

UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA
CENTRO INTEGRADO DE SAÚDE
FACULDADE DE ODONTOLOGIA
PPG – MESTRADO EM CLÍNICA ODONTOLÓGICA

**EXPERIÊNCIA DE CÁRIE DENTÁRIA
E BACTÉRIAS CARIOGÊNICAS DETECTADAS E QUANTIFICADAS
PELO MÉTODO DA HIBRIDIZAÇÃO *IN SITU* FLUORESCENTE
NA SALIVA DE CRIANÇAS COM SÍNDROME DE DOWN**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Clínica Odontológica, da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Juiz de Fora, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre. Área de concentração: Clínica Odontológica.

Orientadora: Profa. Dra. Rosangela Almeida Ribeiro
Co-orientadora: Profa. Dra. Dionéia Evangelista Cesar

Juiz de Fora
2013

FLÁVIA ALMEIDA RIBEIRO SCALIONI


**EXPERIÊNCIA DE CÁRIE DENTÁRIA E BACTÉRIAS CARIOGÊNICAS
DETECTADAS E QUANTIFICADAS PELO MÉTODO DE HIBRIDIZAÇÃO *IN
SITU* FLUORESCENTE NA SALIVA DE CRIANÇAS COM SÍNDROME DE
DOWN**

ORIENTADORA: Prof.^a. Dr.^a. Rosangela Almeida Ribeiro

Dissertação de Mestrado submetida ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia, da
Universidade Federal de Juiz de Fora, como parte dos requisitos (parcial) para obtenção
do título de Mestre em Clínica Odontológica.

Aprovado em 30 / 04 / 13

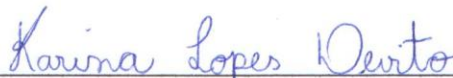
BANCA EXAMINADORA



Prof.^a. Dr.^a. Dionéia Evangelista Cesar
Universidade Federal de Juiz de Fora



Prof.^a. Dr.^a. Fernanda Campos Machado
Faculdade Estácio de Sá



Prof.^a. Dr.^a. Karina Lopes Devito
Universidade Federal de Juiz de Fora

DEDICATÓRIA

*Não é preciso muita coisa para mudar uma vida, basta só um cromossomo,
no entanto não podemos deixar que isso mude o respeito que sentimos pelo próximo.*

*O portador da síndrome de Down tem sim um cromossomo a mais...
o cromossomo do amor!*

*Essa dissertação eu dedico a elas: todas as crianças Downs,
que participaram ou não desse projeto, e que me cativam pelo simples fato de existirem.*

*Cada palavra de carinho, cada gesto de gratidão e cada conquista desses pacientes,
me fazem perceber como a vida vale a pena.*

Essas crianças, além de especiais, tornam a vida de quem as conhece especial!

Sou muito grata a essa oportunidade.

“Milhares de crianças no mundo precisam da sua ajuda.

Os portadores da Síndrome de Down só precisam do seu respeito.”

*Aos meus pais, Sidnei e Rita,
por acreditarem em mim
e não medirem esforços
para a realização dos meus sonhos.
Tudo o que eu sou, eu devo a vocês!*

*Ao meu irmão Fábio,
pela amizade e carinho.*

*Ao meu namorado
e acima de tudo amigo, Eladio,
por estar comigo desde o início desse
projeto e me ensinar diariamente o
conceito da palavra companheirismo.
Foi sem dúvida, o meu maior
incentivador, curtindo cada conquista e se
disponibilizando em cada dificuldade.
Sem você, nem tudo seria tão simples.
Te amo, obrigada pela paciência e por
existir na minha vida!*

AGRADECIMENTOS

Agradeço a *Deus* pela presença em minha vida, sempre iluminando meu caminho e me dando força e paciência para seguir em frente.

À *Dindinha, Professora Rosângela*, por acreditar em mim e em meus sonhos, por não economizar nos ensinamentos e fazer o possível e o impossível para realizar essa pesquisa. Obrigada pela confiança que você depositou em mim, pela dedicação na orientação desse trabalho e pela oportunidade de continuar trabalhando e aprendendo com você.

A toda *minha família*, em especial às minhas avós *Auricélia e Cecília*, pelo incentivo e torcida.

Às minhas grandes amigas, *Baiana, Thaisinha, Mari Leite, Marcela, Júlia, Maira, Marina, Napaula, Naclara, Livia, Paulinha, Thais, Jossó, Tati e Pri*, pela força que me dão diariamente, por deixarem meus dias bem mais divertidos, pela torcida e por compreenderem, muitas vezes, minha ausência. Minha vida sem vocês não faz sentido algum!

À *Professora Dionéia*, por ter me acolhido com todo carinho em seu departamento, me ensinando o “mundo dos laboratórios” com tanta paciência e dedicação. Sua orientação foi indispensável para a realização desse trabalho e para o meu crescimento como pesquisadora. Obrigada!

À *Fernanda*, amiga e professora, pela disponibilidade e boa vontade em participar de todo o desenvolvimento desse trabalho, sempre contribuindo com os seus conhecimentos e estudos para deixá-lo cada dia melhor. Você é um grande

exemplo para mim e alguém que eu quero que esteja sempre por perto em minha vida, me passando tanta tranquilidade, segurança e bom humor.

À *aluna Camila*, que abraçou esse sonho como se fosse dela, e se fez presente em cada momento me tranquilizando por saber que eu não estava sozinha. Eu ganhei uma amiga e quero vê-la seguir um caminho de muito sucesso. Esse trabalho é nosso e ainda temos muito que fazer juntas!

Ao *Professor Luiz Cláudio*, por me acolher com tanto carinho e paciência nas inúmeras análises estatísticas que fizemos e por todo ensinamento transmitido.

À *Professora Karina*, pela grande ajuda nos exames radiográficos das crianças, pela participação e carinho com esse trabalho desde o processo de seleção, pelo incentivo e principalmente pela amizade.

À *Professora Neuza* e à *Professora Cristina*, por todas as contribuições que fizeram para o desenvolvimento dessa pesquisa. O conhecimento de vocês engrandeceu esse trabalho.

Aos *professores do Curso de Pós-graduação em Clínica Odontológica*, especialmente à *Professora Graça*, Coordenadora do Programa, pelas oportunidades e pelos ensinamentos.

Aos *colegas do Curso de Pós-graduação em Clínica Odontológica*, especialmente à *Lilian*, à *Naiana*, ao *Rafael* e à *Mari*, por todas as experiências e aprendizados compartilhados.

À *Vanessa*, pela eficiência e organização nos assuntos burocráticos relacionados ao Mestrado.

Aos *professores do Departamento de Odontologia Social e Infantil*, da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Juiz de Fora, pelos momentos compartilhados e pelo exemplo profissional.

Aos *professores e amigos do Curso de Especialização em Odontopediatria*, da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Juiz de Fora, em especial à minha dupla, *Kairon*, pelo incentivo e compreensão de que, muitas vezes, eu tinha que estar em mais de dois lugares ao mesmo tempo.

Aos *companheiros do Laboratório de Ecologia e Biologia Molecular de Micro-organismos*, pela gentileza e disponibilidade em ajudar.

A toda *equipe da APFE-UFJF*, em especial à *Dra. Magali*, pela atenção e disposição em contribuir com a realização dessa pesquisa.

Ao *Dr. Antônio Aguiar e sua equipe*, pela disponibilidade em nos receber e colaborar com a execução desse trabalho.

A todas as *mães voluntárias*, pelo interesse pelo projeto e pela participação dos seus filhos na pesquisa. Obrigada pela confiança e carinho.

Aos meus *pequenos pacientes*, pela colaboração e alegria que me dão. Vocês são a razão de tudo isso!

À *Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES)*, Programa Tutoria REUNI, pela concessão de bolsa.

Muito obrigada!

EPÍGRAFE

“Ela acreditava em anjos e, porque acreditava, eles existiam.”

Clarice Lispector

RESUMO

Crianças com síndrome de Down (SD) apresentam uma baixa prevalência de cárie dentária. Embora os *Streptococcus mutans* e *Streptococcus sobrinus* estejam associados com a cárie dentária em humanos, o seu papel na etiologia da doença em crianças com SD ainda não está completamente esclarecido. Desta forma, este estudo transversal teve como objetivo avaliar a experiência de cárie dentária e a contagem de *S. mutans*, *S. sobrinus* e estreptococos presentes na saliva de crianças com SD (grupo SD) em comparação com crianças não sindrômicas (grupo ND). A amostra incluiu trinta crianças com SD (com idade entre três e 12 anos) e trinta crianças (com idade entre quatro e 12 anos) sem a síndrome, pareadas por idade e sexo. O exame da condição dentária foi realizado para determinar o número de dentes decíduos cariados, com extração indicada e obturados (índice ceo-d) e o número de dentes permanentes cariados, perdidos e obturados (índice CPO-D), de acordo com os critérios de diagnóstico de cárie dentária da OMS. Amostras de saliva total não estimulada foram coletadas de todas as crianças. A técnica da hibridização *in situ* fluorescente (*FISH*) identificou a presença e o número de bactérias cariogênicas na saliva. O teste qui-quadrado foi usado para a análise das variáveis categóricas e o teste *t* de Student foi usado para a análise das variáveis contínuas. Adotou-se o nível de significância de 5% ($p < 0,05$). As crianças do grupo SD apresentaram significativamente uma experiência de cárie dentária mais baixa ($p < 0,001$) e mais baixa contagem de *S. mutans* na saliva ($p < 0,001$), em comparação com as crianças do grupo ND. Não se observou nenhuma diferença estatisticamente significativa na contagem de *S. sobrinus* e estreptococos presentes na saliva entre os dois grupos ($p = 0,09$ e $p = 0,21$, respectivamente). As contagens de *S. mutans* e *S. sobrinus* presentes na saliva, determinadas pela técnica de *FISH*, não se associaram a mais baixa experiência de cárie dentária observada entre as crianças com síndrome de Down.

Palavras-chave: Síndrome de Down; Cárie Dentária; Microbiologia/bactérias; Hibridização In Situ Fluorescente

ABSTRACT

Down syndrome (DS) children are known to present a low dental caries prevalence. Although Streptococcus mutans and Streptococcus sobrinus are associated with dental caries in humans, their role in the etiology of dental caries in DS children is not entirely clear. Therefore this cross-sectional study aimed to assess the dental caries experience as well as the salivary counts of S. mutans, S. sobrinus and streptococci in DS children (group SD) in comparison with non-Down syndrome children (group ND). The sample included 30 DS children (aged 3-12 years) and 30 age and sex-matched ND children (aged 4-12 years). Dental examinations were performed to determine the numbers of decayed, missing and filled teeth in primary (dmf-t index) and permanent (DMF-T index) dentition according to the WHO dental caries diagnostic criteria. Unstimulated whole saliva samples were collected from all children. The fluorescence in situ hybridization (FISH) technique identified the presence and numbers of the cariogenic bacteria in saliva. The chi-square test was used to analyze the categorical variables and the Student's t-test was used for the continuous variables. The significance level was set at 5% ($p < 0.05$). Children of DS group showed significantly lower dental caries experience ($p < 0.001$) and salivary counts of S. mutans ($p < 0.001$) compared to children of ND group. No significant difference was found in the salivary counts of S. sobrinus and streptococci between the two groups ($p = 0.09$ and $p = 0.21$, respectively). The salivary counts of S. mutans and S. sobrinus determined by the FISH technique were not associated with the lower caries experience observed in Down syndrome children.

Key words: Down Syndrome; Dental Caries; Microbiology/bacteria; In Situ Hybridization, Fluorescence.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Quadro 1	Quadro 1 – Marcadores Cy3 em oligonucleotídeos RNAr (Operon Technologies®) para a identificação dos micro-organismos orais.	50
----------	---	----

LISTA DE TABELAS

		Pág.
Tabela 1	Caracterização da amostra segundo idade, sexo, e experiência odontológica anterior, Juiz de Fora, MG, 2013 (n = 60)	54
Tabela 2	Distribuição dos dados da experiência de cárie dentária entre crianças dos grupos SD e ND, Juiz de Fora, MG, 2013 (n = 60)	55
Tabela 3	Distribuição dos dados da experiência de cárie dentária, por grupo de crianças (SD e ND), segundo sexo e experiência odontológica anterior, Juiz de Fora, MG, 2013 (n = 60)	55
Tabela 4	Medidas descritivas (média, desvio-padrão, e valores mínimo e máximo) da densidade de bactérias (cél/ml X 10 ⁸) na saliva de crianças com ou sem síndrome de Down, Juiz de Fora, MG, 2013 (n = 60)	56
Tabela 5	Resultado do teste <i>t</i> de Student para comparação da densidade de bactérias cariogênicas na saliva (cél/ml X 10 ⁸) entre crianças dos grupos SD e ND, Juiz de Fora, MG, 2013 (n = 60)	56
Tabela 6	Resultado do teste <i>t</i> de Student para comparação da densidade de bactérias cariogênicas na saliva (cél/ml X 10 ⁸) entre crianças dos grupos SD e ND, segundo o sexo, Juiz de Fora, MG, 2013 (n = 60)	57
Tabela 7	Resultado do teste <i>t</i> de Student para comparação da densidade de bactérias cariogênicas na saliva (cél/ml X 10 ⁸) entre crianças dos grupos SD e ND, segundo a experiência odontológica anterior, Juiz de Fora, MG, 2013 (n = 60)	57
Tabela 8	Resultado do teste <i>t</i> de Student para comparação da densidade de bactérias cariogênicas na saliva (cél/ml X 10 ⁸) entre crianças dos grupos SD e ND, segundo a experiência de cárie dentária, Juiz de Fora, MG, 2013 (n = 60)	58
Tabela 9	Resultado do teste <i>t</i> de Student para comparação da densidade de <i>S. mutans</i> e <i>S. sobrinus</i> na saliva (cél/ml X 10 ⁸) em cada grupo de crianças (SD e ND), segundo a experiência de cárie dentária, Juiz de Fora, MG, 2013 (n = 60)	59
Tabela 10	Distribuição de frequência da presença de <i>S. mutans</i> e <i>S. sobrinus</i> na saliva de crianças com e sem SD, segundo a experiência de cárie dentária, Juiz de Fora, MG, 2013 (n = 60)	59

Tabela 11 Distribuição de frequência da presença de *S. mutans* e *S. sobrinus* na saliva de crianças com SD, segundo a experiência de cárie dentária, Juiz de Fora, MG, 2013 (n = 30) 59

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

APAE	Associação de Pais e Amigos dos Excepcionais
AP-PCR	<i>Arbitrary Primed Polymerase Chain Reaction</i>
C	Controle
CAS	Centro de Atenção à Saúde
CD	Cirurgião-dentista
ceo-d	Índice de dentes decíduos cariados, com extração indicada e obturados
ceo-s	Índice de superfícies de dentes decíduos cariadas, com extração indicada e obturadas
CEP-HU-CAS	Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário da Universidade Federal de Juiz de Fora
CO-D	Índice de dentes permanentes cariados e obturados
co-s	Índice de superfícies de dentes decíduos cariadas e obturadas
CPITN	Índice Comunitário de Necessidade de Tratamento Periodontal
CPO-D	Índice de dentes permanentes cariados, perdidos e obturados
CPO-S	Índice de superfícies de dentes permanentes cariadas, perdidas e obturadas
DAPI	4',6-diamidino-2-phenylindole
EDTA	Ácido etilenodiamino tetra-acético
FA	Frequência absoluta
FISH	<i>Fluorescence in situ hybridization</i>
FO	Faculdade de Odontologia
FR	Frequência relativa
HCl	Ácido clorídrico
HU	Hospital Universitário
Ig	Imunoglobulina
IgA	Imunoglobulina A
IGM	Índice gengival modificado
IgM	Imunoglobulina M
IHOS	Índice de higiene oral simplificado

MEV	Microscopia eletrônica de varredura
MSB	<i>Mitis-Salivarius-Bacitracina</i>
NaCl	Cloreto de sódio
ND	Não Down
OCSS	<i>Original Caries Severity Score</i>
OMS	Organização Mundial da Saúde
pH	Potencial hidrogeniônico
RM	Retardo mental
RNAr	Ácido ribonucléico ribossômico
SD	Síndrome de Down
SPSS	<i>Statistical Package for the Social Sciences</i>
SUS	Sistema Único de Saúde
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TYCSB	<i>Tryptone Yeast-extract Cystine Sucrose Bacitracin</i>
UFC	Unidades formadoras de colônia
UFJF	Universidade Federal de Juiz de Fora
WHO	<i>World Health Organization</i>

LISTA DE SÍMBOLOS

Ca	Cálcio
Cél	Células
Cl	Cloro
H	Hora
k	<i>Kappa</i> (letra grega)
K	Potássio
L	Litro
M	Molar
MG	Miligrama
mL	Mililitro
mm	Milímetro
mM	Milimolar
Min	Minuto
Ng	Nanograma
n ^o	Número
μL	Microlitro
μm	Micrometro
n	Tamanho da amostra
<i>P</i>	Nível de significância
<i>R</i>	Coefficiente de correlação
<i>T</i>	Coefficiente do teste de regressão simples
=	Igual a
>	Maior que
±	Mais ou menos
®	Marca registrada
<	Menor que
-	Negativo
%	Por cento
v/v	Concentração
X	Vezes

SUMÁRIO

	Pág.
1	INTRODUÇÃO 18
2	FUNDAMENTOS TEÓRICOS 21
2.1	CÁRIE DENTÁRIA EM CRIANÇAS E ADOLESCENTES COM SÍNDROME DE DOWN 21
2.2	HIBRIDIZAÇÃO <i>IN SITU</i> FLUORESCENTE (<i>FISH</i>) 42
3	PROPOSIÇÃO 46
4	METODOLOGIA 47
4.1	TIPO DE ESTUDO 47
4.2	ASPECTOS ÉTICO-LEGAIS 47
4.3	CASUÍSTICA 47
4.3.1	Seleção da amostra 47
4.3.1.1	Critérios de inclusão 48
4.3.1.2	Critérios de exclusão 48
4.3.1.3	Grupos 48
4.4	MATERIAIS E MÉTODOS 49
4.4.1	Dados de identificação e da condição dentária 49
4.4.2	Detecção, identificação e quantificação de bactérias orais 49
4.4.2.1	Coleta da saliva 49
4.4.2.2	Análise laboratorial 50
4.5	ANÁLISE ESTATÍSTICA 52
4.6	ESTUDO PILOTO 52
5	RESULTADOS 54
6	DISCUSSÃO 60
7	CONCLUSÃO 67
	REFERÊNCIAS 68
	APÊNDICE – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido 75
	ANEXOS 77
	ANEXO A – Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa 77
	ANEXO B – Ficha da Disciplina Odontopediatria 80

1 INTRODUÇÃO

A síndrome de Down (SD) é uma condição genética resultante da trissomia do cromossomo 21, descrita pela primeira vez em 1866, por John Longden Hayden Down (DOWN, 1866). Representa a anomalia cromossômica mais comum da espécie humana, com uma incidência de 1:800 a 1:1000 nascimentos. É mais frequente em crianças nascidas de mães com idade acima de 35 anos (COGULU et al., 2006a; DAVIDOVICH et al., 2010). Clinicamente, caracteriza-se principalmente pela presença de retardo mental, anomalias cardiovasculares, hematopoiéticas, músculo-esqueléticas, do sistema nervoso e do sistema imunológico. Esses efeitos, especialmente no sistema imunológico, produzem uma maior suscetibilidade a infecções (LINOSSIER et al., 2002; SHAPIRA et al., 1991). Entre as manifestações bucais mais frequentemente encontradas são citadas: boca seca devido à respiração bucal; fissura lingual e labial; protrusão lingual; macroglossia; má oclusão; úlceras na mucosa; candidíase; e gengivite ulcerativa necrosante (GULLIKSON, 1973; SHAPIRA et al., 1991).

Indivíduos com SD apresentam uma prevalência mais baixa de cárie dentária (COGULU et al., 2006a; COGULU et al., 2006b; LEE et al., 2004; STABHOLZ et al., 1991; VIGILD, 1986), apesar da exposição a fatores de risco como dieta cariogênica, diminuição de fluxo salivar, respiração bucal, forças oclusais desbalanceadas e pobre acesso à higiene bucal aos quais estão sujeitos (SHAPIRA et al., 1991; STABHOLZ et al., 1991). No entanto, alguns estudos demonstraram que indivíduos com SD têm mais alta prevalência de cárie dentária (CASTILHO, PARDI e PEREIRA, 2007; CORNEJO et al., 1996) ou semelhante à prevalência da doença encontrada entre indivíduos não sindrômicos (FUNG e ALLISON, 2005; MATHIAS, SIMIONATO e GUARÉ, 2011; SIQUEIRA JR. e NICOLAU, 2002).

