

Fatores físico-químicos e microbiológicos auxiliares no delineamento de ações de promoção da saúde bucal para escolares

Physico-chemical and microbiological factors for the development of health promotion actions for children

Marcel Arruda Diogo^{*,†}, Flávia Moreira de Oliveira[†], Solon José de Oliveira Leite[†], Lillian de Freitas Rosa[‡], Raphaela Kássia Lima[‡], Daniella Maria da Silva[‡], Vanessa Brígido[‡], Isabella de Almeida Francisquini[‡], Amanda Lélis Carvalho[§], Carlos Alberto Mourão Júnior[§], Priscila de Faria Pinto[§]

Como citar esse artigo. Diogo MA; de Oliveira FM; Leite SJO; Rosa LF; Lima RK; da Silva DM; Brígido V; Francisquini IA; Carvalho AL; Mourão Jr CA; Pinto PF. Fatores físico-químicos e microbiológicos auxiliares no delineamento de ações de promoção da saúde bucal para escolares. Revista Fluminense de Extensão Universitária 2018 Jan./Jul.; 08 (1): 02-08.

Resumo

A cárie dentária é uma doença de caráter multifatorial e infectocontagiosa que apresenta os *Lactobacillus acidophilus* como um dos microrganismos marcadores de sua predisposição. O fluxo salivar (FS) e a capacidade tampão da saliva (CTS) são fatores fisiológicos protetores, envolvidos na redução da predisposição à cárie. Além dos aspectos físico-químicos, questões socioeconômicas, educacionais e comportamentais influenciam no desenvolvimento desta doença. O presente estudo foi realizado com amostras de saliva 499 escolares com o objetivo de traçar estratégias de promoção e prevenção em saúde bucal baseadas na análise das amostras. Foram realizadas medidas do FS, titulação da CTS e cultura de saliva para verificar a presença de *L. acidophilus*. Os dados foram submetidos ao aplicativo SPSS versão 20. Para execução das análises estatísticas. Os resultados mostraram que o sexo teve influência sobre o FS e a idade teve influência sobre a CTS. Não houve interação estatística entre idade ou sexo sobre a presença de *Lactobacillus*, entretanto, foi observado que o grupo positivo para o microrganismo teve valores de CTS significativamente inferiores ao grupo negativo. Ao final das análises pode-se concluir que com o aumento da idade temos o aumento do FS seguido de uma redução da CTS. A presença dos *Lactobacillus* não pode ser diretamente associada aos demais fatores analisados. Deste modo, isoladamente, as análises físico-químicas e microbiológicas não são capazes de avaliar a predisposição a cáries nos escolares avaliados.

Palavras-chave: Cárie; Fluxo salivar; Capacidade tampão; *Lactobacillus*.

Abstract

Dental caries is a multifactorial and an infectious disease with the *Lactobacillus acidophilus* as markers of their predisposition. Despite the decline in recent decades, it remains one of the most responsible for tooth loss. Salivary flow (SF) and the saliva buffer capacity (CTS) are factors that help to protect against this disease. In addition, the social and economic factors, educational and behavioral aspects also influence the development of the disease. The study was performed on samples of 499 schoolchildren. SF was obtained by measuring and CTS by titration with HCl. For the microbiological analysis, culture was led in Snyder medium to verify the presence of *L. acidophilus*. Statistical analysis was made using the SPSS version 20. Among the results it was concluded that gender influenced the FS and age had influence on CTS. There was no statistical interaction between age and gender on the presence of *Lactobacillus*; however, it was observed that the positive group had the microorganism CTS values significantly below the negative group. The presence of *Lactobacillus* cannot be directly associated with the other factors analyzed. It was concluded that only physical-chemical and microbiological factors are not able to evaluate the predisposition to caries in schoolchildren.

Keywords: Caries; Salivary flow; Buffer capacity; *Lactobacillus*.

Introdução

A cárie dentária pode ser entendida como uma doença multifatorial complexa resultante de ações bacterianas, exposição da dentina a flutuações prolongadas e baixas de pH, consequência da fermentação do carboidrato da dieta pelos microrganismos, e aspectos socioeconômicos, entre outras condições (Pitts et al., 2017; Larsen et al., 2017).

