A. H.; ADENUBI, J. O.; SHALAN, T.; KHAN, N. Feeding and socioeconomic characteristics of nursing caries children in a Saudi population. **Pediatr. Dent.**, v. 17, n. 7, p. 451-454, Nov./Dec. 1995.

# APÊNDICES

## APÊNDICE A

### TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO “ESTUDO DO PERFIL DE AMINOÁCIDOS SALIVARES DE CRIANÇAS DESNUTRIDAS COM CÁRIE DA PRIMEIRA INFÂNCIA”

Seu filho ou filha está sendo convidado a participar de um projeto de pesquisa. Sua participação é importante, porém, ele (a) não deve participar contra vontade própria ou contra a sua vontade. Leia com atenção as informações abaixo, sentindo-se livre para fazer qualquer pergunta que desejar, para que não haja dúvida alguma sobre os procedimentos a serem realizados.

Ao assinar este termo que consta de seu nome, nome de seu filho ou filha, idade, e número do prontuário, você estará declarando que por meio de livre e espontânea vontade sua e de seu filho ou filha, ele (a) estará participando como voluntário do projeto de pesquisa citado acima, de responsabilidade da Professora Dijane Pereira Costa da Faculdade de Odontologia, da Universidade Federal do Ceará. O abaixo-assinado estará ciente que:

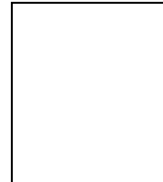
- a) O objetivo da pesquisa é verificar se existe alguma diferença entre a saliva de uma criança desnutrida com cárie e a de outra desnutrida sem cárie.
- b) Durante o estudo você deverá fornecer informação sobre o estado geral de saúde do seu filho ou filha.
- c) A participação neste estudo consistirá de coleta de saliva e de um exame dentário de seu filho ou filha para verificar os dentes presentes na boca e o tipo de cárie que ele (a) possa ter.
- d) Nem a coleta de saliva, nem o exame ocasionarão DOR no seu filho ou filha.
- e) Duas amostras de saliva serão colhidas conforme segue:
  - A primeira amostra consistirá apenas da coleta da saliva já presente na boca do seu filho ou filha com o uso de uma pequena cânula (semelhante a um pequeno pedaço de borracha), enquanto se encontra em repouso no seu colo.
  - Na segunda amostra, seu filho ou filha terá que chupar uma pequena bolinha de “parafina” por um minuto, e a mesma se encontrará ligada a um pedaço de fio dental para evitar que o seu filho ou filha venha a engolir o material. Depois de decorrido o tempo de 60 segundos, o mesmo será retirado da boca e colocado em um pequeno frasco.
  - Para que seja feita a coleta é preciso que seu filho ou filha, esteja em jejum por no mínimo 01 hora.
- f) Seu filho ou filha **NÃO RECEBERÁ INJEÇÃO** de anestésico local.
- g) Essa pesquisa não oferece riscos ou desconforto ao seu filho (a).
- h) A saliva recolhida será analisada para descobrir alguma diferença quando comparada à saliva de outras crianças podendo trazer como benefício um tratamento para cárie no futuro.
- i) A participação neste estudo lhe dá o direito de participar do PROJETO **Assistência Odontológica às Crianças do IPREDE**, onde seu filho ou filha será acompanhado (a) por um aluno estagiário para tratamento das cáries que ele ou ela tiver, e/ou prevenção para evitar novas cáries.
- j) Você tem a liberdade de desistir ou interromper a participação do seu filho ou filha neste estudo no momento que desejar, sem necessidade de qualquer explicação.
- k) Os resultados obtidos durante este estudo serão mantidos em sigilo. A Faculdade de Odontologia, Farmácia e Enfermagem (FFOE) não o identificará por ocasião da exposição e/ou publicação dos mesmos

(os dados serão publicados somente em revista científica e/ou congressos científicos não identificando o nome de seu filho ou filha).

l) O surgimento de resfriados ou viroses no dia da coleta, com conseqüente uso de medicações por período de tempo limitado, exclui seu filho ou filha do estudo.

m) Caso venham a surgir dúvidas ou perguntas, sinta-se livre para contactar a Dra. Cristiane Fonteles (responsável pelo projeto) na Faculdade de Odontologia da Universidade Federal do Ceará (sala 1), ou no telefone 4009-8408. Endereço rua: Monsenhor Furtado S/N.

Fortaleza, \_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 200 \_\_\_\_.