Algumas das hipóteses sugeridas para a baixa prevalência de cárie dentária citada incluem: atraso da erupção dentária junto com a alteração da cronologia de erupção; alta frequência de hipodontia; diferenças na composição, no pH, na capacidade tampão e no fluxo salivar (COGULU et al., 2006a; COGULU et al., 2006b; SHAPIRA et al., 1991; SIQUEIRA JR. e NICOLAU, 2002); e diferença na microbiota cariogênica (BARNETT et al., 1986; CASTILHO, PARDI e PEREIRA,

2011; COGULU et al., 2006b; MORINUSHI, LOPATIN e TANAKA, 1995; STABHOLZ et al., 1991).

A cárie dentária é fortemente associada com a colonização por estreptococos do grupo *mutans*. Sabe-se que *Streptococcus mutans* e *Streptococcus sobrinus* são frequentemente encontrados na cavidade bucal de indivíduos com alta atividade de cárie dentária, e que a associação *S. mutans* e *S. sobrinus* é potencialmente mais cariogênica que a colonização apenas pelo *S. mutans* (HÖFLING et al., 1999). Estudo recente confirmou que crianças colonizadas por *S. mutans* e *S. sobrinus* têm uma experiência de cárie dentária significativamente maior, nas dentições decídua e permanente, quando comparadas com aquelas colonizadas apenas por *S. mutans* (OKADA et al., 2012).

A relação entre estreptococos orais e a cárie dentária em indivíduos com SD não está bem caracterizada. Linossier et al. (2002) registraram uma concentração salivar mais alta de *S. mutans* e *Candida albicans*, entre crianças e adolescentes chilenos com SD ou retardo mental. No Brasil, Jesus (2002) observou dependência estatisticamente significativa entre a presença de lesão de cárie dentária e altos níveis de estreptococos do grupo *mutans* em crianças na primeira infância. Castilho, Pardi e Pereira (2007) não observaram, entretanto, correlação positiva entre as contagens totais de colônias de *S. mutans* e os índices de cárie dentária registrados entre indivíduos com SD, apesar de mais da metade dos voluntários ter apresentado um alto número de unidades formadoras de colônia por mililitro (UFC/ml). No estudo de Ferreira (2009), a maioria dos participantes com SD examinados apresentou baixa contagem de *S. mutans* e alta contagem de lactobacilos.

Observa-se, assim, uma necessidade de investigações que elucidem as características ecológicas da cavidade bucal em indivíduos com SD (CASTILHO, PARDI e PEREIRA, 2011), as quais poderiam ser mais bem identificadas por meio de métodos moleculares para diferenciação de micro-organismos orais, ainda pouco empregados em estudos com esta população (COGULU et al., 2006b). Entre os métodos moleculares de descrição, identificação e quantificação de micro-organismos, a hibridização *in situ* fluorescente (*Fluorescence in situ hybridization – FISH*), que combina a precisão da genética molecular com a informação visual de microscopia (AMANN et al., 1990; MOTER e GÖBEL, 2000; PASTER, BARTOSZYK

e DEWHIRST, 1998), oferece a oportunidade de diferenciação e quantificação de várias espécies bacterianas orais (AAS et al., 2005; AL-AHMAD et al., 2009).

Frente ao exposto, o presente estudo se propôs a avaliar a experiência de cárie dentária, estimada pelos índices ceo-d e CPO-D, e as contagens de bactérias orais cariogênicas presentes na saliva, determinadas por meio da técnica de *FISH*, em crianças com síndrome de Down em comparação com crianças não sindrômicas.

2 FUNDAMENTOS TEÓRICOS

Alguns estudos foram conduzidos com o objetivo de avaliar a cárie dentária em crianças e adolescentes com síndrome de Down, cujos principais achados serão descritos no primeiro subcapítulo. Para melhor compreensão, a técnica de hibridização *in situ* fluorescente (*FISH*) será abordada no segundo subcapítulo.

2.1 CÁRIE DENTÁRIA EM CRIANÇAS E ADOLESCENTES COM SÍNDROME DE DOWN

Vigild (1986) determinou a experiência da cárie dentária entre crianças e adolescentes com SD comparados com um grupo de crianças e adolescentes com retardo mental (RM) sem SD. A intenção foi relacionar as condições dentárias com o *status* residencial das crianças e discutir os achados em comparação com a população não deficiente. O estudo incluiu 288 (duzentos e oitenta e oito) participantes com idade entre seis e 19 anos, da cidade de Copenhague, na Dinamarca. Todos os dentes presentes na cavidade bucal foram examinados segundo os critérios recomendados em 1977 pela Organização Mundial da Saúde (OMS). A condição dentária foi avaliada por meio do índice de dentes permanentes cariados, perdidos e obturados (CPO-D) e do índice de superfícies de dentes permanentes cariadas, perdidas e obturadas (CPO-S). A amostra foi subdividida de acordo com a idade em um grupo mais jovem (6-12 anos) e em grupo mais velho (13-19 anos), e em seguida subdividido novamente em mais três grupos, de acordo com os índices CPO-S e CPO-D: categoria 1 (CPO-S = 0); categoria 2 (grupo mais jovem: CPO-S = 1-4; e grupo mais velho: CPO-S = 1-8); e categoria 3 (grupo mais jovem: CPO-S > 4; e grupo mais velho: CPO-S > 8). A variabilidade interexaminador foi avaliada por meio do exame de vinte e nove crianças sem deficiência, por duas vezes, em um intervalo de três semanas. A concordância entre os dois examinadores foi de 97% para superfícies cariadas e 87% para dentes cariados. A

prevalência de má oclusão e condição periodontal também foi determinada. No total da população, a frequência de indivíduos livres de cárie foi de 60% no grupo mais jovem e 29% no grupo mais velho, e não houve diferença significativa entre os sexos. Observou-se mais baixa prevalência de cárie dentária entre os indivíduos institucionalizados. Em ambos os grupos de idade, indivíduos com SD apresentaram mais baixa prevalência de cárie dentária, porém apresentaram um atraso na erupção dentária em comparação àqueles sem a síndrome. Foi observada uma diferença significativa no grupo mais velho, no qual 51% das crianças institucionalizadas estavam livres de cárie contra apenas 13% das crianças que moravam em suas casas. O mesmo ocorreu no grupo mais jovem, no qual 71% dos indivíduos institucionalizados estavam livres da doença contra uma taxa de 22% entre os não institucionalizados. O estudo demonstrou, portanto, que em ambos os grupos de idade, crianças e adolescentes com SD apresentaram mais baixa prevalência de cárie dentária, maior frequência de ausência dentária congênita e um atraso na erupção dos dentes permanentes.

Stabholz et al. (1991) investigaram a necessidade de tratamento periodontal e a prevalência da cárie dentária em uma população com SD comparada com indivíduos não deficientes e com RM. Avaliaram também a relação entre a cárie dentária e níveis salivares de *S. mutans* e pH da saliva. A amostra consistiu de 32 (trinta e duas crianças) com SD, 30 (trinta) crianças não deficientes formando o grupo controle 1 (C1), e 19 (dezenove) crianças com RM incluídas no grupo controle 2 (C2), todas com idade entre oito e 13 anos e participantes da mesma instituição. A experiência de cárie dentária foi avaliada pelo índice CPO-D como preconizado pela OMS e a necessidade de tratamento periodontal foi determinada pelo Índice Comunitário de Necessidade de Tratamento Periodontal (CPITN). Foram determinados o pH salivar e o nível de *S. mutans* presentes na saliva. O exame foi conduzido por dois examinadores, ao menos uma hora após a última refeição das crianças. O índice CPO-D demonstrou uma média significativamente menor no grupo SD comparado com os demais. A contagem microbiológica de *S. mutans* foi menor no grupo SD (37,2 UFC) que no grupo C1 (48,2 UFC) e no grupo C2 (93,9 UFC), com diferença significativa entre os grupos SD e C2 e entre os grupos C1 e C2. A média do nível do pH salivar também demonstrou diferença significativa entre os grupos SD (pH = 6,7) e C2 (pH = 7,1) e o grupo C1 (pH = 6,8). Por outro lado, não houve diferença significativa no índice CPITN entre os grupos estudados. Com

esses resultados, pôde-se concluir que o grupo SD não apresentou necessidade de tratamento periodontal diferente dos outros grupos estudados. Em relação à cárie dentária, o grupo SD apresentou um menor índice de dentes comprometidos pela doença, e os indivíduos com alto índice da doença corresponderam àqueles com maior contagem de *S. mutans* na saliva, porém nenhuma correlação com o pH salivar foi demonstrada.

Morinushi, Lopatin e Tanaka (1995) avaliaram a experiência de cárie dentária e a relação entre esta e a presença de anticorpos no soro contra o *S. mutans* e o *Streptococcus mitis* em um grupo de 75 (setenta e cinco) crianças e adolescentes com SD, com idade entre dois e 18 anos, das quais 44 (quarenta e quatro) estavam em fase de dentição decídua. Foram registrados os seguintes índices: CPO-D; escore original de gravidade de cárie dentária (OCSS – *Original Caries Severity Score*); e o índice de Greene e Vermillion para registro de presença de biofilme bacteriano (placa bacteriana). Os anticorpos no soro contra o *S. mutans* e o *S. mitis* foram mensurados pelo método ELISA. Para a análise estatística, os participantes foram divididos em três grupos de acordo com a idade cronológica. Na amostra total, 46,1% eram livres de cárie. Esta taxa aumentou para 61,4% quando foram consideradas apenas as crianças com idade abaixo de cinco anos. Entre as crianças não sindrômicas com idade inferior a cinco anos, 29,2% eram livres de cárie. A média do índice CPO-D foi 15,9 para o grupo Down e 23,8 para o grupo não-Down. Isso representou uma diferença significativa entre os grupos, tanto em relação ao índice CPO-D quanto à frequência de pacientes livres de cárie. A relação entre o índice de biofilme bacteriano e o OCSS demonstrou uma correlação positiva significativa ($r = 2,953$, $p = 0,01$). Em contrapartida, não houve correlação significativa entre índice de biofilme bacteriano e CPO-D. Verificou-se uma correlação positiva significativa entre o índice de biofilme bacteriano e o OCSS no grupo de crianças com dentição decídua e no grupo de crianças com presença de dentes decíduos e dos primeiros molares permanentes. A relação entre anticorpos imunoglobulina M (IgM) para *S. mutans* e o índice de biofilme bacteriano para a amostra total demonstrou uma correlação positiva significativa usando o teste de regressão simples ($t = 2,015$, $p < 0,05$). Quando consideradas apenas as crianças em fase de dentição decídua, a mesma relação anterior revelou uma correlação relativamente alta ($t = 1,836$, $p = 0,074$) usando o teste de regressão simples comparado com outras crianças de grupos de outras idades. A relação entre

anticorpos IgM contra *S. mutans* e OCSS demonstrou uma correlação positiva significativa ($t = 3,707$, $p = 0,0001$) para a amostra total. Quando avaliado apenas o grupo com dentição decídua, a mesma relação também apresentou uma correlação significativa. Além disso, o nível de anticorpos IgM e imunoglobulina G (IgG) para *S. mutans* demonstrou correlação positiva entre o grupo 0 (OCSS = 0) e o grupo grave (OCSS = 220). O nível de anticorpos IgM para o *S. mutans* caiu para um nível mais baixo nos participantes do grupo que recebeu tratamento para a cárie dentária. Não foi encontrada correlação entre anticorpos contra o *S. mitis* e todas essas variáveis nas crianças em fase de dentição decídua. No entanto, houve uma correlação positiva entre anticorpos IgM para *S. mitis* e OCSS em crianças em fase de dentição mista. Em conclusão, os resultados sugeriram que existe uma relação significativa entre índice de cárie dentária e anticorpos IgM para *S. mutans* na dentição decídua e existe uma relação próxima entre cárie dentária em pacientes com SD e *S. mutans*. Além disso, sugeriu-se que a obtenção de anticorpos IgM contra o *S. mutans* utilizando o teste ELISA pode servir para determinar o alto risco da doença não só em indivíduos com SD, como também naqueles não sindrômicos, embora não tenha ficado claro se esses anticorpos seriam protetores ou responsáveis pela baixa prevalência de cárie dentária em crianças com SD.

Cornejo et al. (1996) analisaram as diferenças clínicas, bioquímicas, imunológicas e microbiológicas de uma população com SD da cidade de Córdoba, Argentina, que participou de um estudo descritivo sobre suas condições de saúde no ano de 1993. A amostra foi composta por 86 (oitenta e seis) crianças e adolescentes com SD, de ambos os sexos, na faixa etária entre três e 19 anos que foram divididos em cinco grupos de acordo com a idade: 3-6, 7-9, 10-13, 14-16 e 17-19 anos. Os pais responderam a um questionário informando algumas características e hábitos dos seus filhos. Um grupo controle (C) incluiu 86 (oitenta e seis crianças) não sindrômicas na mesma faixa etária. Todos os exames foram realizados por um único cirurgião-dentista (CD) que avaliou o número total de dentes presentes, a quantidade de superfícies cariadas, perdidas e obturadas, a presença de anomalias dentárias, a oclusão e as condições de higiene bucal. O critério utilizado para a determinação da presença de cárie dentária foi o registro do índice CPO-S e do índice ceo-s (índice de superfícies de dentes decíduos cariadas, com extração indicada e obturadas), conforme critérios da OMS. Para a avaliação da oclusão, foi utilizada a classificação de Angle para estabelecer a relação de molares e caninos,

além da identificação de outros tipos de má oclusão como mordida aberta anterior, mordida cruzada anterior e posterior, e sobremordida. Também foram avaliadas anomalias de forma, número e posição dentária, assim como bruxismo e atraso de erupção. A presença de gengivite foi classificada de acordo com o índice de Løe e Silness, de 1963. A amostra de saliva não estimulada foi coletada aproximadamente duas horas após a última refeição, e separada em pequenas porções para análise bioquímica de secreção de imunoglobulina A (IgA) e outros eletrólitos, para a contagem de *S. mutans* utilizando o sistema comercial *Dentocult-Sm Strip mutans*[®], e para determinar a atividade dos lactobacilos por meio da técnica de Snyder modificada por Alban em 1970. O número de dentes decíduos em crianças com mais de nove anos na população com SD foi significativamente maior do que no grupo C, enquanto que nas crianças abaixo dessa idade, o número de dentes decíduos foi similar em ambos os grupos. A partir dos dez anos de idade, o número de dentes permanentes foi maior no grupo C. Em todos os grupos de idade, o índice ceo-s foi maior no grupo de crianças com SD, enquanto o índice CPO-S se mostrou maior no grupo C nas crianças a partir de dez anos. Já o número de indivíduos livres de cárie, tanto na dentição decídua como na permanente, diminuiu com a idade em ambas as populações. A prevalência de cárie dentária nos grupos 3-6 e 7-9 anos foi maior em crianças com SD, assim como, a partir dos sete anos, o índice de inflamação gengival foi significativamente maior em indivíduos com SD. A concentração de secreção de IgA e cálcio foi significativamente maior no grupo SD, assim como a atividade de lactobacilos e a contagem de *S. mutans*.

Shyama et al. (2001) avaliaram a experiência de cárie dentária em diferentes grupos de crianças com deficiência atendidas em escolas especiais no Kuwait para determinar a necessidade de tratamento dessa população. A amostra incluiu indivíduos com deficiência física e sensorial (n = 271), deficiência visual e/ou auditiva (n = 377), e com SD (n = 184), com idade variando entre três e 19 anos (idade média de 12,1 anos). Dois examinadores foram treinados e calibrados de acordo com os critérios da OMS. O coeficiente *kappa* calculado para a concordância intraexaminador foi 0,9. Estimou-se a experiência de cárie dentária por meio do índice CPO-D em relação à idade, sexo, nacionalidade, arco e tipo de deficiência. Para a dentição decídua foi utilizado o índice ceo-d e para a dentição permanente foi utilizado o índice CPO-D. A proporção de pacientes livres de cárie na fase de dentição decídua foi de 11,2%, sendo a menor porcentagem em crianças com SD

(8,4%) e a maior em deficientes físicos (12,8%). Nas crianças em fase de dentição permanente, 24,2% da amostra eram livres da doença, sendo a menor porcentagem encontrada em deficientes auditivos (16,4%) e a maior em deficientes visuais (35,5%). A média do índice ceo-d foi maior no grupo SD (6,0) e menor nas crianças com deficiência visual (3,7), porém não houve diferença significativa entre os grupos. A média do índice CPO-D também foi maior no grupo SD (5,3) e menor nos deficientes visuais (2,8) com diferença estatística entre os grupos em relação ao número de dentes cariados. De acordo com a classificação da OMS, 23,3% da amostra se encontravam em um nível de prevalência moderada de cárie dentária (CPO-D = 2,7-4,4), 10,2% em um nível de alta prevalência (CPO-D = 4,5-6,5) e 25,6% em um nível de muito alta prevalência (CPO-D > 6,6). Quando associações simultâneas entre variáveis específicas e a experiência de cárie dentária foram estudadas na dentição decídua por meio da análise de regressão logística múltipla, nenhuma das variáveis demonstrou significância. Na dentição permanente, apenas o aumento da idade, a deficiência auditiva e a pobre higiene bucal demonstraram associação significativa com o risco da doença. Em conclusão, o estudo demonstrou que a população com deficiência no Kuwait tem uma alta prevalência de cárie dentária e recebe menos cuidados com a saúde bucal que a população em geral. Enquanto as crianças do país tinham um programa de saúde bucal disponível em todas as escolas primárias, as crianças com necessidades especiais não tinham a mesma oportunidade, sendo necessário um programa preventivo e restaurador acessível a essa parcela da população.

Jesus (2002) avaliou a prevalência de cárie dentária e a relação entre os fatores presença de cárie dentária, biofilme bacteriano visível e contagem de estreptococos do grupo *mutans* em crianças com idade entre 12 e 48 meses, sendo 26 (vinte e seis crianças) com SD (grupo teste) e 142 (cento e quarenta e duas) não sindrômicas (grupo controle). A prevalência de cárie dentária no grupo teste foi de 15,38% e no grupo controle de 31,69%. No grupo controle, observou-se aumento estatisticamente significativo do índice ceo-d e dos níveis de estreptococos do grupo *mutans* a partir dos 36 meses de idade. Nos dois grupos, com o aumento da idade, aumentou o número de crianças colonizadas pelos micro-organismos. Foi observada dependência estatisticamente significativa entre a presença de lesão de cárie dentária e altos níveis de bactérias cariogênicas tanto no grupo teste quanto no grupo controle. Houve também correlação positiva estatisticamente significativa

entre a presença de lesão de cárie dentária e a presença de biofilme bacteriano visível, e entre a presença de biofilme bacteriano visível e altos níveis de estreptococos do grupo *mutans* apenas no grupo controle.

Linossier et al. (2002) estabeleceram a correlação existente entre a contagem quantitativa de *S. mutans* e *C. albicans* como marcadores de infectividade na saliva de pacientes com SD e RM em relação a um grupo normal (C). Participaram do estudo 166 (cento e sessenta e seis) crianças e adolescentes com idade entre cinco e 19 anos, sendo quarenta e nove com SD, sessenta com RM e cinquenta e sete do grupo C. A amostra de saliva foi coletada duas horas depois do café da manhã, após uma escovação feita pelo CD durante 30 segundos. O fluxo salivar foi estimulado aplicando-se uma solução de 1% de ácido cítrico no dorso da língua, e após 1 minuto, foi coletado no mínimo 0,5 ml de saliva de cada participante. As amostras foram cultivadas em ágar TYCSB (*Tryptone Yeast-extract Cystine Sucrose Bacitracin*) e ágar *sabouraud* e posteriormente foram realizadas análises microbiológicas, microscopia eletrônica de varredura (MEV) e ensaios de coagregação. Observou-se uma correlação moderada muito significativa ($p < 0,01$) entre as quantidades de *S. mutans* e *C. albicans* nos grupos SD, RM e C ($r = 0,55$, $0,37$, e $0,45$, respectivamente). A análise estatística demonstrou diferença significativa nas contagens de *C. albicans* entre os grupos C e SD e entre os grupos C e RM. No entanto, nenhuma diferença significativa foi encontrada para as contagens de *S. mutans*. Os resultados obtidos por meio da MEV demonstraram uma coagregação celular entre *S. mutans* e *C. albicans*. Concluiu-se que existe uma relação de sinergismo entre micro-organismos que colonizam a cavidade bucal, porém esta relação não parece depender do estado mental do indivíduo e sim do seu estado imunológico.