Estudos recentes já apontam fatores genéticos associados com o surgimento da cárie, sendo identificados

34 genes que apresentam potencial cariogênico (Wong; Subar; Young, 2017). Devemos ressaltar que as condições socioeconômicas e ambientais exercem importantes efeitos sobre a saúde bucal do indivíduo e para atender a toda esta complexidade, a prática odontológica passou a investir uma importante parte da formação direcionada para prevenção e promoção da saúde bucal (Mendes et al., 2016; Lima et al., 2016).

Os dentes estão constantemente em contato com a saliva, sendo assim, características bioquímicas e físico-químicas deste fluido são propriedades

Afiliação dos autores: [†] Acadêmicos do curso de Farmácia - Faculdade de Farmácia/UFJF/Juiz de Fora/Minas Gerais.

[‡] Acadêmicos do curso de Odontologia - Faculdade de Odontologia/UFJF/Juiz de Fora/Minas Gerais.

[§] Orientadores - Docentes do Instituto de Ciências Biológicas/UFJF/Juiz de Fora Minas Gerais.

* marcel-arruda-diogo@hotmail.com

limitantes para a progressão da cárie. Os mecanismos pelo qual a saliva protege os dentes são diversos, tais como depuração de resíduos de alimentos, agregação e eliminação de microrganismos, controle do pH oral através de tampões e do fluxo salivar, além de auxiliar da mastigação deglutição e fala, sendo também parte integrante do sistema imunológico inato (Singh et al., 2015; Gao et al., 2016).

O fluxo salivar (FS) e capacidade tampão da saliva (CTS) estão entre os biomarcadores da cárie de rápida e fácil execução. O fluxo salivar é a velocidade com que as glândulas salivares, sob estímulo, secretam a saliva, no qual valores de até 2 mL/min são considerados normais. A capacidade de tamponamento da saliva (CTS) é essencial para promover o controle do pH da cavidade oral em frente aos ácidos produzidos por microrganismos habitantes levando a um controle da cárie dentária (Singh et al., 2015; Gao et al., 2016). Atualmente, há numerosos estudos onde as diminuições desses biomarcadores estão intimamente relacionadas na incidência da cárie dentária e infecções na mucosa oral do indivíduo (Gao et al., 2016).

A identificação dos grupos de risco requer informações individuais obtidas principalmente a partir de exames microbiológicos e físico-químicos, como os realizados no presente estudo, e de informações coletadas a partir de questionários. Para a instalação de políticas que sejam efetivas na promoção e prevenção da saúde bucal, informações adicionais como dados socioeconômicas, hábitos alimentares e de higiene também devem ser incluídas nos estudos (Larsen et al., 2017; Mendes et al., 2016). Deste modo, possibilita a identificação de indivíduos de risco, estabelecimento de diagnóstico precoce e monitoramento adequado de indivíduos com experiência prévia de cárie.

Ações preventivas realizadas por profissionais dentistas treinados são vistas como uma das principais formas de obter controle da incidência da cárie dentária a curto e longo prazo. Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), o ambiente escolar é o espaço ideal para promover esta intervenção, pois os escolares estão em um momento ideal para a realização de atividades educacionais em função do processo de formação (Prado et al., 2001; Ribeiro et al., 2009; Rodrigues et al., 2016)

Atividades como brincadeiras e dinâmicas educativas têm sido empregadas para despertar o interesse e levar informação às crianças, fazendo com que estas desenvolvam um caráter crítico em relação a sua saúde bucal buscando um maior cuidado e percepção de sua importância baseando em conhecimentos práticos que lhe foram repassados pelos profissionais da área. (Prado et al., 2001; Ribeiro et al., 2009).

A OMS ainda reforça a ideia de que as ações preventivas do cuidado com a saúde bucal devem também ser repassadas aos pais, tendo em vista que

uma melhor eficiência do programa está intimamente relacionada com o nível escolar de seus familiares (Rodrigues et al., 2016).

Neste trabalho, foram realizadas análises das características físico-químicas e microbiológicas em amostras de saliva de crianças da rede pública de ensino.