---

Assinatura do pai ou responsável

---

Assinatura da Testemunha

---

Assinatura do responsável pelo projeto

**APÊNDICE B**

Nº \_\_\_\_

**FICHA DE ANAMNESE  
DADOS PESSOAIS**

NOME: \_\_\_\_\_

IDADE \_\_\_\_\_ DATA DE NASCIMENTO \_\_\_\_\_

NOME DO PAI \_\_\_\_\_

NOME DA MÃE \_\_\_\_\_

RESPONSÁVEL LEGAL \_\_\_\_\_

ENDEREÇO \_\_\_\_\_

TELEFONE PARA CONTATO \_\_\_\_\_

NOME DA ESCOLA \_\_\_\_\_

ENDEREÇO DA ESCOLA \_\_\_\_\_

**ESTADO DE SAÚDE GERAL DA CRIANÇA**

**FAVOR LER E RESPONDER COM ATENÇÃO.**

1) O seu filho ou filha se encontra sob tratamento médico?   SIM   NÃO

Para que? Caso a sua resposta tenha sido Sim. \_\_\_\_\_

Identificar grau de desnutrição \_\_\_\_\_

2) O seu filho ou filha tem alguma doença crônica (além de desnutrição)?   SIM   NÃO

Qual? Caso a sua resposta tenha sido Sim. \_\_\_\_\_

3) O seu filho ou filha está tomando algum remédio?   SIM   NÃO

Quais? Caso a sua resposta tenha sido SIM. \_\_\_\_\_

4) O seu filho ou filha tem algum tipo de alergia?   SIM   NÃO

A que? Caso a sua resposta tenha sido SIM. \_\_\_\_\_

5) O seu filho ou filha esteve recentemente hospitalizado?   SIM   NÃO

Para que? Caso a sua resposta tenha sido SIM. \_\_\_\_\_

Afirmo que as informações acima são verdadeiras.

DATA \_\_\_\_\_

Assinatura \_\_\_\_\_

## APÊNDICE C

### FICHA DE EXAME DENTÁRIO

NOME DA CRIANÇA \_\_\_\_\_

IDADE \_\_\_\_\_ DATA DE NASCIMENTO \_\_\_\_\_

DATA \_\_\_\_\_

#### EXAME EXTRA-ORAL

LINFADENOPATIA: PRESENTE  AUSENTE

ASSIMETRIA FACIAL POR INFECÇÃO: PRESENTE  AUSENTE

#### EXAME INTRA – ORAL

TECIDOS MOLES: NORMAIS  PATOLÓGICOS

GRAU DE DESNUTRIÇÃO

#### EXAME EXTRA-ORAL

55	54	53	52	51	61	62	63	64	65
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
85	84	83	82	81	71	72	73	74	75

- Cor vermelha - corresponde a superfícies cariadas.
- Cor azul - - corresponde a superfícies restauradas.
- X - corresponde a superfícies ausentes devido à cárie.

COMENTÁRIOS: \_\_\_\_\_



# **ANEXO**



Universidade Federal do Ceará  
Comitê de Ética em Pesquisa

**Of. N° 515/05**

Fortaleza, 26 de setembro de 2005

**Protocolo COMEPE n° 262/05**

**Pesquisador responsável:** Cristiane Sá Roriz Fonteles

**Dept°./Serviço:** Instituto de Prevenção a Desnutrição e a Excepcionalidade-IPREDE

**Título do Projeto:** "Estudo do perfil de aminoácidos salivares de crianças desnutridas com cárie de 1ª infância"

Levamos ao conhecimento de V.S<sup>a</sup>. que o Comitê de Ética em Pesquisa e do Complexo Hospitalar da Universidade Federal do Ceará – COMEPE, dentro das normas que regulamentam a pesquisa em seres humanos, do Conselho Nacional de Saúde – Ministério da Saúde, Resolução n°196 de 10 de outubro de 1996 e Resolução n° 251 de 07 de agosto de 1997, publicadas no Diário Oficial, em 16 de outubro de 1996 e 23 de setembro de 1997, respectivamente, aprovou o projeto supracitado na reunião do dia 22 de setembro de 2005.

Outrossim, informamos, que o pesquisador deverá se comprometer a enviar o relatório parcial e final do referido projeto.

Atenciosamente,

Prof. Dr. Fernando A. Frota Bezerra  
Coordenador Adjunto do Comitê  
de Ética em Pesquisa  
COMEPE/HUWC/UFC