Siqueira Jr. e Nicolau (2002) avaliaram alguns componentes específicos da saliva estimulada de crianças com SD comparadas com um grupo de crianças não síndrômicas. Foi coletada a saliva de 35 (trinta e cinco) crianças com idade entre seis e dez anos, sendo 17 (dezessete) selecionadas aleatoriamente da Associação de Pais e Amigos dos Excepcionais (APAE) na cidade de São Paulo, e 18 (dezoito) crianças sem a síndrome escolhidas entre os pacientes atendidos na Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo, que fizeram parte do grupo C. Para o estabelecimento da condição de saúde bucal dos participantes, foram determinados o índice de dentes decíduos cariados, com extração indicada e

obturados (ceo-d) e o índice CPO-D, por meio de um exame clínico. Amostras de saliva estimulada foram coletadas durante 10 minutos entre 9h00min e 11h00min da manhã, ao menos duas horas após a última refeição. O pH foi mensurado por meio do peagâmetro, os níveis de ácido siálico foram determinados pelo método do ácido tiobarbitúrico, as proteínas foram detectadas pelo reagente fenol de Folin, a amilase foi identificada, e a produção de maltose foi mensurada por meio da quebra do amido e da peroxidase usando a ortodionisidina. As diferenças nos índices ceo-d e CPO-D não foram estatisticamente significativas entre os grupos. A concentração de proteínas foi significativamente maior na saliva coletada das crianças com SD do que a das crianças sem a síndrome. Já o fluxo salivar, o pH e a atividade da amilase e peroxidase foram menores nas crianças sindrômicas comparadas às não sindrômicas. Porém, não houve diferença significativa em relação à concentração de ácido siálico tanto na forma livre quanto na total.

Alisson e Lawrence (2004) observaram se pacientes canadenses com SD recebiam cuidados com a saúde bucal diferentes daqueles oferecidos aos não sindrômicos. Foram enviadas correspondências para 2327 (duas mil, trezentas e vinte e sete) famílias que tinham uma ou mais crianças com SD, com dois questionários de cores diferentes para o responsável preencher em relação ao familiar com SD e a outro, de idade próxima, sem a síndrome. Foram utilizados, ao final, 938 (novecentos e trinta e oito) pares de questionários que possuíam as informações completas necessárias para avaliação. As perguntas abordavam idade, sexo, endereço, atividades diárias e *status* geral de saúde. Além disso, havia oito questões relativas aos cuidados, domiciliares e profissionais, com a saúde bucal. Os resultados mostraram que em 47% das respostas houve diferença entre as crianças com e sem a síndrome. As diferenças estatísticas mais relevantes em relação aos dois grupos estudados foram observadas em relação à primeira consulta ao CD ($p = 0,029$), restaurações ($p < 0,001$), tratamento com flúor ($p = 0,013$) e exodontias ($p = 0,029$). Os resultados encontrados mostraram que as crianças com SD tiveram acesso a um CD mais precocemente, porém eram menos receptivas a tratamentos preventivos e restauradores, o que muitas vezes fez com que elas fossem submetidas a exodontias.

Bradley et al. (2004) descreveram o *status* de saúde bucal de um subgrupo da população com necessidades especiais que foi identificado em um estudo anterior com baixa prevalência de cárie dentária e alta prevalência de doença

periodontal e má oclusão. Uma amostra por conveniência de 71 (setenta e uma) crianças com SD foi examinada para a obtenção dos índices CPO-D e ceo-d por dois profissionais treinados e calibrados (coeficiente *kappa* = 0,85 e 0,92, respectivamente). Cárie dentária foi diagnosticada na presença de lesão cavitada, a presença de biofilme bacteriano foi determinada por método visual e a condição periodontal foi mensurada pelo índice CPITN. O grupo estudado apresentou menor prevalência de cárie dentária, mas índices similares de necessidade de tratamento não atendida entre as crianças com SD matriculadas em escolas especiais e escolas regulares. A experiência de tratamento variou com a idade: as crianças com cinco anos realizaram mais extrações e menos restaurações, enquanto as de 15 anos se submeteram a menos extrações e a mais procedimentos restauradores. Observou-se um quadro de higiene bucal mais pobre, porém a necessidade de um tratamento periodontal avançado não foi evidente. Frente aos resultados, os autores sugeriram que serviços odontológicos voltados para grupos com necessidades especiais poderiam gerar resultados comparáveis com outros serviços utilizados por pessoas sem deficiência.

Lee et al. (2004) investigaram a associação entre a baixa prevalência de cárie dentária com o nível de imunoglobulinas salivares contra o *S. mutans* em crianças e adolescentes com SD (n = 17) comparados com crianças e adolescentes não síndrômicos (n = 41), com idade entre oito e 17 anos. Todos os participantes foram examinados em relação aos índices CPO-D e ceo-d por um único CD. Além disso, foram avaliados o índice de higiene oral simplificado (IHOS), a profundidade das cicatrículas e fissuras, e o espaço interdental. Informações sobre frequência de escovação, ingestão de lanches e o tipo de bebida favorita foram obtidas por meio de uma entrevista. A saliva não estimulada foi coletada em um tubo de 15 ml de polipropileno (instalado com um funil), entre 9h00min e 11h00min da manhã, no mínimo duas horas após o café da manhã. A concentração de IgA específica para *S. mutans* foi mensurada por meio do teste ELISA, repetido duas vezes. A média do CPO-D, assim como a média do ceo-d foram muito menores nos pacientes com SD (6,84) do que no grupo C (34,81). Nos outros índices avaliados, não se observou diferença significativa entre os grupos. A frequência de escovação, a ingestão de lanches e o tipo de bebida favorita foram similares entre os dois grupos. Os sorotipos g-sIgA e c-dIgA em crianças com SD foram considerados excessivos em relação ao grupo C e o total da concentração de IgA na saliva foi similar entre os

dois grupos. Em conclusão, esse estudo sugeriu que crianças com SD têm menor prevalência de cárie dentária do que as crianças sem a síndrome, o que poderia significar uma maior quantidade de anticorpos IgA específicos para o *S. mutans*. Os autores sugeriram, no entanto, que esses resultados precisariam ser confirmados em outros estudos mais bem desenhados.

Fung e Allison (2005) compararam a prevalência de cárie dentária em um grupo de indivíduos com SD ($n = 44$) com um grupo controle de indivíduos não síndrômicos ($n = 84$) pareado por idade. A prevalência de cárie dentária foi determinada por um escore ajustado do índice de dentes permanentes cariados e obturados (CO-D), que foi expresso como uma proporção do número de dentes na boca, para controlar a hipodontia nos indivíduos com SD. Análise bivariada e análise de regressão linear múltipla foram usadas para comparar a frequência de cárie dentária entre participantes com e sem SD. Em uma escala de 0-1, os escores médios ajustados do índice CO-D foram de 0,10 em indivíduos com SD e 0,18 no grupo controle. Embora esta diferença tenha sido significativa na análise bivariada, no modelo de regressão múltipla o escore ajustado do índice CO-D foi associado com a idade e com aplicação de flúor profissional.

Cogulu et al. (2006a) compararam a prevalência de cárie dentária e os níveis salivares de IgA secretora (sIgA), o pH, o fluxo e a capacidade tampão da saliva entre crianças com e sem SD. O estudo incluiu uma amostra de 73 (setenta e três) crianças institucionalizadas com SD e 70 (setenta) crianças não síndrômicas com idades entre sete e 12 anos. Hábitos de escovação e de dieta das crianças, renda familiar e nível de educação dos pais foram registrados. Os índices CPO-S e co-s (índice de superfícies de dentes decíduos cariadas e obturadas) foram avaliados de acordo com critérios da OMS e amostras de saliva estimulada foram coletadas. Os níveis salivares de sIgA foram determinados pela técnica de imunodifusão radial, a taxa média de fluxo salivar foi medida a partir do volume total, e o pH e a capacidade tampão da saliva foram determinados utilizando-se um microeletrodo de pH. Os índices CPO-S e co-s foram significativamente menores no grupo com SD que o grupo controle ($p < 0,05$). A diferença de escores de biofilme bacteriano entre os grupos SD e controle não foi estatisticamente significativa ($p > 0,05$). Não houve diferenças significativas entre os dois grupos quanto aos hábitos de escovação e de dieta das crianças, renda familiar e nível de educação dos pais ($p > 0,05$). Os níveis salivares de sIgA foram significativamente maiores no

grupo SD ($p < 0,05$). O pH, a capacidade tampão e fluxo salivar foram bastante semelhantes em ambos os grupos ($p > 0,05$). Em conclusão, os pacientes com SD apresentaram uma prevalência significativamente menor de cárie dentária e níveis significativamente mais elevados de sIgA salivar neste estudo. Estes achados apoiaram a hipótese de que os níveis mais elevados de sIgA salivar podem ser um fator protetor para as crianças com SD contra a cárie dentária.

Cogulu et al. (2006b) compararam a prevalência de cárie dentária em crianças com SD ($n = 60$) e sem SD (grupo controle – C – $n = 64$), com idades entre sete e 12 anos, e investigaram os genótipos de *S. mutans* colonizados nos dois grupos. Hábitos de escovação dentária, diário alimentar, renda familiar e nível educacional dos pais foram registrados em um questionário estruturado. O exame clínico das crianças foi conduzido por um odontopediatra com auxílio de espelho clínico e sonda exploradora para a obtenção do índice CPO-D. As amostras de saliva estimulada foram coletadas entre 9h00min e 12h00min e cada criança foi instruída a não se alimentar por duas horas antes da consulta, e nem a escovar os dentes nas 24 horas anteriores ao exame. O índice de cárie dentária em crianças com SD foi significativamente menor do que o encontrado no grupo C. Entretanto, não se observou diferença significativa nos níveis salivares de *S. mutans* entre os dois grupos. De acordo com os resultados da análise da reação em cadeia da polimerase com *primers* arbitrários (*AP-PCR – Arbitrary Primed Polymerase Chain Reaction*), todos os perfis de *S. mutans* encontrados nas crianças com SD foram diferentes dos encontrados no grupo C. A relação entre esses diferentes perfis e a prevalência de cárie dentária foi significativa. A baixa prevalência da doença determinada pode ter sido resultado da colonização de perfis de *S. mutans* menos cariogênicos no grupo com SD ou da presença de diferentes cepas acidogênicas ou acidúricas.

Castilho, Pardi e Pereira (2007) examinaram o fluxo salivar e a capacidade tampão da saliva, determinaram a contagem de *S. mutans*, e correlacionaram esses dados com a prevalência de cárie dentária em indivíduos com SD ($n = 60$), de ambos os sexos, na faixa etária entre um e 48 anos, os quais foram divididos de acordo com a idade. Um grupo controle não foi incluído. Um único examinador treinado e calibrado realizou o exame clínico para determinação dos índices CPO-D e ceo-d. As amostras de saliva foram coletadas entre 8h00min e 9h00min e entre 13h30min e 14h30min, de acordo com o agendamento da consulta.

Saliva estimulada (1,5 ml) foi coletada para a análise microbiológica. Em 40 (quarenta) participantes, a saliva foi coletada por meio de um swab e diluída em água destilada. Os valores médios do CPO-D e do CPO-S foram 1,55 e 2,55 respectivamente. Entre os 18 (dezoito) indivíduos nos quais a coleta da saliva foi possível, observaram-se os seguintes resultados: baixo fluxo salivar em 94%; baixa capacidade tampão da saliva em 44%, capacidade tampão limite em 39%, e capacidade tampão normal em 16%. Altos níveis de UFC/ml ($> 1.000.000$ de *S. mutans*) foram identificados em 60% da amostra. Os índices CPO-D e ceo-d tiveram uma correlação positiva significativa com a idade. No entanto, não houve correlação significativa entre o índice CPO-D e capacidade tampão, fluxo salivar e número de colônias de *S. mutans*. Frente à alta prevalência de cárie dentária, baixa capacidade tampão da saliva, menor fluxo salivar e alta contagem de *S. mutans* encontrados na amostra estudada, os autores sugeriram a condução de outros estudos para avaliar a relação de fatores como hábitos de dieta e de higiene bucal para uma melhor compreensão do desenvolvimento da doença entre indivíduos com SD.

Jović et al. (2007) avaliaram as condições de saúde bucal e a prevalência de cárie dentária em um grupo de 80 (oitenta) crianças deficientes (paralisia cerebral, RM, SD, autismo e desordens de fala e audição), em comparação com um grupo de 80 (oitenta) crianças não deficientes. Determinaram-se os índices CPO-D, ceo-d e o de higiene oral. Os dados obtidos foram registrados junto com um questionário dirigido aos pais. Houve uma diferença significativa na qualidade de higiene bucal na dentição decídua ($p = 0,033$), dentição mista ($p < 0,001$) e dentição permanente ($p < 0,001$) em ambos os grupos. Não houve diferença significativa nos valores dos índices CPO-D e ceo-d entre os grupos estudados. Os valores do índice de higiene oral variaram de 3,8 a 4,53 entre as crianças deficientes, e de 2,73 a 2,84 nas crianças não deficientes. Entre as crianças com dentição decídua apenas, o índice ceo-d médio foi 3,42 no grupo com deficiência e 1,43 no grupo não deficiente. Entre as crianças em fase de dentição mista, o índice ceo-d médio foi 5,24 naquelas com deficiência e 5,1 naquelas não deficientes. Em relação ao CPO-D, as crianças deficientes apresentaram um índice médio de 1,41 para aquelas em fase de dentição mista e 6,39 naquelas com dentição permanente, enquanto as crianças não deficientes apresentaram índice médio de 1,23 para dentição mista e 4,76 para a dentição permanente. Os resultados demonstraram, portanto, um nível de higiene bucal significativamente mais baixo no grupo de crianças com deficiência e uma alta

prevalência de cárie dentária em ambos os grupos. Concluiu-se que o cuidado preventivo na população da Croácia ainda é insatisfatório, e que o atendimento odontológico, especialmente em relação a crianças deficientes, não tem uma organização adequada no país, indicando, desta forma, a necessidade de mudanças para melhorar os programas preventivos e promover a saúde bucal, particularmente entre as crianças com necessidades especiais.

Fung, Lawrence e Allison (2008) investigaram as diferenças no tratamento restaurador entre um grupo de crianças com SD e um grupo controle (C). Foram convidadas a participar do estudo 2327 (duas mil, trezentas e vinte e sete) famílias da Sociedade Canadense de Síndrome de Down que tinham uma ou mais crianças com SD. Apenas 793 (setecentas e noventa e três) famílias tiveram todas as variáveis necessárias completas para cumprir a exigência das informações para a participação no estudo. Entre as questões sociodemográficas pesquisadas estavam idade, sexo, localização residencial, atividades diárias e *status* geral de saúde. O questionário ainda continha perguntas sobre dentes restaurados e o potencial preditor para receber uma restauração. Outras variáveis avaliadas foram em relação ao uso de suplementos fluoretados em casa, aplicação profissional de flúor, escovação dentária diária e consulta anual com CD. Após a análise descritiva, foi utilizada uma análise bivariada para avaliar a associação entre ter algum dente restaurado com todas as outras variáveis independentes e foi obtido como resultado uma significância estatística entre todas elas. No entanto, as chances de ter restaurações dentárias diminuíram de acordo com o aumento do nível de educação dos pais. Além disso, os moradores da área urbana tiveram um risco significativamente menor de restauração dentária comparado com os moradores da zona rural. As variáveis clínicas consulta anual, uso de suplemento fluoretado e tratamento profissional com flúor estiveram associadas à maior chance de ter uma restauração dentária, e indivíduos com dificuldades em consultar um CD demonstraram probabilidades reduzidas de possuir uma restauração. Os resultados desse estudo sugeriram que, controlando as variáveis ambiente familiar, local residencial, variáveis clínicas odontológicas e idade, as crianças com SD são menos propensas a ter um dente restaurado do que um irmão sem SD.

Linossier, Valenzuela e Toledo (2008) identificaram e quantificaram, por meio de métodos sorológicos, *S. mutans* na saliva de pacientes com SD e RM da região sul metropolitana de Santiago, no Chile. Participaram do estudo 179 (cento e

setenta e nove) crianças e adolescentes, com idade entre cinco e 19 anos, sendo 59 (cinquenta e nove) com SD, 60 (sessenta) com RM e 60 (sessenta) não deficientes formando o grupo controle (C). A saliva foi coletada duas horas após o café da manhã e depois de ser feita uma escovação por 30 segundos pelo CD. O fluxo salivar foi estimulado pela aplicação de uma solução de ácido cítrico a 1% no dorso da língua. As amostras de saliva foram cultivadas em ágar *TYCSB* para a contagem de bactérias e para os testes químicos e sorológicos. A contagem de *S. mutans* na saliva foi maior em SD e RM do que no grupo C. O resultado mais visível foi que no grupo C, tanto os pacientes do sexo masculino como os do sexo feminino não apresentaram nenhuma bactéria *No-tip*, enquanto nos grupos SD e RM esta foi encontrada e significativa para as crianças e adolescentes do sexo masculino ($p = 0,0025$ e $p = 0,026$ respectivamente). A contagem de bactérias foi realizada para o sexo masculino e feminino separadamente. Em pacientes do sexo masculino, o grupo experimental teve um resultado altamente significativo ($p = 0,001$) devido à baixa contagem (4,1) do grupo C e do grupo SD (4,2), mas a diferença foi determinada principalmente devido à alta contagem do grupo RM (5,2). Quando a idade e o sorotipo foram analisados separadamente, não houve resultado significativo. Entre as participantes do sexo feminino, não foi obtida heterogeneidade significativa por grupo, sorotipo e idade. Com esses resultados, concluiu-se que a bactéria *No-tip* foi ausente no grupo C e presente nos grupos SD e RM. Isso indicou uma diferença nas condições imunológicas e ecológicas entre esses grupos. A contagem de *S. mutans* na saliva foi maior em SD e RM do que no grupo C.

Oliveira et al. (2008) analisaram os fatores relacionados à atenção odontológica recebida por crianças e adolescentes com SD. Foi realizado um estudo transversal com 112 (cento e doze) crianças e adolescentes com SD, na faixa etária entre três e 18 anos, acompanhados de suas mães. Estes foram recrutados em um ambulatório de genética médica de um hospital, na cidade do Rio de Janeiro, que assiste pacientes de vários estados brasileiros, porém não conta com um serviço de atendimento odontológico local. Um questionário estruturado foi aplicado às mães para investigar a atenção odontológica ao seu filho, com a pergunta: "Seu filho já foi ao dentista?". Além disso, foram registrados aspectos econômicos, características demográficas e informações sobre o fato de essas mães já terem sido orientadas por algum profissional que cuida ou já cuidou do seu filho em relação à importância de levá-lo a um CD. As variáveis independentes foram: hábito de bruxismo; história

prévia de cirurgia; prevalência de infecções das vias aéreas superiores nos últimos seis meses; e percepção sobre a estética dos dentes dos filhos. O exame clínico bucal foi realizado por um dos autores e foram observadas a presença de má oclusão, a presença de lesões de cárie dentária e a qualidade da higiene bucal das crianças e adolescentes. Do grupo estudado, 79,5% tinham ido ao menos uma vez ao CD e 79% pertenciam à classe econômica menos favorecida (classes D e E). No exame clínico, 74% dos pacientes foram identificados com má oclusão e 37% com pelo menos um dente com lesão de cárie dentária. A higiene bucal foi classificada como suficiente em 87% dos casos. Concluiu-se que a atenção odontológica recebida pelas crianças e adolescentes com SD foi influenciada, além da idade, pela postura dos profissionais que as assistem, mostrando a importância desses cuidadores atuarem com uma prática de atendimento integral.

Aboul El-Yazeed et al. (2009) investigaram a relação entre a variação da composição salivar e a cárie dentária, em um grupo de crianças egípcias com SD. Foram incluídas 30 (trinta) crianças com idade entre oito e 14 anos, sendo 20 (vinte) com SD e dez não sindrômicas. O índice de cárie dentária foi avaliado de acordo com a OMS e foram coletados 5 ml de saliva de cada participante (1 ml para o teste de PCR para IgA; 1 ml para o teste de eletrólitos; 2 ml para o pH e viscosidade da saliva; e 1 ml para a cultura de *S. mutans*). Os resultados mostraram que o índice de cárie dentária foi menor no grupo de crianças com SD, assim como os valores de pH e viscosidade. Crianças sem a síndrome apresentaram um nível mais alto na proporção de *S. mutans* e mais baixo em relação ao nível de eletrólitos na saliva e IgA. Para o grupo de crianças não sindrômicas, houve uma direta correlação entre PCR, CPO e cultura de *S. mutans* e uma correlação negativa entre PCR e IgA. Nas crianças com SD, houve uma correlação positiva significativa entre PCR, CPO e *S. mutans*, e uma correlação inversa entre PCR e IgA não significativa. Considerando a correlação entre IgA, CPO e cultura de *S. mutans* nas crianças não sindrômicas, houve uma correlação negativa significativa. Quando o valor do pH foi correlacionado com o CPO, foi encontrada uma correlação inversa significativa entre eles. E houve uma correlação positiva significativa entre CPO e contagem de *S. mutans*. Com os resultados obtidos, concluiu-se que o baixo índice de cárie dentária observado em crianças com SD comparado ao das crianças não sindrômicas está relacionado com a baixa viscosidade da saliva, a baixa contagem de *S. mutans*, a

alta concentração de eletrólitos salivares e a uma significativa elevação de IgA na saliva.