Material e métodos

População do estudo

Crianças de 4 a 11 anos idade, estudantes da rede pública municipal e estadual de 4 escolas intituladas como “A”, “B”, “C” e “D”. Do total de crianças participantes, apenas 499 amostras de saliva puderam ser coletadas e submetidas às análises. As amostras de saliva das crianças que utilizavam aparelhos ortodônticos foram excluídas, mantendo-se apenas as amostras que estavam acompanhadas das autorizações dos responsáveis.

Coleta das amostras

Para as análises microbiológicas as amostras de saliva foram coletadas sem estímulo e mantidas sob refrigeração até a confecção do inóculo. As análises físico-químicas foram realizadas com amostras coletadas através de estímulo mecânico de mastigação por 5 minutos, de acordo com a metodologia descrita por Aranha (2009).

Análises físico-químicas

A medida do volume do FS foi aferida em mL/min de acordo com a metodologia descrita por Aranha (2009). A determinação da CTS foi realizada por método titulométrico, medindo-se o volume de ácido clorídrico a 0,01M necessário para baixar o pH saliva de 6,9 a 3,7 com a utilização de uma solução de alaranjado de metila como indicador.

Avaliação microbiológica

Para a identificação da presença do microrganismo *Lactobacillus acidophilus*, amostras de saliva foram coletadas, sem estímulo, e transportadas sob refrigeração. As amostras foram diluídas em solução salina (NaCl 0,85%) estéril. Aliquotas de 100 µL das amostras de saliva nas diluições 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , foram colocadas em tubos de ensaio contendo o meio Ágar Snyder (Himedia) e incubadas em estufa bacteriológica a 37° C por 24, 48 e 72h, como metodologia descrita por Leite et al. (2012).

Análise estatística dos dados

A análise estatística descritiva dos dados referentes às variáveis escalares foi apresentada como média \pm desvio padrão. Os dados referentes às variáveis categóricas são apresentados como porcentagem (%). Na análise estatística inferencial foram utilizados testes paramétricos, após terem sido verificados a normalidade (teste de Shapiro-Wilk) e a homocedasticidade (teste de Levene) dos dados. Em todas as análises foi adotado um nível de significância de 5%. As análises foram feitas por meio do aplicativo SPSS versão 20.

Os testes preliminares foram os seguintes: para verificar se a capacidade tampão diferia entre os sexos foi realizado o teste-t não pareado. A correlação estatística entre a capacidade tampão e a idade foi avaliada pelo teste de Pearson. A existência de associação entre presença de microrganismos e sexo foi verificada pelo teste exato de Fisher. Para verificar se a média de idade era diferente entre os grupos com e sem microrganismos foi realizado o teste-t não pareado.

Foi realizada uma análise de covariância (ANCOVA) de dois fatores (sexo e escola) para verificar o efeito de cada um dos fatores sobre a variável dependente (fluxo salivar), bem como testar a interação entre os dois fatores. Todos os resultados foram corrigidos para a média da idade (covariável). Em seguida o mesmo procedimento (ANCOVA de dois fatores) foi adotado para testar o efeito do sexo e da escola sobre a quantidade capaz de tamponar o pH da saliva (variável dependente), tendo a idade como covariável.

Resultados

Das 499 amostras de saliva de indivíduos participantes, 252 representavam o sexo feminino (50,5%) e 247 masculinos (49,5%). A média de FS das crianças participantes foi de 1,0437ml/min (meninas = 0,9905ml/min; meninos= 1,0980ml/min), sendo que os valores obtidos para o FS dos meninos foram significativamente maiores que os obtidos para as meninas ($p=0,03$) (Tabela 1).

A média da capacidade tampão não diferiu significativamente entre os sexos (teste-t: $t = -1,8$; $GL = 497$; $p = 0,07$). Foi encontrada uma correlação (aproximadamente 23%) estatisticamente significativa entre capacidade tampão e idade. A correlação negativa (quanto maior a idade, menor a capacidade tampão) foi obtida pelo teste de Pearson ($r = -0,23$; $p < 0,001$). Não houve associação entre sexo e presença de *Lactobacillus* (teste exato de Fisher: $p = 0,81$). A média de idade foi estatisticamente semelhante entre os grupos com e sem *Lactobacillus* (teste-t: $t = -0,8$; $GL = 497$; $p = 0,41$).