Ferreira (2009) investigou os níveis salivares de *S. mutans*, *S. sobrinus* e lactobacilos, por meio da contagem de UFC em crianças com SD (n = 20) e em um grupo controle (GC; n = 20) constituído por irmãos não síndrômicos. A detecção dos níveis salivares de *S. mutans*, *S. sobrinus* e lactobacilos foi realizada pelo método descrito por Krasse, em 1986. Foi observado que a maioria das crianças com SD e do GC apresentou baixa contagem de *S. mutans* e alta contagem lactobacilos.

Castilho e Marta (2010) avaliaram o impacto de um programa preventivo na incidência de cárie dentária em indivíduos com SD. A amostra foi composta por 24 (vinte e quatro) indivíduos com SD de ambos os sexos, com idade entre um e 48 anos. O exame clínico foi realizado por um único examinador com o objetivo de obter os índices CPO-D, CPO-S, ceo-d e ceo-s. Posteriormente, os participantes foram submetidos à rotina de prevenção constituída por profilaxias profissionais mensalmente e orientações de higiene bucal (técnicas de escovação e uso de fio dental) dirigidas ao paciente e aos seus responsáveis. Decorridos doze meses do exame clínico inicial, nova avaliação dos índices de cárie dentária foi realizada com o objetivo de verificar a incidência de novas lesões da doença. Os dados anotados nas fichas apropriadas permitiram a comparação das condições inicial e final. Foram encontrados valores baixos dos índices CPO-D, CPO-S, ceo-d e ceo-s e uma alta porcentagem de indivíduos livres de cárie (42%). Além disso, foi observada a incidência de quatro novas lesões de cárie dentária demonstradas apenas pelo índice CPO-S no período da avaliação. Não houve incidência de cárie dentária nos demais índices utilizados. Concluiu-se que os indivíduos com SD avaliados nesse estudo apresentaram baixos índices de cárie dentária, com incidência de novas lesões praticamente desprezível no período avaliado. Os resultados encontrados enfatizaram a importância da implementação de programas preventivos contínuos para o controle da cárie dentária, direcionados não apenas aos indivíduos com SD, mas também àqueles com outras necessidades especiais, a fim de promover a saúde bucal e a qualidade de vida dessa população.

Davidovich et al. (2010) investigaram o estado de saúde bucal, o pH da mucosa bucal e a concentração de íons salivares entre crianças com SD e crianças não síndrômicas. Foram examinadas 70 (setenta) crianças com SD e 32 (trinta e duas crianças) sem a síndrome selecionadas para o grupo controle (C). Os

participantes de cada grupo foram divididos em um subgrupo livre de cárie e um subgrupo com a presença da doença, e foi realizado um exame clínico para a obtenção do índice CPO-D. Também foram analisados o índice de biofilme bacteriano e o índice gengival. Saliva não estimulada foi coletada na região do assoalho da boca, próxima às saídas dos ductos de Wharton com uma seringa de 2 mm. As crianças mais velhas cuspiram em um recipiente. A coleta foi feita entre 8h00min e 12h00min da manhã, uma hora após a alimentação ou a escovação dentária. Observou-se que a média do CPO-D no grupo com SD foi significativamente menor do que no grupo C. A média do nível do pH em crianças SD com cárie dentária foi significativamente menor do que nas crianças SD livres de cárie e nas crianças do grupo C com e sem cárie dentária. Níveis de cloro (Cl) e cálcio (Ca) foram significativamente mais altos em crianças com SD com cárie dentária, em comparação com crianças do grupo C com e sem cárie dentária. Os níveis de sódio (Na) e potássio (K) foram significativamente mais altos em crianças com SD com cárie dentária, comparadas com crianças com SD livres de cárie. O índice de biofilme bacteriano e o índice gengival foram significativamente menores nas crianças com SD livres de cárie. Concluiu-se que tanto o pH quanto as substâncias químicas da saliva (Cl, Ca, Na e K) foram diferentes em crianças com SD com experiência de cárie dentária comparadas à crianças do grupo controle. A diferença entre os grupos foi mais proeminente em relação à cárie dentária, porém todas as variáveis, avaliadas em conjunto, não explicaram exatamente a baixa prevalência de cárie dentária em crianças com SD, apenas demonstraram a complexa natureza da doença. Além disso, sugeriu-se que as manifestações da SD interferem nas glândulas salivares, fazendo com que haja uma diferença no envolvimento dos eletrólitos, interferindo no processo da cárie dentária.

Al-Khadra (2011) determinou a prevalência de cárie dentária e o *status* de higiene bucal de pacientes com SD na cidade de Riyadh, Arábia Saudita. Um total de 224 (duzentos e vinte e quatro) participantes (cento e trinta e um do sexo masculino e noventa e três do sexo feminino), com idade entre três e 22 anos, foi dividido em três grupos de acordo com a idade: 3-6, 7-14 e 15-21 anos. Um único examinador examinou os participantes segundo os critérios da OMS para o diagnóstico da cárie dentária e classificou o *status* de higiene bucal como bom, adequado ou pobre. Após um questionamento sobre complicações médicas, foi revelado que 30 (trinta) pacientes possuíam história de cirurgia cardíaca, 38 (trinta e

oito) tinham asma, dez sofriam de hipotireoidismo, 18 (dezoito) apresentavam algum outro problema médico como epilepsia, alergia e diabetes *mellitus* e 128 (cento e vinte e oito) não relataram nenhuma alteração de saúde. A prevalência de cárie dentária no grupo foi de 89% e a média do CPO-D foi de $11,99 \pm 3,91$ para os homens e $12,07 \pm 4,22$ para as mulheres. De acordo com a divisão por idade, a média do índice ceo-d no primeiro grupo foi de $4,71 \pm 1,27$ e do índice CPO-D no segundo e no terceiro grupos foi $6,09 \pm 2,34$ e $3,93 \pm 1,64$, respectivamente. Para 66% da amostra, o *status* de higiene bucal foi classificado como adequado, enquanto 25% apresentaram um índice pobre e apenas em 9% da amostra observou-se bom índice de higiene bucal.

Areias et al. (2011) avaliaram os fatores do hospedeiro e do meio associados com a cárie dentária em crianças portuguesas com e sem SD, por meio de um estudo transversal que incluiu 45 (quarenta e cinco) crianças e adolescentes, entre seis e 18 anos e um grupo controle (C; n = 45) de irmãos com idades semelhantes. Os dados foram adquiridos por meio da aplicação de um completo questionário que abordou aspectos sociodemográficos como idade, sexo e localização da residência, assim como o *status* de saúde geral, pessoal e familiar, além de hábitos deletérios. O índice CPO-D foi determinado e foram observadas variáveis como dieta, uso de fluoretos, escovação diária e primeira visita ao CD. As crianças com SD livres de cárie (78%) tiveram uma diferença significativa em relação aos seus irmãos não sindrômicos (58%). Além disso, o estudo demonstrou que as crianças com SD têm menor índice CPO-D do que as crianças sem a síndrome. Em relação aos hábitos alimentares, observou-se o consumo de comidas doces e ácidas semelhantes entre as crianças com ou sem a síndrome. Ambos os grupos apresentaram a mesma frequência de escovação, utilizavam o mesmo tipo de escova e faziam uso de bochechos fluoretados. As crianças com SD tiveram a primeira consulta ao CD mais cedo (antes dos três anos de idade) e apresentaram mais comumente hábitos de bruxismo e um atraso na erupção dentária. Com os resultados observados, concluiu-se que a baixa prevalência da cárie dentária nas crianças com SD pode estar associada a um maior cuidado dos pais e responsáveis em relação à saúde bucal, o que resulta em uma visita mais precoce ao CD. Em adição, hábitos como o bruxismo e o fato das crianças com SD apresentarem um atraso na erupção dentária também podem estar relacionados a essa baixa

prevalência da doença. Contudo, mais estudos foram sugeridos para identificar outros fatores protetores da cárie dentária em crianças com SD.

Castilho, Pardi e Pereira (2011) avaliaram a ocorrência de cárie dentária, o perfil salivar e a prevalência de *S. mutans* e *S. sobrinus* em indivíduos com SD. O grupo estudado compreendeu 60 (sessenta) pacientes com SD de ambos os sexos e com a faixa etária entre um e 48 anos. Os voluntários foram divididos em seis grupos de acordo com a idade. Um grupo controle não foi incluído. O exame clínico dos pacientes foi realizado para determinar os índices ceo-d e CPO-D. Nenhuma informação sobre dieta e higiene bucal foi coletada antes do exame. Amostras de saliva estimulada foram coletadas entre 8h00min e 9h00min da manhã. Foram registrados o fluxo salivar (ml/min) e a capacidade tampão. Além disso, 25 µl de saliva foram diluídos e colocados em ágar *Mitis-Salivarius-Bacitracina* (MSB) para a contagem de UFC/ml de *S. mutans*. A reação em cadeia da polimerase identificou as espécies. Observou-se que entre os indivíduos livres de cárie, 29% eram crianças e 7% adultos. A análise salivar foi feita em apenas 18 (dezoito) participantes devido à dificuldade de coleta nos demais, e entre estes, 17 (dezessete) apresentaram uma velocidade do fluxo mais lenta enquanto apenas um apresentou uma velocidade de fluxo normal. A capacidade tampão foi menor (pH < 4) em 44% da amostra, no limite (pH = 4-5) em 39% e apenas 7% apresentaram valores normais (pH = 5-7). As colônias de *S. mutans* foram determinadas em 58 (cinquenta e oito) participantes, dos quais 60% mostraram altos valores de UFC/ml e 40% obtiveram menores valores desses micro-organismos. Do total de 329 (trezentas e vinte e nove) espécies isoladas, 35,6% das colônias foram identificadas como *S. mutans*, 11,2% como espécies de *S. sobrinus* e 53% foram classificadas como outras espécies do grupo *mutans*. Houve uma correlação positiva significativa entre CPO-D e idade. Entretanto, não houve correlação entre CPO-D e capacidade tampão, fluxo salivar e contagem de *S. mutans* e *S. sobrinus*. Com esses resultados, sugeriu-se a realização de outros estudos para uma melhor elucidação do mecanismo da etiologia e desenvolvimento da condição patológica desses indivíduos, podendo incluir a investigação dos componentes salivares, como as imunoglobulinas e outros fatores relacionados com a microbiota oral. Além disso, a diversidade de tipos de *S. mutans* e *S. sobrinus*, seus mecanismos de virulência e peculiaridades metabólicas também mereceriam ser estudados.

Mathias, Simionato e Guaré (2011) avaliaram os fatores clínicos, os níveis microbiológicos e os hábitos de higiene bucal em relação à cárie dentária na dentição decídua de crianças com SD. O grupo estudado foi composto por 69 (sessenta e nove) crianças sindrômicas entre 13 e 85 meses de vida, e o grupo controle (C) incluiu 69 (sessenta e nove) crianças sem anomalias congênitas que foram pareadas com o grupo “caso” considerando sexo, idade e número de dentes presentes na cavidade bucal. Parâmetros como hábitos de higiene bucal, níveis de *S. mutans* e lactobacilos foram considerados, além do índice gengival modificado (IGM) e do índice de higiene oral simplificado (IHOS). A gravidade da cárie dentária foi determinada pelo índice ceo-d. Amostras de saliva não estimulada foram coletadas para determinar o índice de lactobacilos. Além disso, utilizaram placas de ágar MSB para a obtenção da contagem de *S. mutans*. Os resultados mostraram que crianças com SD visitam o CD mais regularmente do que as crianças sem a síndrome e que, em geral, escovam os dentes mais vezes ao dia. Entretanto, o grupo caso utiliza o fio dental com menos frequência que o grupo controle. Foi observado também que as mães de crianças com SD não trabalham fora de casa, enquanto as demais geralmente têm um emprego. Houve uma diferença significativa na contagem de *S. mutans*; enquanto a contagem média (de 105 a 106 UFCs de *S. mutans*/ml de saliva) foi mais frequente no grupo controle, a contagem alta (acima de 106 UFCs) foi mais frequente no grupo de crianças com SD. Nenhuma diferença significativa foi registrada em relação à baixa contagem. Entretanto, não foi encontrada diferença significativa no índice ceo-d entre os grupos, embora as crianças com alto nível na contagem de *S. mutans* tenham demonstrado mais propensão à cárie dentária. Em relação à contagem de lactobacilos, não houve diferença estatística entre os dois grupos, diferentemente do IGM que se apresentou significativamente maior nas crianças com SD. Por outro lado, o IHOS foi significativamente menor nas crianças com SD. A análise de regressão logística mostrou que no grupo “caso”, a idade, o IGM e a contagem de *S. mutans* foram positivamente associados com a cárie dentária ($p < 0,05$).

Al Habashneh et al. (2012) avaliaram a condição bucal e a necessidade de tratamento, de tecidos duros e moles, assim como as razões para não comparecer ao atendimento odontológico, entre crianças com SD registradas em centros de necessidades especiais na Jordânia. A amostra foi composta por um total de 206 (duzentos e seis) participantes, com idade média de $13,66 \pm 1,47$,

compreendendo 103 (cento e três) com SD e 103 (cento e três) crianças de escolas públicas (grupo controle), pareadas por idade e sexo. Os níveis clínicos de higiene bucal foram avaliados pelo índice de higiene oral simplificado, e a detecção de cárie dentária foi realizada de acordo com os critérios da OMS. As crianças com SD apresentaram uma porcentagem significativamente maior ($p < 0,001$) de superfícies com índice gengival grave ($39,9 \pm 9,1$) que o grupo controle ($15,9 \pm 8,0$), e maior média de profundidade de sondagem que crianças sem SD ($2,27 \pm 0,2$ versus $1,81 \pm 0,32$; $p < 0,000$). Na comparação por sexo, o índice CPO-D médio foi significativamente menor entre meninos com SD ($p = 0,034$). Nenhuma diferença significativa foi observada entre meninos e meninas dentro de cada grupo, nem tampouco se observou diferença significativa na porcentagem de crianças livres de cárie entre participantes com SD (43,7%) e sem SD (50,2%). Cerca de um terço (32%) dos participantes com SD nunca tinha visitado um CD, em comparação com 15,5% dos participantes não síndrômicos, embora, segundo os autores, a falta de acesso ao cuidado não seja limitada a pessoas com SD na Jordânia. A razão mais comumente citada para não levar a criança ao CD no grupo SD foi que a mãe não era consciente dos problemas dentários de seus filhos. As mães das crianças não síndrômicas tinham maior consciência dos problemas de saúde bucal de seus filhos do que as mães das crianças com SD. Concluiu-se que indivíduos com SD na Jordânia têm pobre condição de saúde bucal e acesso limitado ao cuidado, além do pouco conhecimento de suas mães a respeito das suas necessidades de tratamento odontológico.

Areias et al. (2012) avaliaram os fatores de risco para o desenvolvimento de cárie dentária em crianças portuguesas com SD em comparação com seus irmãos. O estudo incluiu 45 (quarenta e cinco) pares de irmãos, com idade entre seis e 18 anos. Em ambos os grupos, foram registrados os índices ceo-d e CPO-D para caracterizar a história de cárie dentária. Nas análises microbiológicas da saliva, foram avaliados e comparados o número de UFC/ml de *S. mutans* em ágar MSB, de lactobacilos em ágar rogosa com ácido acético glacial a 13%, e de espécies de *Candida* em ágar *sabouraud* com cloranfenicol. O fluxo e o pH salivar foram determinados imediatamente após a coleta da saliva e a concentração de IgA na saliva total foi analisada por imunoturbidimetria. O grupo com SD apresentou uma taxa maior de participantes livres de cárie ($p < 0,05$) e mais baixas contagens de *S. mutans* na saliva ($p < 0,03$). Números semelhantes de UFC de lactobacilos e

espécies de *Candida* foram observados em ambos os grupos. O fluxo salivar das crianças e adolescentes com SD foi significativamente mais baixo ($p < 0,05$), porém o pH salivar não diferiu entre os grupos. A taxa de secreção de IgA foi mais baixa entre os participantes com SD, sem diferença estatística significativa, contudo. Segundo os autores, o mais baixo número de colônias de *S. mutans* pode ser um dos fatores que contribuíram para a mais baixa experiência de cárie dentária observada, a despeito da hipossalivação.

Macho et al. (2013) conduziram um estudo epidemiológico transversal com o objetivo de verificar as diferenças na prevalência de cárie dentária entre indivíduos com SD e seus irmãos, de quinze distritos de Portugal. O estudo envolveu 138 (cento e trinta e oito), (62%) participantes com SD e 86 (oitenta e seis) irmãos (38%), com idades entre dois e 26 anos, divididos em diferentes subgrupos por faixa etária, da seguinte forma: de dois a 6 anos; de seis a 12 anos; e de 13 a 26 anos. Os dados foram coletados por meio da aplicação de um questionário completo e da observação clínica. O grupo SD apresentou uma porcentagem significativamente maior de crianças livres de cárie: 72% contra 46% do grupo de irmãos ($p < 0,001$). No primeiro subgrupo, o valor da mediana do índice CPO-D foi o mesmo em ambos os grupos ($p = 0,918$). No segundo subgrupo, o valor da mediana do índice CPO-D no grupo SD foi de 0 e no grupo de irmãos foi de 1 ($p = 0,004$). No terceiro subgrupo, o valor da mediana do índice CPO-D no grupo SD foi de 0, ao passo que no grupo de irmãos, o valor médio foi de 3, com diferença fortemente significativa ($p = 0,003$). Para os autores, os resultados sugeriram que crianças portuguesas com SD têm mais baixa prevalência de cárie dentária que seus irmãos.

2.2 HIBRIDIZAÇÃO *IN SITU* FLUORESCENTE (*FISH*)

Giovannoni et al. (1988) foram os responsáveis por introduzir a técnica de *FISH* na bacteriologia, utilizando sondas radioativas de oligonucleotídeos de ácido ribonucléico ribossômico (RNAr) para a detecção microscópica de bactérias.

DeLong, Wickham e Pace (1989) utilizaram em seu estudo sondas de oligonucleotídeos como marcadores fluorescentes, não radioativos, para a detecção de células bacterianas. Para os autores, quando comparadas com as sondas

radioativas, as sondas fluorescentes são mais seguras, oferecem melhor resolução, não necessitam de passos adicionais e podem ser marcadas com corantes de diferentes comprimentos de onda, o que permite a detecção de várias sequências com uma única hibridização.

Amann et al. (1990) utilizaram sondas fluorescentes de hibridização de nucleotídeos para marcar as células bacterianas para análise por citometria de fluxo.

Paster, Bartoszyk e Dewhirst (1998) descreveram uma sonda específica para diagnóstico de estreptococos (STR405), e desenvolveram também uma sonda específica para identificação de *S. mutans* (MUT590) e outra para a identificação de *S. sobrinus* (SOB174).

Moter e Göbel (2000), em um estudo de revisão de literatura, definiram a técnica de *FISH* como uma ferramenta da biologia molecular que utiliza sondas de RNAr com marcadores fluorescentes e promove a identificação de bactérias sem a necessidade de cultivo prévio. As sondas fluorescentes utilizadas nesta técnica são consideradas mais seguras, oferecem melhor resolução, não necessitam de passos adicionais e podem ser marcadas com corantes de diferentes comprimentos de onda, o que permite a detecção de várias sequências com uma única hibridização. Os corantes marcadores utilizados são derivados fluorescentes, como o Cy3 e o Cy5, que são superiores por promover coloração mais brilhante e serem estáveis à fotodegradação. Os autores também discutiram as vantagens da técnica de *FISH* sobre as técnicas de cultura de micro-organismos e sobre outras técnicas moleculares, como a *PCR*. As técnicas de cultura são muito demoradas, seletivas e não refletem a composição exata de comunidades bacterianas mistas ou a diversidade microbiana em infecções. Já as técnicas moleculares, como a *PCR*, podem ser usadas com sucesso na microbiologia clínica para detectar micro-organismos de crescimento lento ou de difícil cultivo, porém não fornecem informações sobre a morfologia, o número e a distribuição espacial dos mesmos. A técnica de *FISH* torna possível combinar a precisão da genética molecular com a informação visual da microscopia, e possibilita, simultaneamente, a visualização, identificação, enumeração e localização dos micro-organismos tanto em seu *habitat* natural como em tecidos doentes, tornando-se útil para a descrição de análises da microbiota habitual e de infecções microbianas mistas na cavidade bucal. Em relação à técnica, os autores apresentaram os seguintes passos: fixação da amostra; preparo da amostra; hibridização com a sonda específica para detecção

das respectivas sequências marcadas; lavagem para remoção das sondas que não ligaram; montagem, visualização e documentação dos resultados.

Thurnheer et al. (2001) identificaram diferentes grupos de estreptococos no biofilme bacteriano supragengival, utilizando a técnica de *FISH* em combinação com análises de imagens digitais para a contagem das células marcadas. Foram utilizadas sondas espécie-específicas de oligonucleotídeos 16S RNAr, entre elas sondas para identificação de *S. mutans* (MUT590) e de *S. sobrinus* (SOB174). Foi verificado no estudo que as sondas citadas foram adequadas para a identificação destes micro-organismos, concluindo-se que a utilização da técnica de *FISH* com análises de imagens digitais são uma alternativa de economia de tempo em relação às técnicas de cultura ou *PCR* para enumeração de estreptococos orais presentes no biofilme bacteriano.

Thurnheer, Gmür e Guggenheim (2004) desenvolveram um procedimento, baseado na técnica de *FISH* e na microscopia confocal, para a análise da organização espacial de biofilmes *in vitro* que contêm bactérias orais tanto Gram-negativas como Gram-positivas, incluindo o *S. sobrinus*, identificado pela sonda de oligonucleotídeo 16S RNAr SOB174. Os resultados demonstraram que a investigação simultânea pela técnica de *FISH* de biofilmes bacterianos complexos compostos de múltiplas espécies bacterianas é possível.

Del'Duca e Cesar (2007) definiram a técnica de *FISH* como uma técnica de biologia molecular que se baseia na hibridização de sondas de oligonucleotídeos, marcadas com fluorocromos, complementares de genes-alvo específicos para a detecção de micro-organismos sem a necessidade de cultivo prévio. Os marcadores de oligonucleotídeos de RNAr são os mais utilizados e podem ser construídos com diferentes fluorocromos, sendo o Cy3 o mais utilizado. A identificação dos micro-organismos pode ser realizada por meio de microscopia de epifluorescência, microscopia de varredura ou citometria de fluxo.

Loy et al. (2007) informaram a existência de um banco de dados na *internet* com sondas de oligonucleotídeos de RNAr, o *probeBase*, que foi desenvolvido em 2002 com o objetivo de facilitar os pesquisadores a encontrarem sondas já desenvolvidas e publicadas e fornecer informações sobre especificidade e cobertura das mesmas. Esse banco de dados consta de 1258 (mil duzentas e cinquenta e oito) sondas e oito microarranjos de 266 (duzentas e sessenta e seis) referências e é frequentemente consultado por pesquisadores de todo mundo.

Klug et al. (2011) avaliaram amostras de biofilme bacteriano de aparelhos ortodônticos (disjuntor palatino), por meio da técnica de *FISH*. Foi utilizada, entre outras sondas, a sonda específica de *S. mutans* (MUT590). Os autores utilizaram vários protocolos de *FISH* combinados e criaram um protocolo descrito como de fácil manipulação.

Quevedo et al. (2011) desenvolveram sondas de *FISH* para detecção de células únicas e enumeração de bactérias produtoras de ácido láctico, principalmente os lactobacilos. Além disso, as sondas para *S. mutans* (MUT590) e para *S. sobrinus* (SOB174) foram avaliadas. Concluiu-se que a aplicação desta técnica, com as sondas espécie-específicas utilizadas, pode permitir um entendimento mais claro da microbiota supragengival, sua arquitetura espacial e das relações estrutura-função durante a homeostase do biofilme bacteriano e o desenvolvimento da cárie dentária.

Marttinen et al. (2012) utilizaram a técnica de cultura para avaliar os efeitos do xilitol em biofilme bacteriano contendo *S. mutans*, *Actionomyces naeslundii* e *Streptococcus sanguinis*. Além disso, a técnica de *FISH* foi utilizada para avaliação de *S. mutans*, com uma sonda específica (MUT590). A técnica de *FISH* confirmou os resultados encontrados de que a contagem de *S. mutans* sensível a xilitol reduziram dez vezes em biofilme bacteriano jovem (8h), porém não foi observado o mesmo efeito em biofilme bacteriano maduro (24h).

Verifica-se, desta forma, que poucos estudos com a técnica de *FISH* foram realizados para detecção de *S. mutans* e *S. sobrinus*, e que os estudos anteriores avaliaram a presença destes micro-organismos no biofilme bacteriano. Assim, o uso desta técnica molecular, por suas vantagens, adicionaria informações a esta área de conhecimento, justificando a realização da presente investigação.

3 PROPOSIÇÃO

O presente estudo se propôs a avaliar a experiência de cárie dentária e os níveis salivares de bactérias orais cariogênicas em crianças com síndrome de Down em comparação com crianças não sindrômicas.

Especificamente, este estudo se propôs a:

- Determinar e comparar a experiência de cárie dentária, estimada pelos índices CPO-D e ceo-d, nos grupos de crianças com e sem síndrome de Down.
- Analisar a experiência de cárie dentária em cada grupo de crianças, segundo o sexo e a experiência odontológica anterior.
- Detectar e quantificar as bactérias *S. mutans*, *S. sobrinus* e estreptococos presentes na saliva, por meio da técnica de *FISH*, de crianças com síndrome de Down em comparação com crianças não sindrômicas.
- Comparar as contagens salivares das bactérias cariogênicas obtidas nos grupos de crianças com e sem síndrome de Down, segundo o sexo, a experiência odontológica anterior e a experiência de cárie dentária.
- Analisar as contagens salivares das bactérias cariogênicas obtidas em cada grupo de crianças separadamente, segundo a experiência de cárie dentária.

4 METODOLOGIA

4.1 TIPO DE ESTUDO

Trata-se de um estudo transversal observacional.

4.2 ASPECTOS ÉTICO-LEGAIS

O presente estudo seguiu as normas e diretrizes da resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde e foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário da Universidade Federal de Juiz de Fora (CEP-HU-CAS-UFJF), em 28 de novembro de 2011 (Parecer nº 383/2011 – Anexo A).

Os pais e/ou responsáveis pelas crianças que atendessem aos critérios de inclusão deveriam consentir na participação do menor no estudo por meio da assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE – Apêndice). Além disso, a criança deveria consentir verbalmente com a sua participação, concordando com a realização do exame clínico e da coleta de saliva.

4.3 CASUÍSTICA

4.3.1 Seleção da amostra

A amostra foi selecionada entre crianças e adolescentes, sem distinção de raça, sexo, nível socioeconômico ou credo religioso. Foram convidados a participar do estudo crianças e adolescentes com SD assistidos na Associação de Pais e Amigos do Excepcional – APAE, e aqueles não síndrômicos encaminhados

pelo Sistema Único de Saúde (SUS) para atendimento clínico na disciplina Odontopediatria, da Faculdade de Odontologia da UFJF, de julho de 2012 a janeiro de 2013.

4.3.1.1 Critérios de inclusão

Para serem incluídos no estudo, os participantes com e sem SD deveriam ter idade entre três e 18 anos e estar em fase de dentição decídua ou mista. As crianças e os adolescentes com SD deveriam apresentar diagnóstico comprovado pelo cariótipo, incluído na documentação da APAE. Para efeito do cálculo de idade foi considerado o último aniversário. As crianças e os adolescentes incluídos deveriam permitir a realização do exame clínico bucal e a coleta da saliva, e comparecer à consulta acompanhados do pai/mãe ou seu responsável legal, os quais deveriam assinar o TCLE.

4.3.1.2 Critérios de exclusão

Não foram incluídos voluntários em tratamento ortodôntico e/ou em uso de medicação antimicrobiana (JESUS, 2002). Entre as crianças e os adolescentes com SD, foram excluídos aqueles cuja deficiência intelectual impossibilitou o exame clínico e a coleta de saliva.

4.3.1.3 Grupos

Os participantes foram distribuídos em dois grupos, da seguinte forma:

- Grupo SD – Crianças e adolescentes com síndrome de Down com diagnóstico devidamente comprovado por meio do exame de cariótipo.
- Grupo ND – Crianças e adolescentes não sindrômicos.

4.4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.4.1 Dados de identificação e da condição dentária

Um prontuário clínico próprio com os dados de identificação e da condição dentária de todos os voluntários foi preenchido (Anexo B). Um único pesquisador, previamente treinado e calibrado de acordo com os critérios da Organização Mundial da Saúde (OMS, 1999), realizou o exame clínico sob luz artificial, com o voluntário sentado em cadeira odontológica, obedecendo-se aos critérios de biossegurança. Antes da coleta dos dados, a calibração intraexaminador e interexaminador foi verificada pelo coeficiente *kappa* de Cohen (COHEN, 1960).

Para avaliar a condição dentária, foram registrados os índices CPO-D e ceo-d, com sonda exploradora nº. 5 de ponta romba e espelho bucal plano, sob luz artificial, após secagem prévia do elemento dentário com jato de ar. O índice CPO-D mede o acometimento de cárie dentária à dentição permanente. Suas iniciais representam dentes cariados (C), perdidos (P), obturados (O) e a medida de unidade, o dente (D). Os perdidos subdividem-se em extraídos (E) e com extração indicada (Ei). O índice ceo-d é o correspondente ao CPO-D para a dentição decídua. Inclui os dentes cariados (c), com extração indicada (e) e obturados (o) (OMS, 1999). A experiência de cárie dentária foi comparada entre os grupos. Analisou-se, também, a experiência de cárie dentária segundo as variáveis independentes sexo e experiência odontológica anterior, em cada grupo separadamente.

4.4.2 Detecção, identificação e quantificação de bactérias orais cariogênicas

4.4.2.1 Coleta da saliva

A amostra de saliva total não estimulada foi coletada do assoalho da boca de cada voluntário, em sala de clínica, em ambiente calmo, depois do exame clínico,

com pipeta Pasteur de plástico descartável (Qingdao AMA Co., Ltda, Shandong, China), entre 8h00min e 12h00min (AREIAS et al., 2012; DAVIDOVICH et al., 2010), pelo menos uma hora depois de se alimentar, escovar os dentes ou enxaguar a boca (DAVIDOVICH et al., 2010).

4.4.2.2 Análise laboratorial

Após a coleta, 20 µl de saliva foram transferidos, com auxílio de pipeta automática, para um tubo de microcentrifuga contendo 180 µl de solução de paraformaldeído a 20%. As amostras foram mantidas refrigeradas e transportadas imediatamente para o Laboratório de Ecologia e Biologia Molecular de Micro-organismos da UFJF. As amostras fixadas foram armazenadas a -20°C para análise microbiológica.

A identificação e a quantificação dos micro-organismos orais foram determinadas pela técnica de *FISH*. As amostras foram fixadas em paraformaldeído a 20% (concentração final de 2%) e filtradas através de filtro branco de policarbonato Milipore de 0,22 µm. Foram utilizados os marcadores Cy3 em oligonucleotídeos RNAr (Operon Technologies[®], Alameda, Califórnia, EUA) para a identificação dos micro-organismos orais (Quadro 1).

Sonda	Especificidade	Sequência da Sonda (5'- 3')	Referência
STR	<i>Streptococcus</i>	TAG CCG TCC CTT TCT GGT	PASTER, BARTOSZYK e DEWHIRST, 1998; THURNHEER et al., 2001.
MUT590	<i>Streptococcus mutans</i>	ACT CCA GAC TTT CCT GAC	PASTER, BARTOSZYK e DEWHIRST, 1998; THURNHEER et al., 2001.
SOB174	<i>Streptococcus sobrinus</i>	TTA ACT CCT CTT ATG CGG	PASTER, BARTOSZYK e DEWHIRST, 1998; THURNHEER et al., 2001.

Quadro 1. Marcadores Cy3 em oligonucleotídeos RNAr (Operon Technologies[®]) para a identificação dos micro-organismos orais.

Posteriormente, as amostras foram coradas com DAPI (4',6-diamidino-2-phenylindole) para contagem da densidade bacteriana total. Um marcador controle negativo (5'- 3CCTAGTGACGCCGTCGAC – 3'), que não possui especificidade para nenhum grupo bacteriano, foi utilizado para a avaliação da eficiência da hibridização (COTTRELL e KIRCHMAN, 2000).

Os filtros foram, então, divididos em quatro partes iguais, uma para cada sonda específica e a quarta parte para a sonda negativa. Cada pedaço de filtro foi colocado em uma lâmina de vidro revestida com parafilme e foi coberto com 30 µL da solução de hibridização em uma concentração final de 2,5 ng/µL da sonda de oligonucleotídeo. A solução de hibridização foi composta por 0,9 M de NaCl, 20 mM de Tris-HCL (pH 7,4), dodecil sulfato de sódio a 0,01% e a concentração de formamida específica para cada bactéria. A amostra foi incubada em uma estufa a 42°C por uma noite. Após a hibridização, a amostra foi transferida para uma solução de lavagem, contendo 20 mM de Tris-HCl (pH 7,4), 5 mM de EDTA, dodecil sulfato de sódio a 0,01% e uma concentração de NaCl apropriada para a sonda específica, e então a amostra foi incubada a 48°C por 15 minutos. As células bacterianas foram coradas com 2 µg de DAPI por mL para que pudesse ser realizada a contagem da densidade bacteriana total. Cada pedaço do filtro foi imerso em etanol 80% (v/v) por três vezes e deixado para secar. Finalmente, a lâmina foi montada utilizando glicerol e Vectashield (Vector Laboratories Inc., Burlingame, CA, USA) na proporção de 4:1.

As células bacterianas totais e de cada espécie foram contadas utilizando-se um microscópio de epifluorescência Olympus BX60 equipado com o filtro 41007a para o marcador Cy3 e o filtro 31000 para DAPI, no aumento de 1000X.

A contagem foi realizada em dez campos aleatórios por um único pesquisador treinado por pesquisador experiente. O número final de bactérias foi calculado pela multiplicação das diluições realizadas durante o tratamento da amostra. O percentual de cada espécie em relação à contagem das células bacterianas totais foi calculado. Os resultados foram expressos em céls/mL.

A densidade de bactérias na saliva (céls/ml X 10⁸) foi comparada entre os grupos SD e ND e analisada segundo as variáveis independentes sexo, experiência odontológica anterior e experiência de cárie dentária, além de ter sido analisada em cada grupo separadamente segundo a experiência de cárie dentária.

4.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram organizados em um banco de dados no programa estatístico *Statistical Package for the Social Sciences – SPSS – versão 15.0 para Windows*. As variáveis categóricas foram descritas segundo a frequência absoluta (FA) e a frequência relativa (FR). Medidas descritivas (média, desvio-padrão, e valores mínimo e máximo) foram usadas para descrever as variáveis contínuas, relativas aos micro-organismos pesquisados. O teste qui-quadrado foi usado para análise das variáveis categóricas. O teste *t* de Student foi usado para análise das variáveis contínuas entre os grupos, visto que os dados satisfizeram as condições de normalidade e homocedasticidade. Em todas as análises, o nível de significância adotado foi de 5% ($p < 0,05$).

4.6 ESTUDO PILOTO

O estudo piloto teve o objetivo de treinar e calibrar o pesquisador principal quanto aos procedimentos de exame e registro dos índices utilizados para o diagnóstico da cárie dentária. Este treinamento foi orientado por professor da UFJF com experiência no diagnóstico da doença. Foi verificada a confiabilidade dos resultados obtidos entre os examinadores por meio do exame, em separado, de seis crianças (10% da amostra total) selecionadas entre aquelas atendidas na disciplina Odontopediatria da Faculdade de Odontologia da UFJF. Os dados obtidos por cada examinador foram digitados e comparados. A calibração intraexaminador foi obtida por meio da repetição, em intervalo de sete dias, do exame das seis crianças previamente selecionadas entre aquelas atendidas na disciplina Odontopediatria da Faculdade de Odontologia da UFJF. Os dados coletados nos dois exames foram digitados e comparados. O coeficiente *kappa* de Cohen (COHEN, 1960) foi utilizado para a avaliação da concordância intra e interexaminador a respeito do diagnóstico de cárie dentária. Para efeito de interpretação, usou-se a classificação sugerida por Landis e Kock (1977), que julga a concordância da seguinte forma:

- *kappa* 0: concordância pobre;
- *kappa* 0,01-0,20: concordância leve;
- *kappa* 0,21-0,40: concordância justa;
- *kappa* 0,41-0,60: concordância moderada;
- *kappa* 0,61-0,80: concordância substancial;
- *kappa* 0,81-1,00: concordância quase perfeita.

O valor obtido do coeficiente *kappa* indicou concordância quase perfeita na avaliação da concordância intraexaminador ($\kappa = 0,94$) e na avaliação interexaminador ($\kappa = 0,92$) (LANDIS e KOCH, 1977).

O estudo piloto teve ainda o objetivo de definir o melhor método de coleta de saliva das crianças para identificação e quantificação das bactérias pela técnica de *FISH*. Para tanto, três métodos de coleta de saliva foram testados. Quatro crianças sem SD, com idade entre seis e oito anos, participaram desta etapa. Inicialmente, as crianças foram orientadas a eliminar a secreção salivar sem degluti-la em um copo plástico descartável. Em outro momento, a saliva foi coletada por meio do kit Salivette[®] (Sarstedt, Nümbrecht, Alemanha). Por fim, foi utilizada uma pipeta Pasteur de plástico descartável (Qingdao AMA Co., Ltda, Shandong, China) para a coleta da saliva. Foram obtidas, assim, 12 (doze) amostras de saliva, das quais 10 μ l foram fixados na solução de paraformaldeído a 20% para posterior análise laboratorial. Os resultados demonstraram que as coletas por meio da pipeta Pasteur e da eliminação da secreção salivar permitiram melhor visualização dos micro-organismos ao microscópio. Optou-se pela coleta com a pipeta Pasteur por ser de mais fácil execução.

5 RESULTADOS

A amostra total incluiu 60 (sessenta) crianças (trinta no grupo SD e trinta no grupo ND), com idade entre três e 12 anos. Após a assinatura do TCLE pelos pais e/ou responsáveis legais dos voluntários e consentimento dos mesmos, foram realizados o preenchimento da ficha de registro de dados de identificação e da condição dentária e a coleta de saliva. Apenas crianças residentes no município de Juiz de Fora foram examinadas. A caracterização da amostra segundo as variáveis idade, sexo, e experiência odontológica anterior é apresentada na Tabela 1. A média de idade das crianças do grupo SD foi $6,37 \pm 2,50$ anos, e $7,53 \pm 2,15$ anos para o grupo ND, sem diferença estatisticamente significativa entre os grupos ($p = 0,057$). No grupo SD, 56,70% das crianças (17/30) eram do sexo masculino; no grupo ND, 53,30% (16/30) eram do sexo feminino. Não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos em relação à variável sexo ($p = 0,606$). No grupo SD, 53,3% (16/30) das crianças tiveram pelo menos uma experiência odontológica anterior, e no grupo ND, a grande maioria (90,00% – 27/30 crianças) já tinha visitado um CD, com diferença estatisticamente significativa ($p = 0,003$).

Tabela 1. Caracterização da amostra segundo idade, sexo, e experiência odontológica anterior, Juiz de Fora, MG, 2013 (n = 60)

Variável	Amostra total (n = 60)	Grupo SD (n = 30)	Grupo ND (n = 30)	Valor de p
Idade (anos)				
Média ± desvio-padrão (anos)	6,95 ± 2,38	6,37 ± 2,50	7,53 ± 2,15	0,057
Amplitude (anos)	3-12	3-12	4-12	
Sexo (n / %)				
Masculino (n / %)	31/51,70	17/56,70	14/43,70	0,606
Feminino (n / %)	29/48,30	13/43,30	16/53,30	
Experiência odontológica anterior (n / %)				
Não (n / %)	17/28,30	14/46,70	3/10,00	0,003*
Sim (n / %)	43/71,70	16/53,30	27/90,00	

* Diferença significativa – Teste qui-quadrado.

Fonte: A autora (2013).

A Tabela 2 apresenta os dados obtidos no exame clínico com respeito à experiência de cárie dentária nos grupos SD e ND. Os participantes foram divididos

entre aqueles com ceo-d ou CPO-D igual a 0 (considerados livres de cárie) e aqueles com ceo-d ou CPO-D ≥ 1 . O grupo SD apresentou uma porcentagem mais alta, fortemente significativa, de crianças livres de cárie em comparação com o grupo ND (66,66% – 20/30 crianças *versus* 3,33% – 1/30 crianças; $p < 0,001$).

Tabela 2. Distribuição dos dados da experiência de cárie dentária entre crianças dos grupos SD e ND, Juiz de Fora, MG, 2013 (n = 60)

Variável	Amostra total (n = 60)		Grupo SD (n = 30)		Grupo ND (n = 30)		Valor de p
	FA (n)	FR (%)	FA (n)	FR (%)	FA (n)	FR (%)	
ceo-d ou CPO-D							
= 0	21	35	20	66,70	1	3,30	$p < 0,001^*$
≥ 1	39	65	10	33,3	29	96,70	

* Diferença significativa – Teste qui-quadrado.
Fonte: A autora (2013).