A ANCOVA de dois fatores para verificar o efeito da escola e do sexo no fluxo salivar, bem como verificar se existe interação entre o sexo e a escola, tendo a idade como covariável, forneceu os seguintes resultados: houve efeito significativo do sexo sobre o fluxo salivar [$F(1, 490) = 4,4$; $p = 0,03$], houve efeito significativo da escola sobre o fluxo salivar [$F(3, 490) = 3,7$; $p = 0,01$] e não houve interação estatisticamente significativa entre o sexo e a escola [$F(3, 490) = 0,4$; $p = 0,77$]. Os resultados foram corrigidos para a idade média de 8,3 anos. A ilustração desses resultados pode ser vista na figura 1.

Tabela 1. Dados da estatística descritiva, separados por escola[#].

Escolas	A	B	C	D
Amostra (n)	131	157	86	125
Idade (anos)	8,1 \pm 1,4	9,1 \pm 1,5	6,0 \pm 0,9	5,9 \pm 1,4
Fluxo salivar (ml/min)	1,04 \pm 0,5	1,03 \pm 0,6	0,73 \pm 0,5	1,28 \pm 1,1
Quantidade de tampão	1,86 \pm 0,4	2,07 \pm 0,7	1,99 \pm 0,4	1,99 \pm 0,6
Sexo (M/F)	66/65	80/77	40/46	61/64
Positividade para o ensaio de <i>Lactobacillus</i> (%)	11,5	21,7	12,8	18,4

[#]Os valores representam as médias \pm desvio padrão.

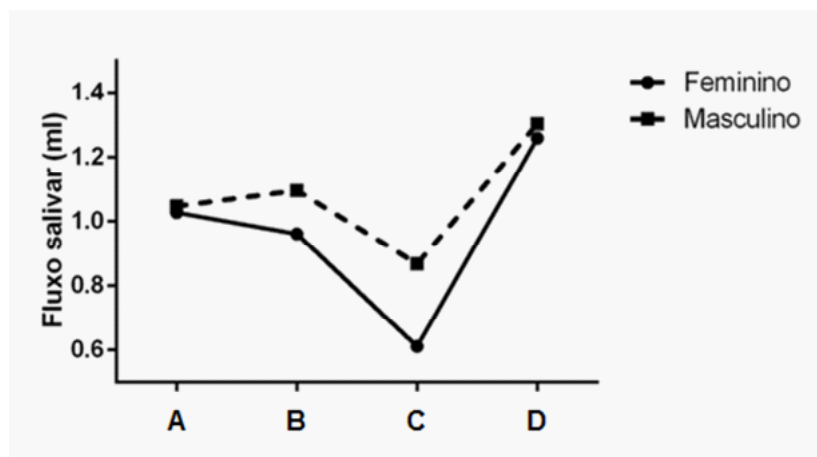


Figura 1. Média dos valores de fluxo salivar das escolas avaliadas separados por sexo

A análise de ANCOVA de dois fatores para verificar o efeito da escola e do sexo na quantidade capaz de tamponar o pH da saliva, bem como verificar se existe interação entre o sexo e a escola, tendo a idade como covariável, forneceu os seguintes resultados: não houve efeito significativo do sexo sobre a quantidade tampão [$F(1, 490) = 1,7$; $p = 0,19$], houve efeito significativo da escola sobre a quantidade tampão [$F(3, 490) = 15,3$; $p < 0,001$] e não houve interação estatisticamente significativa entre o sexo e a escola [$F(3, 490) = 1,6$; $p = 0,19$]. Os resultados foram corrigidos para a idade média de 8,3 anos. A ilustração desses resultados pode ser vista na figura 2.

Em relação ao efeito da escola sobre o fluxo salivar, o teste t mostrou $p = 0,01$, o que revela efeito significativo da escola sobre o fluxo salivar. A relação entre o fluxo salivar médio das escolas, por sexo se encontra na figura 1.

Em relação à CTS, o valor médio encontrado foi de 1,9395ml de HCl para as meninas e 2,0311ml de HCl para os meninos, não sendo encontrada diferença significativa ($p = 0,07$). A comparação entre os resultados de CTS obtidos para as diferentes escolas mostrou que os valores observados na instituição “B” foram significativamente maiores (figura 2), não havendo diferenças entre os valores obtidos para cada sexo entre as escolas ($p < 0,001$). Foi observada uma correlação negativa (aproximadamente 23%) entre idade e CTS, o que indica que quanto maior a idade, menor a CTS encontrada. Não foi encontrada correlação linear entre as variáveis FS e CTS quando aplicado o teste de Pearson. Neste estudo, a presença de elevado fluxo salivar não implicou em elevada capacidade tampão da saliva.