Quando a experiência de cárie dentária foi analisada em cada grupo (SD e ND), segundo o sexo, demonstrou-se diferença estatisticamente significativa apenas no grupo ND. Neste grupo, nenhuma menina era livre de cárie ($p = 0,041$; Tabela 3). Quando a experiência de cárie dentária foi analisada segundo experiência odontológica anterior, não se observou diferença estatisticamente significativa em nenhum dos dois grupos. Na amostra total, no entanto, o teste t de Student demonstrou diferença fortemente significativa. Observou-se uma porcentagem maior de crianças com ceo-d ou CPO-D ≥ 1 entre aquelas com pelo menos uma experiência odontológica anterior ($p < 0,001$; Tabela 3).

Tabela 3. Distribuição dos dados da experiência de cárie dentária, por grupo de crianças (SD e ND), segundo sexo e experiência odontológica anterior, Juiz de Fora, MG, 2013 (n = 60)

Grupos	ceo-d ou CPO-D	Variável					
		Sexo		Valor de p	Experiência odontológica anterior		
		Masculino (n / %)	Feminino (n / %)		Sem (n / %)	Com (n / %)	Valor de p
Grupo SD (n = 30)	= 0	12/17	8/13	$p = 0,907$	9/14	11/16	$p = 0,274$
	≥ 1	5/17	5/13		5/14	5/16	
Grupo ND (n = 30)	= 0	1/14	0/16	$p = 0,041^*$	1/3	0/27	$p = 0,501$
	≥ 1	13/14	16/16		2/3	27/27	
Amostra total (n = 60)	= 0	13/31	8/29	$p = 0,168$	10/17	11/43	$p < 0,001^*$
	≥ 1	18/31	21/29		7/17	32/43	

* Diferença significativa – Teste t de Student.
Fonte: A autora (2013).

As medidas descritivas da densidade de bactérias na saliva (cél/ml X 10⁸) obtidas para os participantes incluídos no estudo são apresentadas na Tabela 4.

Tabela 4. Medidas descritivas (média, desvio-padrão, e valores mínimo e máximo) da densidade de bactérias (cél/ml X 10⁸) na saliva de crianças com ou sem síndrome de Down, Juiz de Fora, MG, 2013 (n = 60)

Grupos	Bactérias	Medidas descritivas			
		Média	Desvio-padrão	Mínimo	Máximo
Grupo SD (n = 30)	DAPI	55,711	32,046	15,98	131,97
	<i>S. mutans</i>	0,397	0,532	0,00	2,37
	<i>S. sobrinus</i>	1,623	0,858	0,00	2,91
	Estreptococos	1,898	5,116	0,00	28,14
Grupo ND (n = 30)	DAPI	60,753	27,879	13,94	158,32
	<i>S. mutans</i>	1,833	2,255	0,00	8,18
	<i>S. sobrinus</i>	1,193	1,623	0,00	5,44
	Estreptococos	9,690	5,770	0,01	22,24
Amostra total (n = 60)	DAPI	58,232	29,888	13,94	158,32
	<i>S. mutans</i>	1,115	1,778	0,00	8,18
	<i>S. sobrinus</i>	0,903	1,320	0,00	5,44
	Estreptococos	2,794	29,888	0,00	158,32

Fonte: A autora (2013).

O teste *t* de Student demonstrou diferença estatisticamente significativa na densidade (cél/ml X 10⁸) de *S. mutans* na saliva entre os grupos SD e ND. O grupo SD apresentou significativamente uma densidade média menor de *S. mutans* que o grupo ND ($p < 0,001$; Tabela 5).

Tabela 5. Resultado do teste *t* de Student para comparação da densidade de bactérias cariogênicas na saliva (cél/ml X 10⁸) entre crianças dos grupos SD e ND, Juiz de Fora, MG, 2013 (n = 60)

Bactérias	Média da densidade de bactérias na saliva (cél/ml X 10 ⁸)		Valor de <i>p</i>
	Grupo SD (n = 30)	Grupo ND (n = 30)	
DAPI	55,711	60,753	0,52
<i>S. mutans</i>	0,397	1,833	$p < 0,001^*$
<i>S. sobrinus</i>	1,623	1,193	0,09
Estreptococos	1,898	9,690	0,21

* Diferença significativa – Teste *t* de Student.

Fonte: A autora (2013).

A diferença significativa na densidade (cél/ml X 10⁸) de *S. mutans* na saliva entre os grupos SD e ND se repetiu quando os dados da densidade de bactérias cariogênicas foram analisados segundo as variáveis sexo, experiência odontológica anterior e experiência de cárie dentária. Meninos e meninas com SD

tiveram menores densidades de *S. mutans* que meninos e meninas não sindrômicas ($p = 0,034$ para meninos; $p = 0,024$ para meninas; Tabela 6). Nas crianças sem experiência odontológica anterior, a densidade de *S. mutans* foi significativamente menor entre aquelas do grupo SD ($p = 0,026$; Tabela 7), assim como entre aquelas do grupo SD com pelo menos uma experiência odontológica anterior ($p = 0,016$; Tabela 7). Da mesma forma, a densidade (cél/ml $\times 10^8$) de bactérias cariogênicas na saliva das crianças do grupo SD foi sempre significativamente menor que no grupo ND, tanto nas crianças livres de cárie ($p = 0,005$; Tabela 8) quanto naquelas com cárie dentária ($p = 0,003$; Tabela 8).

Tabela 6. Resultado do teste *t* de Student para comparação da densidade de bactérias cariogênicas na saliva (cél/ml $\times 10^8$) entre crianças dos grupos SD e ND, segundo o sexo, Juiz de Fora, MG, 2013 (n = 60)

Bactérias	Média da densidade de bactérias na saliva (cél/ml $\times 10^8$)					
	Sexo Masculino (n = 31)			Sexo Feminino (n = 29)		
	Grupo SD	Grupo ND	Valor de <i>p</i>	Grupo SD	Grupo ND	Valor de <i>p</i>
DAPI	52,076	64,163	0,257	60,465	57,769	0,822
<i>S. mutans</i>	0,358	1,567	0,034*	0,448	2,065	0,024*
<i>S. sobrinus</i>	0,451	0,704	0,348	0,826	1,621	0,211
Estreptococos	0,802	2,826	0,175	3,330	4,447	0,656

* Diferença significativa – Teste *t* de Student.

Fonte: A autora (2013).

Tabela 7. Resultado do teste *t* de Student para comparação da densidade de bactérias cariogênicas na saliva (cél/ml $\times 10^8$) entre crianças dos grupos SD e ND, segundo a experiência odontológica anterior, Juiz de Fora, MG, 2013 (n = 60)

Bactérias	Média da densidade de bactérias na saliva (cél/ml $\times 10^8$)					
	Sem experiência odontológica anterior (n = 17)			Com experiência odontológica anterior (n = 43)		
	Grupo SD	Grupo ND	Valor de <i>p</i>	Grupo SD	Grupo ND	Valor de <i>p</i>
DAPI	67,193	35,083	0,100	45,667	63,605	0,056
<i>S. mutans</i>	0,421	1,273	0,026*	0,376	1,895	0,016*
<i>S. sobrinus</i>	0,651	1,123	0,484	0,580	1,201	0,170
Estreptococos	1,233	2,267	0,346	2,479	3,848	0,500

* Diferença significativa – Teste *t* de Student.

Fonte: A autora (2013).

Tabela 8. Resultado do teste *t* de Student para comparação da densidade de bactérias cariogênicas na saliva (cél/ml X 10⁸) entre crianças dos grupos SD e ND, segundo a experiência de cárie dentária, Juiz de Fora, MG, 2013 (n = 60)

Bactérias	Média da densidade de bactérias na saliva (cél/ml X 10 ⁸)					
	ceo-d ou CPO-D = 0 (n = 21)			ceo-d ou CPO-D ≥ 1 (n = 39)		
	Grupo SD	Grupo ND	Valor de <i>p</i>	Grupo SD	Grupo ND	Valor de <i>p</i>
DAPI	54,0905	22,8300	0,36	58,9530	62,0607	0,79
<i>S. mutans</i>	0,4005	2,3200	0,005*	0,3910	1,8159	0,003*
<i>S. sobrinus</i>	0,6715	2,4100	0,10	0,4970	1,1514	0,07
Estreptococos	0,6200	2,2535	0,08	1,1860	3,7958	0,03*

* Diferença significativa – Teste *t* de Student.

Fonte: A autora (2013).

Comparou-se também a densidade de *S. mutans* e *S. sobrinus* na saliva (cél/ml X 10⁸) em cada grupo de crianças, segundo a experiência de cárie dentária. O teste *t* de Student não demonstrou diferença significativa na densidade de *S. mutans* nem no grupo SD (*p* = 0,964; Tabela 9), nem no grupo ND (*p* = 0,830; Tabela 9). Da mesma forma, nenhuma diferença significativa foi demonstrada na densidade de *S. sobrinus* no grupo SD (*p* = 0,608; Tabela 9) e no grupo ND (*p* = 0,455; Tabela 9), indicando que os níveis salivares destas bactérias não se associou à experiência de cárie dentária.

Tabela 9. Resultado do teste *t* de Student para comparação da densidade de *S. mutans* e *S. sobrinus* na saliva (cél/ml X 10⁸) em cada grupo de crianças (SD e ND), segundo a experiência de cárie dentária, Juiz de Fora, MG, 2013 (n = 60)

Bactérias	Média da densidade de bactérias na saliva (cél/ml X 10 ⁸)					
	Grupo SD (n = 30)			Grupo ND (n = 30)		
	ceo-d ou CPO-D = 0	ceo-d ou CPO-D ≥ 1	Valor de <i>p</i>	ceo-d ou CPO-D = 0	ceo-d ou CPO-D ≥ 1	Valor de <i>p</i>
<i>S. mutans</i>	0,4005	0,3910	0,964	2,3200	1,8159	0,830
<i>S. sobrinus</i>	0,6715	0,4970	0,608	2,4100	1,1514	0,455

Teste *t* de Student.

Fonte: A autora (2013).

A Tabela 10 apresenta a distribuição de frequência da amostra total segundo a presença de *S. mutans* e/ou *S. sobrinus* na saliva. Verificou-se que apenas 5% das crianças (3/60) não tinham nenhuma das bactérias (nem *S. mutans* nem *S. sobrinus*), 18,3% (11/60) tinham uma bactéria ou outra, e 76,7% (46/60) tinham ambas. Entre as crianças com experiência de cárie dentária, a frequência relativa para quem tinha uma ou as duas bactérias foi muito semelhante (63,6% e

67,4%, respectivamente), ou seja, crianças que tinham apenas uma das bactérias ou ambas tinham chances semelhantes de ter cárie dentária.

Tabela 10. Distribuição de frequência da presença de *S. mutans* e *S. sobrinus* na saliva de crianças com e sem SD, segundo a experiência de cárie dentária, Juiz de Fora, MG, 2013 (n = 60)

Bactéria	Distribuição de Frequência					
	ceo-d ou CPO-D = 0		ceo-d ou CPO-D ≥ 1		Amostra total	
	FA (n)	FR (%)	FA (n)	FR (%)	FA (n)	FR (%)
Nenhuma	2	66,7	1	33,3	3	5
<i>S. mutans</i> ou <i>S. sobrinus</i>	4	36,4	7	63,6	11	18,3
<i>S. mutans</i> e <i>S. sobrinus</i>	15	32,6	31	67,4	46	76,7
Total	21	35,0	39	65,0	60	100

Fonte: A autora (2013).

No grupo SD, a distribuição de frequência de *S. mutans* e *S. sobrinus* na saliva mostra que a proporção de crianças com experiência de cárie dentária foi semelhante para quem tinha uma ou para quem tinha ambas as bactérias (Tabela 11).

Tabela 11. Distribuição de frequência da presença de *S. mutans* e *S. sobrinus* na saliva de crianças com SD, segundo a experiência de cárie dentária, Juiz de Fora, MG, 2013 (n = 30)

Bactéria	Distribuição de Frequência					
	ceo-d ou CPO-D = 0		ceo-d ou CPO-D ≥ 1		Grupo SD (n = 30)	
	FA (n)	FR (%)	FA (n)	FR (%)	FA (n)	FR (%)
Nenhuma	2	66,7	1	33,3	3	100,0
<i>S. mutans</i> ou <i>S. sobrinus</i>	4	57,1	3	42,9	7	100,0
<i>S. mutans</i> e <i>S. sobrinus</i>	14	70,0	6	30,0	20	100,0
Total	20	66,7	10	33,3	30	100,0

Fonte: A autora (2013).

6 DISCUSSÃO

O presente estudo foi realizado para avaliar a experiência de cárie dentária e as contagens de bactérias orais cariogênicas presentes na saliva em crianças com síndrome de Down. O grupo SD mostrou uma porcentagem significativamente mais alta de crianças livres de cárie e densidade mais baixa de *S. mutans*, que não se associou com a experiência de cárie dentária.

A indisponibilidade de um banco de dados nacional, estadual ou municipal, caracterizando a população acometida pela síndrome de Down, dificulta a obtenção de uma amostra representativa de crianças e adolescentes com a síndrome, o que justificou o uso de uma amostra de conveniência para descrever aspectos importantes do grupo em questão. A validação interna do estudo foi assegurada pelas fases de calibração intra e interexaminador, que apresentaram concordância quase perfeita no teste *kappa* (LANDIS e KOCK, 1977).

Ambos os grupos foram semelhantes em relação à distribuição por idade, sexo e procedência. A compreensão e a cooperação das crianças foram um dos critérios de inclusão, uma vez que o exame clínico e a coleta de saliva poderiam ser particularmente difíceis para algumas crianças com SD com grave deficiência intelectual.

O método usado para detecção da cárie dentária foi baseado no exame clínico das crianças, com espelho bucal e sonda exploradora, para registro dos índices CPO-D e ceo-d, de acordo com os critérios da Organização Mundial da Saúde (OMS, 1999). Este método é objetivo e eficiente para detectar lesões cavitadas (AREIAS et al., 2011; MACHO et al., 2013; SHORE, LIGHTFOOD e ANSELL, 2010).

Os resultados relativos à experiência de cárie dentária, que mostraram uma alta frequência de crianças livres de cárie no grupo SD (66,66%), significativamente maior que a taxa registrada entre as crianças do grupo ND (3,33%), foram consistentes com os relatados em investigações anteriores (AREIAS et al., 2011; AREIAS et al., 2012; BRADLEY et al., 2004; COGULU et al., 2006b; LEE et al., 2004; MACHO et al., 2013; MORINUSHI, LOPATIN e TANAKA, 1995;

OLIVEIRA et al., 2008; SHAPIRA et al., 1991; STABHOLZ et al., 1991; VIGILD, 1986).

Poderia ser sugerido que a diferença fortemente significativa na frequência de crianças livres de cárie entre os dois grupos tenha sido resultado da composição da amostra do grupo ND: crianças atendidas na Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Juiz de Fora, as quais poderiam apresentar uma maior demanda por tratamento curativo. No entanto, esta não é a realidade atual entre as crianças atendidas na disciplina Odontopediatria da Instituição, pois há também uma demanda por tratamento preventivo e de manutenção. As crianças que compuseram o grupo ND foram selecionadas consecutivamente na disciplina entre aquelas de idade semelhante à das crianças do grupo SD. Entre as crianças selecionadas, nenhuma informação sobre experiência odontológica anterior foi colhida, e o exame clínico bucal foi realizado somente após consentimento formal dos pais e/ou responsáveis. Porém, uma vez que a cárie dentária é fortemente correlacionada com hábitos de dieta e higiene bucal, e com predisposição familiar (AREIAS et al., 2012), o grupo controle recomendado deveria incluir irmãos das crianças com SD, pareados por sexo e idade, o que, contudo, não foi possível, e constitui-se em uma limitação deste estudo. As crianças com SD incluídas no estudo ou não tinham irmão, ou quando tinham, estes eram maiores que 18 anos.

Sexo não afetou a experiência de cárie dentária no grupo de crianças com SD, em concordância com resultados de investigações anteriores (AL HABASHNEH et al., 2012; CASTILHO, PARDI e PEREIRA, 2007; LINOSSIER, VALENZUELA e TOLEDO, 2008; SHYAMA et al., 2001; VIGILD, 1986).

Nenhum outro estudo parece ter analisado a experiência de cárie dentária segundo a variável experiência odontológica anterior, impedindo a comparação deste resultado. Entretanto, vale destacar neste ponto, os dados que quase a metade das crianças com SD nunca tinha se submetido a uma consulta odontológica anterior à realizada no estudo, frequência inferior à obtida por outros autores (AL HABASHNEH et al., 2012; OLIVEIRA et al., 2008). Resultados do estudo de Oliveira et al. (2008) sugeriram uma influência dos profissionais da saúde sobre as mães de pacientes com SD quanto aos cuidados direcionados aos seus filhos. Mães que afirmaram ter recebido orientação de algum profissional que cuida ou já tenha cuidado de seu filho com SD apresentaram seis vezes mais chance de tê-lo levado ao CD para uma avaliação. Crianças e adolescentes com SD são pacientes comuns

dos consultórios médicos. Em um estudo conduzido na França, a utilização de um serviço médico especializado foi vinte vezes maior que a utilização de um serviço odontológico, conforme relato de pais de crianças com SD entrevistados (ALLISON, HENNEQUIN e FAULKS, 2000). Futuros estudos poderão identificar as razões da não procura por atenção odontológica, verificada no presente estudo, e contribuir para garantir às crianças com SD condições de acesso ao cuidado integral que inclua a saúde bucal.

Conforme relatado anteriormente, a literatura atribui a baixa prevalência de cárie dentária em indivíduos com SD a fatores tais como padrão de atraso na cronologia de erupção, alta frequência de hipodontia e diferenças no pH e na capacidade tampão da saliva (COGULU et al., 2006a; SHAPIRA et al., 1991; SIQUEIRA JR. e NICOLAU, 2002; SIQUEIRA JR. et al., 2004). Embora não tenha sido objetivo específico deste estudo analisar os fatores citados, não se observou entre as crianças com SD uma alteração na cronologia de erupção ou uma maior frequência de hipodontia, em relação às crianças do grupo ND, não podendo se atribuir, portanto, a mais baixa experiência de cárie dentária encontrada a estes fatores. O pH e a capacidade tampão da saliva não foram também avaliados, porém Davidovich et al. (2010) não confirmaram a melhor capacidade tampão da saliva entre crianças com SD, sugerida em estudo anterior (YARAT et al., 1999), e encontraram os mais baixos valores do pH salivar entre o grupo de crianças com SD, com ou sem experiência de cárie dentária, sugerindo que crianças com SD têm um meio bucal mais ácido que crianças sem a síndrome. Este resultado enfatiza que o pH e a capacidade tampão da saliva provavelmente não sejam o fator etiológico para a baixa prevalência de cárie dentária observada entre indivíduos com SD.

Diferenças na microbiota cariogênica em crianças com SD, com contagem mais baixa de estreptococos do grupo *mutans*, poderiam justificar os resultados de estudos epidemiológicos que mostraram que a prevalência de cárie dentária é frequentemente mais baixa em indivíduos com SD em relação a indivíduos não síndrômicos.

Alguns estudos anteriores avaliaram a microbiota cariogênica de crianças com SD, porém muito poucos destes estudos empregaram métodos moleculares para diferenciação de micro-organismos orais (COGULU et al., 2006b). Segundo o nosso conhecimento, este é o primeiro estudo que utilizou a técnica de *FISH* para detectar e quantificar bactérias orais cariogênicas na saliva de crianças com SD. A

técnica de *FISH* fornece resultados quantitativos diretos, sem uma cultura prévia, com visualização e contagem das células microbianas individualmente pelas informações da microscopia, além de ser um método rápido e objetivo (GMÜR e THURNHEER, 2002; MACHADO et al., 2012; MOTER e GÖBEL, 2000), e se mostrou efetiva para detecção de *S. mutans* e *S. sobrinus* (GMÜR e THURNHEER, 2002; KLUG et al., 2011; MARTTINEN et al., 2012; QUEVEDO et al., 2011; THURNHEER, GMÜR e GUGGENHEIM, 2004; THURNHEER et al., 2001).

Amostras de saliva foram coletadas para detecção e quantificação das bactérias orais cariogênicas. A saliva representa um meio fácil e não-invasivo de se obterem amostras de bactérias de todos os sítios bucais (IWANO et al., 2010). Foram usadas amostras de saliva não estimulada (DAVIDOVICH et al., 2010; LEE et al., 2004; MATHIAS, SIMIONATO e GUARÉ, 2011). Estudo anterior justificou a escolha de saliva estimulada porque a quantidade obtida sem o estímulo seria insuficiente para a análise microbiológica pelo método de cultura (AREIAS et al., 2012). Na técnica de *FISH*, entretanto, pequeno volume de saliva é necessário, permitindo, assim, a coleta de saliva não estimulada. As amostras foram coletadas preferencialmente no período da manhã, a fim de se minimizar os efeitos do ritmo circadiano (AREIAS et al., 2012).

Estreptococos do grupo *mutans* (*S. mutans* e *S. sobrinus*) são fortemente associados ao desenvolvimento da cárie dentária em humanos (HÖFLING et al., 1999; OKADA et al., 2012). Portanto, é de grande importância determinar separadamente a presença destas duas bactérias orais em crianças com vista a uma efetiva prevenção da cárie dentária. Em todas as crianças, *S. mutans*, *S. sobrinus* e estreptococos estavam presentes em 85% (51/60), 87% (52/60) e 93% (56/60), respectivamente. No grupo SD, *S. mutans*, *S. sobrinus* e estreptococos estavam presentes em 76% (23/30), 82% (24/30) e 88% (26/30), respectivamente; no grupo ND, as frequências encontradas foram 94% (28/30) para *S. mutans* e *S. sobrinus* e 100% (30/30) para estreptococos (dados não apresentados). Estes resultados indicaram uma alta prevalência de bactérias cariogênicas, e, provavelmente, devem-se à detecção mais sensível obtida com a técnica de *FISH* em comparação com métodos de cultura. Sabe-se que o ágar MSB inibe o crescimento de *S. sobrinus* em maior grau do que o de *S. mutans* (DE SOET et al., 1990; JORDAN, 1986), limitação que não ocorre com a utilização da técnica de *FISH*.

Os resultados da comparação das médias da densidade de bactérias encontradas nos dois grupos mostraram que as crianças com SD têm menores contagens de *S. mutans* ($p < 0,05$), maiores contagens de *S. sobrinus* ($p < 0,10$), e menores contagens de estreptococos ($p > 0,20$) que crianças não síndrômicas. Os resultados obtidos em relação ao *S. mutans* estão de acordo com os encontrados por outros autores (ABOUL EL-YAZEED et al., 2009; AREIAS et al., 2012; JESUS, 2002; STABHOLZ et al., 1991), enquanto outros encontraram contagens semelhantes (COGULU et al., 2006b; LINOSSIER et al., 2002) ou mais altas (CORNEJO et al. 1996; LINOSSIER, VALENZUELA e TOLEDO, 2008). Em relação ao *S. sobrinus*, nenhuma comparação pôde ser estabelecida, porque os estudos que avaliaram a presença de *S. sobrinus* não incluíram grupo controle de crianças não síndrômicas (CASTILHO, PARDI e PEREIRA, 2011) ou não apresentaram os resultados desta bactéria separadamente (AREIAS et al., 2012; LINOSSIER, VALENZUELA e TOLEDO, 2008). Sabe-se que a prevalência de *S. sobrinus* é mais associada com a atividade futura de cárie dentária, especialmente com o incremento da doença em superfícies lisas (HIROSE et al., 1993). Futuros estudos longitudinais poderão demonstrar a influência das contagens de *S. mutans* e *S. sobrinus* detectadas na saliva sobre a incidência de cárie dentária das crianças com SD em comparação com as não síndrômicas.

Conforme pôde ser demonstrado, a técnica de *FISH* é capaz de detectar baixos números de espécies bacterianas, com um limite de detecção de até nenhuma célula. No entanto, ainda não está estabelecido qual limite da densidade das espécies estudadas seria considerado como fator de risco ao estabelecimento e desenvolvimento da cárie dentária. Demonstrou-se, todavia, que a experiência de cárie dentária em crianças colonizadas tanto por *S. mutans* quanto por *S. sobrinus* é maior do que naquelas colonizadas apenas por *S. mutans* (OKADA et al., 2012). Entretanto, na comparação das médias da densidade de bactérias encontradas no grupo SD, nenhuma diferença foi observada entre as crianças livres de cárie e aquelas com experiência de cárie dentária, para nenhuma das bactérias investigadas, nem mesmo para *S. mutans*. Este resultado não confirma observações anteriores, nas quais a experiência de cárie dentária se correlacionou com as contagens de *S. mutans* em crianças e adolescentes com SD (ABOUL EL-YAZEED et al., 2009; COGULU et al., 2006b; JESUS, 2002; MATHIAS, SIMIONATO e GUARE, 2011; STABHOLZ et al., 1991), porém está de acordo com os dados

obtidos por outros autores (CASTILHO, PARDI e PEREIRA, 2007; CASTILHO, PARDI e PEREIRA, 2011). Da mesma forma, o potencial mais cariogênico da colonização por *S. mutans* e *S. sobrinus* (OKADA et al., 2012) não foi confirmado no presente estudo entre as crianças com SD, uma vez que a proporção de crianças com experiência de cárie dentária foi semelhante para quem tinha uma ou ambas as bactérias. Vale destacar que a baixa prevalência de cárie dentária determinada entre crianças com SD avaliadas no estudo de Cogulu et al. (2006b) foi atribuída à colonização de perfis de *S. mutans* menos cariogênicos ou à presença de diferentes cepas acidogênicas ou acidúricas. No futuro, a diversidade de tipos de *S. mutans* e *S. sobrinus* poderá vir a ser detectada e quantificada pela técnica de *FISH*. Estes resultados serão importantes para a compreensão do papel destas bactérias na etiologia da cárie dentária em crianças e adolescentes com SD.

Além disso, Iwano et al. (2010) sugeriram que existe uma relação inversa entre a doença periodontal e a cárie dentária, tanto em termos dos achados clínicos quanto bacteriológicos, os quais mostraram uma correlação inversa entre *Porphyromonas gingivalis* e *S. mutans*. Resultados de estudo em desenvolvimento com o objetivo de avaliar a condição periodontal e as contagens salivares de periodontopatógenos, detectados e quantificados pela técnica de *FISH*, com a mesma amostra de crianças com e sem SD, poderão confirmar ou não esta relação inversa.

A despeito de não ser possível extrapolar os resultados encontrados neste estudo para outras populações, por ter sido usada uma amostra de conveniência, os dados mostraram que crianças com síndrome de Down têm mais baixa experiência de cárie dentária em comparação com crianças não sindrômicas. A técnica de *FISH* provou ser um método sensível e rápido para detecção e quantificação de bactérias orais cariogênicas. Crianças com SD apresentaram mais baixa contagem de *S. mutans* na saliva que crianças não sindrômicas. Esta contagem significativamente mais baixa, contudo, não diferiu entre as crianças com ou sem experiência de cárie dentária, não sendo possível, assim, atribuir a mais baixa experiência de cárie dentária observada a mais baixa colonização por esta bactéria neste grupo de crianças.

Cumprido ressaltar, entretanto, que a frequência de crianças livres de cárie no grupo SD ainda é inferior às metas propostas pela OMS para o ano 2010 (HOBDELL et al., 2000), que sugeriram uma porcentagem de 90% de crianças livres

de cárie na idade de cinco a seis anos, e um índice CPO-D médio menor que 1 aos doze anos. Estratégias para se alcançarem estas metas deveriam ser implementadas e envolver a equipe de profissionais que cuidam da criança com síndrome de Down, reconhecendo-se, desta forma, o importante papel da Odontologia na conquista de maior qualidade de vida para esta parcela da população.

7 CONCLUSÃO

De acordo com a metodologia utilizada e os resultados obtidos, foi possível concluir que:

- Crianças com síndrome de Down apresentaram experiência de cárie dentária significativamente mais baixa que crianças não sindrômicas, pareadas por idade e sexo.
- No grupo SD, a experiência de cárie dentária foi semelhante entre crianças do sexo masculino e feminino, assim como entre crianças com e sem experiência odontológica anterior.
- No grupo ND, a experiência de cárie dentária foi maior entre crianças do sexo feminino, e semelhante entre crianças com e sem experiência odontológica anterior.
- Crianças com síndrome de Down apresentaram contagens salivares significativamente mais baixas de *S. mutans* que crianças não sindrômicas.
- As contagens de *S. mutans* presentes na saliva se mantiveram significativamente mais baixas nas crianças do grupo SD quando analisadas segundo as variáveis sexo, experiência odontológica anterior e experiência de cárie dentária.
- As contagens de *S. sobrinus* e estreptococos na saliva foram semelhantes nos dois grupos de crianças.
- As contagens de *S. mutans* e *S. sobrinus* na saliva foram semelhantes entre as crianças de um mesmo grupo (SD e ND), independentemente da experiência de cárie dentária.
- Crianças colonizadas por *S. mutans*, *S. sobrinus* ou ambas as bactérias tiveram chances semelhantes de ter cárie dentária.

REFERÊNCIAS¹

- AAS, J. A. et al. Defining the normal bacterial flora of the oral cavity. **J Clin Microbiol**, Washington, v. 43, n. 11, p. 5721-5732, Nov. 2005.
- ABOU EL-YAZEED, M. et al. Relationship between salivary composition and dental caries among a group of Egyptian Down syndrome children. **Austr J Basic Appl Sci**, v. 3, n. 2, p. 720-730, Apr./June 2009.
- AL-AHMAD, A. et al. Bacterial colonization of enamel in situ investigated using fluorescence in situ hybridization. **J Medical Microbiol**, Edinburgh, v. 58, n. 10, p. 1359-1366, Oct. 2009.
- AL HABASHNEH, R. et al. Oral health status and reasons for not attending dental care among 12- to 16-year-old children with Down syndrome in special needs centres in Jordan. **Int J Dent Hyg**, Oxford, v. 10, n. 4, p. 259-264, Nov. 2012.
- AL-KHADRA, T. A. Prevalence of dental caries and oral hygiene status among Down's syndrome patients in Riyadh – Saudi Arabia. **Intern J Paediatr Dent**, Oxford, v. 31, n. 1, p. 115-117, June 2011.
- ALLISON, P. J; LAWRENCE, H. P. A paired comparison of dental care in Canadians with Down syndrome and their siblings without Down syndrome. **Community Dent Oral Epidemiol**, Copenhagen, v. 32, n. 2, p. 99-106, Apr. 2004.
- ALLISON, P. J.; HENNEQUIN, M.; FAULKES, D. Dental care access among individuals with Down syndrome in France. **Spec Care Dentist**, Chicago, v. 20, n. 1, p. 28-34, Jan./Feb. 2000.
- AMANN, R. I. et al. Combination of 16S rRNA targeted oligonucleotide probes with flow cytometry for analyzing mixed microbial populations. **Appl Environ Microbiol**, Washington, v. 56, n. 6, p. 1919-1925, June 1990.
- AREIAS, C. M. et al. Caries in Portuguese children with Down syndrome. **Clinics**, São Paulo, v. 66, n. 7, p. 1183-1186, July 2011.

¹ Formatação segundo Normas de Elaboração de Trabalhos Acadêmicos da Universidade Federal de Juiz de Fora, 2006 (Disponível em <http://www.ufjf.br/>).

AREIAS, C. M. et al. Reduced salivary flow and colonization by *mutans* streptococci in children with Down syndrome. **Clinics**, São Paulo, v. 67, n. 9, p. 1007-1011, Sep. 2012.

BARNETT, M. L. et al. The prevalence of periodontitis and dental caries in a Down's syndrome population. **J Periodontol**, Indianapolis, v. 57, n. 5, p. 288-298, May 1986.

BRADLEY, C. et al. The oral health of children with Down syndrome in Ireland. **Spec Care Dentist**, Chicago, v. 24, n. 2, p. 55-60, Mar./Apr. 2004.

CASTILHO, A. R. F.; MARTA, S. N. Avaliação da incidência de cárie em pacientes com síndrome de Down após sua inserção em um programa preventivo. **Ciênc Saúde Coletiva**, Rio de Janeiro, v. 15, supl. 2, p. 3249-3253, out. 2010.

CASTILHO, A. R. F.; PARDI, V.; PEREIRA, C. V. Caries prevalence, level of *mutans* streptococci, salivary flow rate, and buffering capacity in subjects with Down syndrome. **Brazilian J Oral Sci**, Piracicaba, v. 6, n. 21, p. 1331-1336, Apr./June 2007.

CASTILHO, A. R. F.; PARDI, V.; PEREIRA, C. V. Dental caries experience in relation to salivary findings and molecular identification of *S. mutans* and *S. sobrinus* in subjects with Down syndrome. **Odontology**, Tokyo, v. 99, n. 2, p. 162-167, July 2011.

COGULU, D. et al. Evaluation of the relationship between caries indices and salivary secretory IgA, salivary pH, buffering capacity and flow rate in children with Down's syndrome. **Arch Oral Biol**, Oxford, v. 51, n. 1, p. 23-58, Jan. 2006a.

COGULU, D. et al. Genotyping of *Streptococcus mutans* by using arbitrarily primed polymerase chain reaction in children with Down syndrome. **Arch Oral Biol**, Oxford, v. 51, n. 3, p. 177-182, Mar. 2006b.

COHEN, J. A coefficient of agreement for nominal scale. **Educ Psycho Measure**, Durham, v. 20, n. 1, p. 37-46, Apr. 1960.

CORNEJO, L. S. et al. Bucodental health condition in patients with Down syndrome of Cordoba city, Argentina. **Acta Odontol Latinoam**, Buenos Aires, v. 9, n. 2, p. 65-79, 1996.

COTTRELL, M. T.; KIRCHMAN, D. L. Community composition of marine bacterioplankton determined by 16S rRNA gene clone libraries and fluorescence in situ hybridization. **Appl Environ Microbiol**, Washington, v. 66, n. 12, p. 5116-5122, Dec. 2000.

DAVIDOVICH, E. et al. A comparison of the sialochemistry, oral pH, and oral health status of Down syndrome children to healthy children. **Int J Paediatr Dent**, Oxford, v. 20, n. 4, p. 235-241, July 2010.

DE SOET, J. J. et al. Enumeration of *mutans* streptococci in clinical samples by using monoclonal antibodies. **J Clin Microbiol**, Washington, v. 28, n. 11, p. 2467-2472, Nov. 1990.

DEL'DUCA, A.; CESAR, D. Hibridização in situ fluorescente (FISH) como opção de ferramenta em ecologia microbiana aquática. **Boletim Socied Bras Limnologia**, Campinas, v. 36, n. 1, p. 6-9, maio 2007.

DELONG, E.F.; WICKHAM, G.S.; PACE, N.R. Phylogenetic stains: ribosomal RNA-based probes for the identification of single cells. **Science (Wash.)**, Washington, v. 243, n. 4896, p. 1360-1363, Mar. 1989.

DOWN, J. L. H. Observation on an ethnic classification of idiots. London Hospital. **Clinical Lectures and Reports**, London, v. 3, p. 259-262, 1866.

FERREIRA, D. L. A. **Contagem de *streptococcus mutans*, *streptococcus sobrinus* e *lactobacillus* spp e avaliação da atividade antagonista da microbiota em portadores de síndrome de Down**. 2009. 90 f. Dissertação (Mestrado em Ciências e Saúde) – Universidade Federal do Piauí, Teresina, 2009.

FUNG, K.; ALLISON, P. A comparison of caries rates in noninstitutionalized individuals with and without Down syndrome. **Special Care Dentist**, Chicago, v. 25, n. 6, p. 302-310, Nov./Dec. 2005.

FUNG, K.; LAWRENCE, H.; ALLISON, P. A paired analysis of correlates of dental restorative care in siblings with and without Down syndrome. **Spec Care Dentist**, Chicago, v. 28, n. 3, p. 85-91, May/June 2008.

GIOVANNONI, S. J. et al. Phylogenetic group-specific oligodeoxynucleotide probes for identification of single microbial cells. **J Bacteriol**, Washington, v. 170, n. 2, p. 720-726, Feb.1988.

GMÜR, R.; THURNHEER, T. Direct quantitative differentiation between *Prevotella intermedia* and *Prevotella nigrescens* in clinical specimens. **Microbiology**, Reading, v. 148 (Pt. 5), p. 1379-1387, May 2002.

GULLIKSON, J. S. Oral findings in children with Down's syndrome. **ASDC J Dent Child**, Chicago, v. 40, n. 4, p. 293-297, July/Aug. 1973.

HIROSE, H. et al. Close association between *Streptococcus sobrinus* in the saliva of young children and smooth-surface caries increment. **Caries Res**, Basel, v. 27, n. 4, p. 292-297, 1993.

HOBDELL, M. H. Setting global goals for oral health for the year 2010. **Int Dent J**, London, v. 50, n. 5, p. 245-249, Oct. 2000.

HÖFLING, J. F. et al. Presença de *Streptococcus mutans* e *Streptococcus mutans* associado a *Streptococcus sobrinus* em escolares de diferentes classes sócio-econômicas e sua relação com atividade cariogênica dessas populações. **Rev Odontol Univ São Paulo**, Bauru, v. 13, n. 2, p. 173-180, abr./jun., 1999.

IWANO, Y. et al. Salivary microbial levels in relation to periodontal status and caries development. **J Periodont Res**, Copenhagen, v. 45, n. 2, p. 165-169, Apr. 2010.

JESUS, C. M. **Avaliação da presença de lesões de cárie dentária, biofilme bacteriano visível e análise microbiológica de *Streptococcus* grupo mutans em crianças de 12 a 48 meses de idade, portadoras e não portadoras da Síndrome de Down.** 2002. 114 f. Dissertação (Mestrado em Odontologia) – Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2002.

JORDAN, H. V. Cultural methods for the identification and quantification of *Streptococcus mutans* and lactobacilli in oral samples. **Oral Microbiol Immunol**, Copenhagen, v. 1, n. 1, p. 23-27, Feb. 1986.

JOVÍĆ, N. I. et al. Dental caries in disabled children. **Collegium Antropol**, Zagreb, v. 31, n. 1, p. 321-324, Mar. 2007.

KLUG, B. et al. Oral biofilm analysis of palatal expanders by fluorescence in-situ hybridization and confocal laser scanning microscopy. **J Vis Exp**, Boston, v. 56. Publicado online. Oct. 20, 2011. pii: 2967. doi: 10.3791/2967.

LANDIS, J. R.; KOCH, G. G. The measurement of observer agreement for categorical data. **Biometrics**, Washington, v. 33, n. 1, p. 159-174, Mar. 1977.

LEE, S. R. et al. Dental caries and salivary immunoglobulin A in Down syndrome children. **J Paediatr Child Health**, Melbourne, v. 40, n. 9-10, p. 530-533, Sep./Nov. 2004.

LINOSSIER, A. G.; VALENZUELA, C. Y.; TOLEDO, H. Differences of the oral colonization by *Streptococcus* of the *mutans* group in children and adolescents with

Down syndrome, mental retardation and normal controls. **Med Oral Patol Oral Cir Bucal**, Valencia, v. 13, n. 9, p. 36-39, Sep. 2008.

LINOSSIER, A. et al. Relación cuantitativa entre el nivel de *Streptococcus mutans* y *Candida albicans* en niños con síndrome de Down. **Medicina Oral**, Madrid, v. 7, n. 4, p. 284-292, jul./out. 2002.

LOY, A. et al. probeBase – an online resource for rRNA-targeted oligonucleotide probes: new features 2007. **Nucleic Acids Res**, London, v. 35, Database issue, p. D800-804, Jan. 2007.

MACHADO, F. C. et al. Detection and enumeration of periodontopathogenic bacteria in subgingival biofilm of pregnant women. **Braz Oral Res**, São Paulo, v. 26, n. 5, p. 443-449, Sep./Oct. 2012.

MACHO, V. et al. Comparative study between dental caries prevalence of Down syndrome children and their siblings. **Spec Care Dentist**, Chicago, v. 33, n. 1, p. 2-7, Jan./Feb. 2013.

MARTTINEN, A. M. et al. Effects of xylitol on xylitol-sensitive versus xylitol-resistant *Streptococcus mutans* strains in a three-species in vitro biofilm. **Curr Microbiol**, New York, v. 65, n. 3, p. 237-243, Sep. 2012.

MATHIAS, M. F.; SIMIONATO, M. R. L.; GUARÉ, R. O. Some factors associated with dental caries in the primary dentition of children with Down syndrome. **Eur J Paediatr Dent**, Carimate, v. 12, n. 1, p. 37-42, Mar. 2011.

MORINUSHI, T.; LOPATIN, D. E.; TANAKA, H. The relationship between dental caries in the primary dentition and anti *S. mutans* serum antibodies in children with Down's syndrome. **J Clin Pediatric Dent**, Birmingham, v. 19, n. 4, p. 279-284, Summer 1995.

MOTER, A.; GÖBEL, U.B. Fluorescence *in situ* hybridization (FISH) for direct visualization of microorganisms. **J Microbiol Methods**, Amsterdam, v. 41, n. 2, p. 85-112, July 2000.