Ao investigar a presença de *L. acidophilus*, 83 (16,6%) amostras apresentaram positividade para a presença deste microrganismo após 24 horas de incubação. Não foi encontrada associação entre a presença do microrganismo e o sexo quando comparadas entre si e com as demais áreas de estudo (Tabela 2).

Não houve diferença significativa nos valores de FS em relação às crianças com amostras positivas ou negativas para a presença do microrganismo. Entretanto, a CTS média do grupo negativo para *L. acidophilus* foi significativamente maior que a média do grupo que apresentava positividade para o microrganismo ($p = 0,004$).

Houve uma correlação negativa quando observado o efeito da idade sobre a CTS (Tabela 3).

Discussão

A análise do FS é importante para consolidar a sua relação com a predisposição à cárie dentária dos indivíduos (Garcia et al., 2009; Moura et al., 2008). O valor médio de FS encontrado no estudo esteve dentro dos valores que a literatura julga como habituais (Garcia et al., 2009). Um total de 151 indivíduos (30,26%) apresentaram valores baixos de FS (abaixo de 0,7 ml/min). A supressão ou mesmo a diminuição do fluxo pode determinar maior suscetibilidade à cárie dental (Couto; Lopes, 2010; Moura et al., 2008). Os valores de FS encontrados foram maiores nas amostras das crianças do sexo masculino em todas as instituições escolares participantes do estudo. O resultado corrobora com dados publicados por Fenoll-Palomares et al. (2004) e Serratine e Silva, (2008), que ao relacionarem sexo e FS encontraram valores maiores para o masculino.

A correlação positiva de baixa significância encontrada entre idade e FS, assim como observado no estudo realizado por Moura et al. (2008), mostra a tendência das crianças maiores em eliminar maior volume de saliva ao longo da coleta. Por outro lado, Couto e Lopes (2010) e Fenoll-Palomares et al. (2004), encontraram em seus estudos correlação negativa entre a idade e o FS, o que pode ser associado a maior salivagem geral observada em crianças menores 7 anos. A escola “C”, apresentou menores valores de FS. Esse resultado pode ser justificado pelo fato de nesta escola

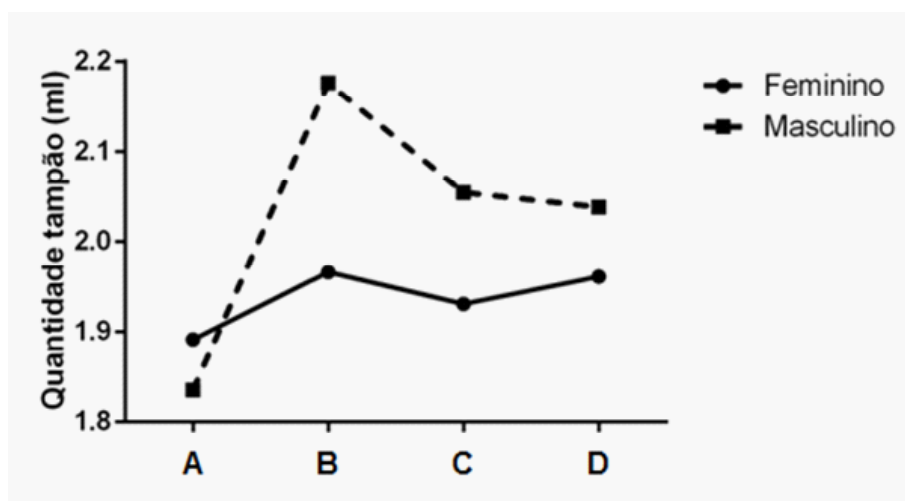


Figura 2. Média dos valores de capacidade tampão das amostras de saliva das escolas avaliadas. Os volumes de ácido clorídrico gasto estão representados de acordo com a escola e separados por sexo

Tabela 2. Análise da presença de *Lactobacillus acidophilus*, em amostras de saliva cultivadas por 24 h a 37°C em meio Snyder

Sexo	Ausência	Presença	Total (n)
Feminino	209	43	252
Masculino	207	40	247
Total	416	83	499

Tabela 3. Média da idade dos grupos onde foi observada presença ou ausência de *Lactobacillus acidophilus*.