OKADA, M. et al. Caries prevalence associated with *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sobrinus* in Japanese schoolchildren. **Int J Paediatr Dent**, Oxford, v. 22, n. 5, p. 342-348, Sep. 2012.

OLIVEIRA, A. C. et al. Uso de serviços odontológicos por pacientes com síndrome de Down. **Rev Saúde Pública**, São Paulo, v. 42, n. 4, p. 693-699, ago. 2008.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. **Levantamentos básicos em saúde bucal**. 4. ed. São Paulo: Santos, 1999.

PASTER, B. J.; BARTOSZYK, I. M.; DEWHIRST, F. E. Identification of oral streptococci using PCR-based, reverse-capture, checkerboard hybridization. **Methods Cell Sci**, Dordrecht, v. 20, n. 1-4, p. 223-231, 1998.

QUEVEDO, B. et al. Phylogenetic group- and species-specific oligonucleotide probes for single-cell detection of lactic acid bacteria in oral biofilms. **BMC Microbiol**, London, v. 11. Publicado online. Jan. 19. doi: 10.1186/1471-2180-11-14.

SHAPIRA, J. et al. Caries levels, *Streptococcus mutans* counts, salivary pH, and periodontal treatment needs of adult Down syndrome patients. **Spec Care Dentist**, Chicago, v. 11, n. 6, p. 248-251, Nov./Dec. 1991.

SHYAMA, M. et al. Dental caries experience of disabled children and young adults in Kuwait. **Community Dent Health**, London, v. 18, n. 3, p. 181-186, Sep. 2001.

SHORE, S.; LIGHTFOOD, T.; ANSELL, P. Oral disease in children with DS: causes and prevention. **Community Pract**, v. 83, n. 2, p. 18-21, Feb. 2010.

SIQUEIRA JR., W. L.; NICOLAU, J. Stimulated whole saliva components in children with Down syndrome. **Spec Care Dentist**, Chicago, v. 22, n. 6, p. 226-230, Nov./Dec. 2002.

SIQUEIRA JR., W. L. et al. Electrolyte in saliva of children aged 6-10 years with Down syndrome. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod**, St. Louis, v. 98, n. 1, p. 76-79, July 2004.

STABHOLZ, A. et al. Caries experience, periodontal treatment needs, salivary pH, and *Streptococcus mutans* counts in a preadolescent Down syndrome population. **Spec Care Dentist**, London, v. 11, n. 5, p. 203-208, Sep./Oct. 1991.

THURNHEER, T.; GMÜR, R.; GUGGENHEIM, B. Multiplex FISH analysis of a six-species bacterial biofilm. **J Microbiol Methods**, Amsterdam, v. 56, n. 1, p. 37-47, Jan. 2004.

THURNHEER, T. et al. Automated fluorescent in situ hybridization for the specific detection and quantification of oral streptococci in dental plaque. **J Microbiol Methods**, Amsterdam, v. 44, n. 1, p. 39-47, Feb. 2001.

VIGILD, M. Dental caries experience among children with Down's syndrome. **J Ment Defic Res**, London, v. 30, n. 8, p. 271-276, Sep. 1986.

YARAT, A. et al. Salivary sialic acid, protein, salivary flow rate, pH, buffering capacity and caries indices in subjects with Down's syndrome. **J Dent**, Guildford, v. 27, n. 2, p. 115-118, Feb. 1999.

APÊNDICE

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO



UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA – CEP HU/UFJF
JUIZ DE FORA – MG – BRASIL

FACULDADE DE ODONTOLOGIA DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA
Pesquisador Responsável: Rosangela Almeida Ribeiro
Endereço: Rua Santo Antônio, nº. 1098, aptº. 204 – Primeiro Bloco
CEP: 36016-210 – Juiz de Fora – MG
Fone: (32) 3213-5714
E-mail: ralmeida@powerline.com.br

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO Consentimento pós-informação para participação em projeto de pesquisa

Seu(sua) filho(a) está sendo convidado(a) a participar da pesquisa “ESPÉCIES DE BACTÉRIAS ORAIS CARIOGÊNICAS DETECTADAS, IDENTIFICADAS E QUANTIFICADAS PELO MÉTODO DA HIBRIDIZAÇÃO *IN SITU* FLUORESCENTE NA SALIVA DE CRIANÇAS E ADOLESCENTES COM SÍNDROME DE DOWN”. As informações aqui contidas foram fornecidas pela pesquisadora Rosangela Almeida Ribeiro para firmar acordo por escrito, mediante o qual o(a) Sr.(a) responsável legal pela criança ou do adolescente selecionado para a pesquisa, autoriza sua participação, com conhecimento total da natureza dos procedimentos a serem realizados.

1. **Objetivo principal:** Detectar, identificar e quantificar bactérias orais na saliva de crianças e adolescentes com síndrome de Down em comparação com seus irmãos.
2. **Justificativa:** Os micro-organismos associados à cárie dentária em indivíduos com síndrome de Down necessitam ser identificados por meio de investigações com técnicas melhores ainda não realizadas.
3. **Metodologia/Procedimentos:** Exame dos dentes e coleta de saliva.
4. **Benefícios:** Os resultados do estudo permitirão instituir melhor abordagem de prevenção e controle da cárie dentária em pessoas com síndrome de Down.
5. **Riscos esperados:** Risco mínimo. A coleta de saliva é um procedimento não-invasivo, sendo feito com rolete de algodão. Há um risco mínimo de desconforto. O risco de engolir o algodão será prevenido pelo uso de fio dental para amarrar o rolete de algodão durante sua permanência na boca.
6. **Obrigação dos responsáveis:** Comparecer à consulta agendada para os exames e coleta de saliva.

Para participar deste estudo você não terá nenhum custo, nem receberá qualquer vantagem financeira. Você será esclarecido(a) sobre o estudo em qualquer aspecto que desejar e estará livre para participar ou recusar-se a participar. Poderá retirar seu consentimento ou interromper a participação a qualquer momento. A sua participação é voluntária e a recusa em participar não acarretará qualquer penalidade ou modificação na forma em que é atendido pelo pesquisador

A pesquisadora irá tratar a sua identidade com padrões profissionais de sigilo.

Os resultados da pesquisa estarão à sua disposição quando finalizada. Nem o seu nome nem o de seu(sua) filho(a) ou o material que indique sua participação serão liberados sem a sua permissão.

Nem o(a) Sr.(a) nem seu(sua) filho(a) serão identificados em nenhuma publicação que possa resultar deste estudo.

Este termo de consentimento encontra-se impresso em duas vias, sendo que uma cópia será arquivada pela pesquisadora responsável, na Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Juiz de Fora, e a outra será fornecida a você.

Caso haja danos decorrentes dos riscos previstos, a pesquisadora assumirá a responsabilidade pelos mesmos.

Eu, _____, portador do documento de Identidade _____ fui informado(a) dos objetivos do estudo "ESPÉCIES DE BACTÉRIAS ORAIS CARIOGÊNICAS DETECTADAS, IDENTIFICADAS E QUANTIFICADAS PELO MÉTODO DA HIBRIDIZAÇÃO *IN SITU* FLUORESCENTE NA SALIVA DE CRIANÇAS E ADOLESCENTES COM SÍNDROME DE DOWN", de maneira clara e detalhada e esclareci minhas dúvidas. Sei que a qualquer momento poderei solicitar novas informações e modificar minha decisão de participar se assim o desejar.

Declaro que concordo em participar desse estudo. Recebi uma cópia deste termo de consentimento livre e esclarecido e me foi dada à oportunidade de ler e esclarecer as minhas dúvidas.

Juiz de Fora, _____ de _____ de 20__ .

Nome do(a) responsável pelo menor: _____

Assinatura do(a) responsável pelo menor: _____

Número do Documento de Identidade do(a) responsável pelo menor: _____

Nome da pesquisadora: _____

Assinatura da pesquisadora: _____

Número do Documento de Identidade da pesquisadora: _____

Em caso de dúvidas com respeito aos aspectos éticos deste estudo, você poderá consultar o CEP HU – Comitê de Ética em Pesquisa HU/UFJF.

Hospital Universitário Unidade Santa Catarina
Prédio da Administração, Sala 27
CEP: 36036-110
E-mail: cep.hu@ufjf.edu.br

ANEXO A

PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

Página 1 de 3



COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA - CEP-HU CAS/UFJF



HOSPITAL UNIVERSITÁRIO

Parecer nº 383/2011

Protocolo CEP-UFJF: 167-420-2011 **FR:** 476873 **CAAE:** 0127.0.420.000-11**Projeto de Pesquisa:** Espécies de bactérias orais cariogênicas e periodontopatogênicas detectadas, identificadas e quantificadas pelo método da hibridização in situ fluorescente na saliva de crianças e adolescentes com Síndrome de Down.**Versão do Protocolo e Data:** 18/11/2011**Grupo:** III**Pesquisador Responsável:** Rosângela Almeida Ribeiro**Pesquisadores Participantes:** Flávia Almeida Ribeiro Scalioni, Camila Faria Carrada, Fernanda Campos Machado.**Instituição:** Universidade Federal de Juiz de Fora**Matéria para análise:** Folha de Rosto; Termo de Consentimento Livre e Esclarecido; Orçamento Financeiro; Comprovante de currículo dos pesquisadores envolvidos**Sumário/comentários do protocolo:**

Justificativa: A síndrome de Down (SD) é uma desordem genética resultante da trissomia do cromossomo 21. Representa a anomalia cromossômica mais comum da espécie humana, com uma incidência de 1:800 a 1:1000 nascimentos. Entre as manifestações bucais mais frequentemente encontradas em indivíduos com SD são citadas: boca seca devido à respiração bucal; fissura lingual e labial, protrusão lingual; macroglossia; má oclusão como a mordida aberta anterior; úlceras na mucosa; candidíase; e gengivite ulcerativa necrosante. Indivíduos com SD apresentam uma prevalência mais baixa de cárie dentária, apesar da exposição a fatores de risco como dieta cariogênica, diminuição de fluxo salivar, respiração bucal, forças oclusais desbalanceadas e pobre acesso à higiene bucal. Algumas das hipóteses sugeridas para esta baixa prevalência incluem: atraso da erupção dentária junto com a alteração da cronologia de erupção; alta frequência de hipodontia; diferenças na composição, pH, capacidade tampão e fluxo salivar e diferença na microbiota cariogênica. Por outro lado, indivíduos com SD apresentam maior prevalência e gravidade de doença periodontal. A existência de uma microbiota associada à gengivite ou periodontite em indivíduos com SD vem sendo investigada. Estudos com crianças e adolescentes evidenciaram relação entre a colonização da cavidade bucal por *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Tannerella forsythia*, *Treponema denticola*, entre outros, e o desenvolvimento de perdas significativas de inserção conjuntiva e inflamação gengival. A microbiota bucal de indivíduos com SD em nosso meio necessita de melhor caracterização, o que poderia resultar em política mais aprimorada de atendimento desta população. Frente ao exposto, o presente estudo tem o objetivo de investigar espécies de bactérias orais relacionadas à cárie dentária e à doença periodontal, a fim de detectar, identificar e quantificar os níveis salivares destes micro-organismos em crianças e adolescentes com síndrome de Down em comparação com indivíduos não-sindrômicos na mesma faixa etária.

Objetivo: Tem como objetivo geral detectar, identificar e quantificar espécies de bactérias orais relacionadas à cárie dentária e à doença periodontal na saliva de crianças e adolescentes com síndrome de Down em comparação com indivíduos não-sindrômicos. E como objetivos específicos Detectar, identificar e quantificar os níveis salivares de S.

COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA - CEP-HU CAS/UFJF
RUA CATULO BREVIGLIEI S/Nº - B. SANTA CATARINA
36036-110- JUIZ DE FORA - MG - BRASIL - Fone: 40095205

Prof.ª Dra. Ângela Maria Gollner
Coordenadora do Comitê de Ética em Pesquisa
HU CAS da UFJF

mutans e *S. sobrinus* por meio da técnica de *FISH* em crianças e adolescentes com síndrome de Down em comparação com irmãos não-sindrômicos, e verificar correlação entre os níveis salivares de estreptococos cariogênicos e a presença de cárie dentária nos dois grupos. E detectar, identificar e quantificar os níveis salivares de *A. actinomycetemcomitans*, *B. forsythus*, *C. rectus*, *P. gingivalis*, *P. intermedia*, *P. nigrescens*, e *T. denticola* por meio da técnica de *FISH* em crianças e adolescentes com síndrome de Down em comparação com irmãos não-sindrômicos, e verificar correlação entre os níveis salivares de periodontopatógenos e a presença de doença periodontal nos dois grupos.

Metodologia: Trata-se de um estudo observacional transversal. Serão convidados a participar do estudo crianças e adolescentes com síndrome de Down, assistidas em Instituições de apoio, e seus irmãos não-sindrômicos. Os participantes serão distribuídos em dois grupos, da seguinte forma: Grupo I – vinte crianças e adolescentes com síndrome de Down com diagnóstico devidamente comprovado por meio do exame de cariótipo. Grupo II – vinte crianças e adolescentes não-sindrômicos, preenchido um prontuário clínico próprio com os dados de identificação, da condição dentária e da condição periodontal de todos os voluntários. Para avaliar a condição dentária, serão registrados os índices CPO-D e ceo-d, com sonda exploradora nº. 5 de ponta romba e espelho bucal plano, sob luz artificial, após secagem prévia do elemento dentário com jato de ar. O índice CPO-D mede o ataque de cárie à dentição permanente. Suas iniciais representam, respectivamente, dentes cariados (C), perdidos (P), obturados (O) e a medida de unidade, o dente (D). Os perdidos subdividem-se em extraídos (E) e com extração indicada (Ei). O índice ceo-d é o correspondente ao CPO-D para a dentição decídua. Inclui os dentes cariados (c), com extração indicada (e) e obturados (o). A condição periodontal será avaliada pelo índice gengival modificado (IGM), registrado nas superfícies vestibular e lingual de dois sítios em cada dente. Estes registros também serão realizados por um único examinador em todos os dentes presentes. O IGM consiste de um exame visual, usando escores de 0 a 4. O exame radiográfico complementar será composto por radiografias intrabucais (periapicais e interproximais) e extrabucais (panorâmica). A amostra de saliva não estimulada será coletada depois do exame clínico, com o kit Salivette® (Sarstedt, Nümbrecht, Alemanha). A identificação e a quantificação dos micro-organismos orais serão determinadas pela técnica de hibridização *in situ* fluorescente (*Fluorescence in situ hybridization – FISH*). Os dados serão organizados em um banco de dados no programa estatístico *Statistical Package for the Social Sciences – SPSS – versão 12.0 para Windows* e serão submetidos à análise descritiva da frequência absoluta e relativa das variáveis analisadas.

Características da população a estudar: crianças e adolescentes com síndrome de Down, assistidas em Instituições de apoio, e seus irmãos não-sindrômicos.

Tamanho da amostra: 40 crianças e adolescentes, sem distinção de raça, sexo, nível socioeconômico ou credo religioso.

Relação risco x benefícios: Atende às exigências. Consta no corpo do projeto e em anexo.

Previsão de ressarcimento: Atende às exigências. Consta no corpo do projeto e em anexo.

Orçamento: Atende às exigências. Consta no corpo do projeto e em anexo.

Fonte de financiamento: A responsabilidade do financiamento da pesquisa caberá ao pesquisador do projeto.

Cronograma: Atende às exigências. Consta no corpo do projeto e em anexo.

Revisão e referências: Atualizadas, sustentam os objetivos do estudo.

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido: O TCLE está em linguagem adequada, clara para compreensão dos participantes do estudo, com descrição suficiente dos

Página 3 de 3

procedimentos, explicitação de riscos e forma de contato com o pesquisador e demais membros da equipe.

Pesquisador: titulação e apresenta experiência e qualificação para a coordenação do estudo. Demais membros da equipe também apresentam qualificação para atividade que desempenharão durante o estudo.


O CEP solicita ao pesquisador que atenda a Carta Circular nº 003/2011 CONEP/CNS datada de 21 de março de 2011, que torna obrigatória a rubrica em todas as páginas do TCLE pelo sujeito de pesquisa ou seu responsável e pelo pesquisador em todos os TCLEs com data posterior a 01 de abril de 2011.

Diante do exposto, o Comitê de Ética em Pesquisa – CEP-HU/CAS da UFJF, de acordo com as atribuições definidas na Res. CNS 196/96 e suas complementares manifesta-se pela aprovação do protocolo de pesquisa proposto.

Salientamos que o pesquisador deverá encaminhar a este comitê o relatório final.

Situação: Projeto Aprovado

Juiz de Fora, 28 de novembro de 2011.


Prof.ª Dra. Angela Maria Gollner
Coordenadora do Comitê de Ética em Pesquisa
HU/CAS da UFJF

RECEBI
DATA: ____/____/2011
ASS: _____

ANEXO B

FICHA DA DISCIPLINA ODONTOPEDIATRIA



UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA
FACULDADE DE ODONTOLOGIA



PRONTUÁRIO ODONTOLÓGICO

1. IDENTIFICAÇÃO - DADOS PESSOAIS

Nome: _____ Matricula: _____

Sexo: _____ Cor: _____ Nacionalidade: _____ Naturalidade: _____

Data de nascimento: ____/____/____ Idade: _____ Grau escolar: _____

Residência: _____ Bairro: _____

Cidade: _____ UF: _____ Telefone: _____

Filiação: - Pai: _____

- Mãe: _____

2. ANAMNESE

2.1 Já foi ao dentista alguma vez? () Sim () Não

Se afirmativo, qual foi o seu comportamento? _____

2.2 Tem atualmente algum problema médico? () Sim () Não

Em caso afirmativo, qual? _____

Médico pediatra: _____

2.3 Quais doenças já teve? Quando? _____

2.4 Quando a criança se fere, costuma: () Sangrar muito () Logo passa a hemorragia

Tem problema de sangramento nasal: () Sim () Não

Frequencia: _____

2.5 Já tomou anestesia? () Sim () Não

Teve reação alérgica à anestesia? () Sim () Não

2.6 Medicamentos:

Atuais: _____

Passados: _____

2.7 Alguma vez manifestou reação alérgica? () Sim () Não

2.8 Antecedentes hereditários:

Pai: _____

Mãe: _____

Familiares: _____

2.9 Número de irmãos: _____ Tipo de parto: _____

2.9 Observações: _____

Assinatura do responsável: _____

Juiz de Fora, ____/____/____

DATA

ASSINATURA DO ALUNO

ASSINATURA DO PROFESSOR

ODONTOPEDIATRIA

ALUNO: _____ Período: _____

ALUNO: _____ Período: _____

OBS.: Antes de iniciar o tratamento, repassar os dados da anamnese para verificar se não houve qualquer alteração.

EXAME CLÍNICO

Data do exame: ____ / ____ / ____

1. Queixa principal: _____

2. Observações do profissional com a criança e com o responsável na primeira consulta: _____

3. Higiene bucal ao exame clínico:

1. Boa Regular Má

4. Escovação:

- Correta Incorreta Não escova

5. Hábitos:

- Sucção de dedo Interposição de língua Sucção de lábio
 Sucção de chupeta Respiração bucal Outros

6. Oclusão:

6.1 Dentição decídua

- Arco tipo I Arco tipo II Arco misto
 Presença de espaços primatas Ausência de espaços primatas
- **Relação dos segundos molares decíduos:**
 Plano Degrau mesial para a mandíbula Degrau distal para a mandíbula
- **Relação de caninos decíduos:**
 Normal méso-oclusão Disto-oclusão
- **Incisivos:**
 Sobremordida Sobressaliência
- **Modida aberta:**
 Anterior Posterior
- **Mordida cruzada:**
 Anterior Posterior

6.1 Dentição decídua

- **Relação dos primeiros molares permanentes:**
 Topo Classe I Classe II Classe III
- **Incisivos:**
 Sobremordida Sobressaliência
- **Modida aberta:**
 Anterior Posterior
- **Mordida cruzada:**
 Anterior Posterior

7. Exame intra-bucal:

Lábios _____

Mucosa jugal _____

Inserção de freios

- Labial superior _____
- Labial inferior _____
- Lingual _____

Palato _____


Assoalho de boca _____


Gengiva _____


Deglutição _____


Fonação _____

**ODONTOGRAMA - EXAME CLÍNICO (TECIDOS MOLES E DUROS)
USAR CORES DIFERENTES PARA CONDIÇÃO DE SAÚDE E CONDIÇÃO DE DOENÇA**


 17: _____

 16: _____


 ...5: _____


 ...4: _____

 ...3: _____

 ...2: _____

 ...1: _____


 ...1: _____


 ...2: _____

 ...3: _____


 ...4: _____


 ...5: _____

 26: _____

 27: _____

 37: _____

 36: _____

 ...5: _____