Presença de <i>Lactobacillus acidophilus</i>	Amostra (n)	Média de idade	Desvio Padrão
Ausente	416	8,26	1,781
Presente	83	8,43	1,609

estarem presentes os alunos com menores idades (entre 4 e 7 anos). A baixa idade pode ser responsável por: (I) dificuldade dos alunos em se concentrar no ato de eliminar a saliva no recipiente oferecido; ou (II) falta de habilidade para realizar esta etapa do estudo, mesmo sendo acompanhados pela equipe. Desta forma, não foi possível estabelecer um consenso geral sobre a relação da quantidade de saliva – fluxo salivar – com a idade na população analisada.

Foi observado que a média de CTS foi maior nos participantes do sexo masculino (1,0980ml) do que nos do sexo feminino (0,9905ml), assim como o FS. Entretanto, a diferença entre estes valores não foi significativa. Siqueira et al. (2005), observou que os meninos apresentaram CTS significativamente superior à CTS das meninas. Houve uma correlação negativa quando observado o efeito da idade sobre a CTS, o que corrobora o estudo de Fenoll-Palomares et al. (2004). O aumento da idade leva à diminuição parcial da CTS, o que reforça a ideia da importância do autocuidado, baseado principalmente na remoção mecânica do biofilme bacteriano. O controle químico-mecânico do biofilme bacteriano promove um controle ideal na manutenção da saúde bucal (Prado et al. 2001). Autores já atribuíram a redução da experiência de cárie às melhores condições de higiene bucal e à conscientização do processo cariogênico e de outras infecções endodônticas (Cortelliet al., 2002; Lisboa; Abegg, 2006).

A medida de FS e CTS são dois dos parâmetros utilizados para a avaliação do risco da instalação e do desenvolvimento das doenças infecciosas bucais (Couto; Lopes, 2010; Fenoll-Palomares et al., 2004; Moura et al., 2008; Serratine; Silva, 2008). No presente trabalho não foi encontrada correlação entre as variáveis CTS e FS, assim como no estudo de Bretas et al. (2008), que foi realizado com crianças da mesma cidade deste estudo. Em contrapartida, Dogra e colaboradores (2013) ao estudar dois grupos distintos, sendo um deles livre de cárie dentária e o outro acometido pela doença descrevem uma relação entre o grupo acometido pela doença e os parâmetros salivares de FS e CTS, os quais apresentam valores mais baixos para o grupo livre de cárie dentária em comparação com os valores obtidos para o grupo de pacientes não acometidos.

Não foram encontradas relações estatísticas significativas da interação entre idade e positividade para a presença de *L. acidophilus*, o que corrobora com alguns estudos descritos na literatura, tais como o trabalho de Moura e colaboradores (2008). Já Kohler e Andreen (2012) defendem que quanto menor a experiência de cárie precocemente, maiores as chances do jovem e do adulto serem menos acometidos pela doença.

Na análise das características da saliva como indicadores da presença de *L. acidophilus*, o FS foi

estatisticamente semelhante entre os grupos positivo e negativo para o microrganismo. Já em relação a CTS, houve uma diferença significativa entre os grupos positivo e negativo, de forma que o grupo negativo teve média significativamente maior que o grupo positivo.

A porcentagem de alunos que apresentaram positividade para o microrganismo pode ser considerada baixa (16,6%). Este resultado corrobora com o processo de polarização da cárie, defendido por alguns autores (Baldani et al., 2002; Narvai et al., 2006; Peres et al., 2000; Prado et al., 2001). A polarização da doença cárie é um fenômeno que por um lado mostra o declínio da doença nos últimos anos, mas por outro deixa claro as desigualdades em saúde (Narvai et al., 2006; Peres et al., 2000). A caracterização individual de uma população nos permite obter informações acerca do desenvolvimento e prevalência do processo cariogênico, hábitos adotados e dados que subsidiem as políticas públicas de saúde bucal em relação à sua abrangência e efetividade (Narvai et al., 2006).

Mesmo que as meninas tenham apresentado valores de FS estatisticamente menores, além de valores menores (embora, não significativos) de CTS, não foi encontrada associação entre a presença de *L. acidophilus* na saliva e o sexo. Estudo realizado por autores como Lisboa e Abegg (2006), constatou que meninas possuíam maior frequência de escovação dentária, além de menor tempo de intervalo entre as visitas ao dentista, reforçando a relação mais estreita que as mulheres têm uma relação ao autocuidado.

As variações individuais em amostras salivares coletadas para a realização do estudo evidenciam que a relação entre prevalência de cárie e parâmetros salivares pode não ser tão evidente (Bretas et al., 2008). As informações obtidas no presente estudo, assim como dados encontrados na literatura, podem direcionar a uma maior influência da CTS que o FS sobre o processo cariogênico, sendo a CTS um fator protetor importante para a manutenção da saúde bucal. A inserção de um questionário que consiga reunir informações acerca de hábitos alimentares e de higiene do aluno e de seus familiares, além de dados socioeconômicos, seria capaz de somar informações que ajudarão na interpretação dos resultados obtidos a partir das análises laboratoriais da saliva.

Conclusão

O trabalho realizado reforça a importância de ações educacionais, já justificadas na literatura. A partir da análise laboratorial da saliva, foi possível verificar que o sexo foi influenciador no fluxo salivar e a idade influenciadora na capacidade tampão, onde o aumento da idade aumenta o fluxo salivar e reduz a capacidade tampão. O fato da presença de *L. acidophilus* não ter

estabelecido relação com os demais fatores analisados deixa evidente a caracterização multifatorial da cárie, que vai além das análises laboratoriais. Deve ser ressaltado que não só as questões biológicas devem ser consideradas, mas também aspectos culturais, econômicos e sociais.

Para que seja aplicada uma política de saúde bucal efetiva é necessário que se leve em conta todos os fatores envolvidos. Assim, uma maior interação entre as crianças e familiares com os profissionais da área da odontologia, onde que haja questionamentos sobre hábitos de higienização, brincadeiras e dinâmicas são pontos essenciais na promoção e prevenção da saúde bucal desses escolares.

Comitê de ética

O projeto foi aprovado pelo comitê de ética em pesquisa com seres humanos da UFJF sob o protocolo número CEP-UFJF2543.283.2011, parecer 302/2011. Todas as crianças que não possuíam a autorização formal dos responsáveis através do TCLE não foram incluídas na coleta de saliva, participaram da parte educacional do trabalho.

Referências

ARANHA, Flávio Leite. *Bioquímica Odontológica*. 3. ed. São Paulo: Sarvier, 2009.

BALDANI, Márcia H. Narvai, Paulo C. and Antunes, José LF. Dental caries and socioeconomic conditions in the State of Paraná, Brazil, 1996. *Cadernos de Saúde Pública*, Rio de Janeiro, v. 18, n.3, p. 755-763, 2002.

BRETAS, Liza Porcaro et al. Flow rate and buffering capacity of the saliva as indicators of the susceptibility to caries disease. *Brazilian Research in Pediatric Dentistry and Integrated Clinic*, v. 8, n. 3, p. 289-293, 2009.

CORTELLI, Sheila Cavalca et al. Avaliação da condição bucal e do risco de cárie de alunos ingressantes em curso de Odontologia. *Brazilian Dental Science*, v. 5, n. 1, 2010.

COUTO, Juliana Almeida de Macedo; LOPES, Fernanda Ferreira. A influência da faixa etária na velocidade do fluxo salivar em adultos. *RFO UPF*, v. 15, n. 2, p. 135-138, 2010.

DOGRA, Subha et al. Evaluation of physio-chemical properties of saliva and comparison of its relation with dental caries. *Journal of Indian Society of Pedodontics and Preventive Dentistry*, v. 31, n. 4, p. 221, 2013.

FENOLI-PALOMARES, C. et al. Unstimulated salivary flow rate, pH and buffer capacity of saliva in healthy volunteers. *Revista espanola de enfermedades digestivas*, v. 96, n. 11, p. 773-783, 2004.

GAO, Xiaoli et al. Salivary biomarkers for dental caries. *Periodontology* 2000, Singapore, v. 70, p.128-141, 2016.

GARCIA, L. B. et al. Testes salivares e bacteriológicos para avaliação do risco de cárie. *Revista Brasileira de Análises Clínicas*, v. 41, n.1, p. 69-76, 2009.

KOHLER, B.; ANDREEN, I. Mutans Streptococci and Caries Prevalence in Children after Early Maternal Caries Prevention: A Follow-Up at 19 Years of Age. *Caries Research*, v. 46, n. 5, p. 474-480, 2012.

LARSEN, Tove; FIEHN, Nils-erik. Dental biofilm infections - an update. *Ap- mis*, v. 125, n. 4, p.376-384, abr. 2017.

LEITE, S. J. O. et al. Avaliação de potenciais indicadores do risco de incidência de cárie em crianças de 6 a 11 anos da cidade de Juiz de Fora, MG. *HU Revista*, Juiz de Fora. v. 38, n. 1 e 2, 2013.

LIMA, Heron Teixeira et al. A prevalência de cárie dentária em adolescentes de 12 anos no Brasil. *Joac*, Ceará, v. 2, n. 2, p.1-5, 2016

LISBOA, I. C.; ABEGG, C. Hábitos de higiene bucal e uso de serviços odontológicos por adolescentes e adultos do Município de Canoas, Estado do Rio Grande do Sul, Brasil. *Epidemiologia e Serviços de Saúde*, v. 15, n. 4, p. 29-39, 2006.

MOURA, J. K. D. et al. Quantitative assessment of stimulated saliva flow rate in children and adolescents. *Journal of Dental Science*, v. 23, n. 4, p. 380-383, 2008

NARVAI, P. C. et al. Cárie dentária no Brasil: declínio, iniquidade e exclusão social. *Revista Panamericana de Saúde Pública*, v. 19, n. 6, p. 385-93, 2006.

PERES, K. G. A.; BASTOS, M. R.; LATORREA, D. O. Relationship between severity of dental caries and social and behavioral factors in children. *Journal of Public Health*, v. 34, n. 4, p. 402-8, 2000.

PITTS, Nigel B. et al. Dental caries. *Nature Reviews Disease Primers*, v. 3, n. 17030, p.1-16, 25 maio 2017.

PRADO, J. S. et al. Dental condition and oral hygiene habits in school children. *Revista Biociência*, Taubaté, v.7, n. 1, p. 63-69, 2001.

RIBEIRO, Daniela Garcia; DOVIGO, Livia Nordi; SILVA, Sílvia Rocha Corrêa da. Avaliação de um método educativo em saúde bucal aplicado em escolares de ensino público. *Arquivos em Odontologia*, São Paulo, v. 45, n. 3, p.154-158, set. 2009.

RODRIGUES, Ana Paula; MATIAS, Fernanda; FERREIRA, Maria Manuela. Escovagem de dentes em ambiente escolar e redução do índice de placa bacteriana: avaliação da efetividade de um projeto de saúde oral. *Revista Portuguesa de Saúde Pública*, Lisboa, v. 3, n. 34, p.244-249, jul. 2016.

SERRATINE, A. C. P.; SILVA, M. R. M. Avaliação da Efetividade de um Sialômetro Desenvolvido Para Medir Taxa de Fluxo Salivar em Crianças. *Pesquisa Brasileira em Odontopediatria e Clínica Integrada*, João Pessoa, v. 8, n. 1, p. 75-79, 2008.

SINGH, Shikha et al. Saliva as a prediction tool for dental caries: An in vivo study. *Journal of Oral Biology And Craniofacial Research*, Índia, v. 5, n. 2, p.59-64, maio 2015.

TEIXEIRA, K. I. R.; BUENO, A. C.; CORTES, M. E. Processos Físico-Químicos no Biofilme Dentário Relacionados à Produção de Cárie. *Química nova na escola*, v. 32, n. 3, p. 145-150, 2010.

WONG, Allen; SUBAR, Paul E.; YOUNG, Douglas A. Dental Caries. *Advances In Pediatrics*, v. 64, n. 1, p.307-330, ago. 2017.