

MÁRCIA MARIA VENDICIANO BARBOSA VASCONCELOS

PREVALÊNCIA DE CÁRIE ENTRE DIETA EXPERIMENTAL E DIETA  
PADRÃO COM E SEM UTILIZAÇÃO DE ÁGUA FLUORETADA.  
ESTUDO EM RATOS.

RECIFE  
2002

PREVALÊNCIA DE CÁRIE ENTRE DIETA EXPERIMENTAL E DIETA  
PADRÃO COM E SEM UTILIZAÇÃO DE ÁGUA FLUORETADA.  
ESTUDO EM RATOS.

Orientadora: Tânia Lúcia Montenegro Stamford  
Professora Adjunta IV do Departamento de Nutrição da  
UFPE.

Co-Orientador: Professor Geraldo Bosco Lindoso Couto  
Professor Adjunto IV do Departamento de Clínica e  
Odontologia Preventiva da UFPE.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO  
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
DEPARTAMENTO DE NUTRIÇÃO

PREVALÊNCIA DE CÁRIE ENTRE DIETA EXPERIMENTAL E DIETA  
PADRÃO COM E SEM UTILIZAÇÃO DE ÁGUA FLUORETADA  
ESTUDO EM RATOS.

Tese apresentada ao Programa de Pós-  
graduação em Nutrição, Curso de  
Doutorado do Departamento de Nutrição  
do Centro de Ciências da Saúde da  
Universidade Federal de Pernambuco,  
para obtenção do grau de Doutor em  
Nutrição.

RECIFE  
2002

## AGRADECIMENTOS

À Deus pela Dom da Vida e a oportunidade de realizar mais esse objetivo.

À minha família pelo constante apoio e compreensão.

Ao Programa de Pós-graduação do Departamento de Nutrição pela acolhida e apoio na realização de todas as etapas do curso.

À Professora Tânia Lúcia Montenegro Stamford pela orientação, paciência e inestimável colaboração neste trabalho, minha gratidão.

Ao Professor Geraldo Bosco Lindoso Couto pelo incansável estímulo, apoio e orientação na realização de minha vida profissional.

Às Professoras Norma Lúcia Nascimento e Maria do Carmo Medeiros na elaboração das dietas, muito obrigada.

À Professora Luciana Gonçalves pela obtenção dos animais.

Ao Sr. José Paulino Ventura pela imprescindível colaboração no cuidado com os animais.

À Necy Maria Santos do Nascimento pela presteza.

Ao Professor Edir Carneiro Leão grande incentivador.

Às colegas Kátia Botelho, Valéria Maranhão e Márcia Dantas pelo constante apoio e amizade.

À todos que contribuíram para a realização deste trabalho  
minha eterna gratidão

Enche-se de felicidade aquele que vê, sem inveja, a felicidade dos outros e,  
com satisfação, a felicidade comum.  
(Bossuet)

Feliz o homem que encontrou a sabedoria e alcançou o entendimento porque a  
sabedoria vale mais do que a prata e dá mais lucro do que o ouro.  
(Provérbios 3, 13-14)

Dedico este trabalho a minha mãe, Renilda,  
a meu marido Geraldo e a  
meus filhos, Mariana e Guilherme.

## SUMÁRIO

### LISTA DE TABELAS

### RESUMO

### ABSTRACT

<b>1. INTRODUÇÃO</b>	<b>12</b>
<b>2. REVISÃO DA LITERATURA</b>	<b>16</b>
2.1 A cárie dentária	16
2.2 Ação da dieta	19
2.3 Hábitos alimentares e fatores nutricionais	28
2.4 Flúor	31
<b>3. OBJETIVOS</b>	<b>34</b>
3.1 Objetivo Geral	34
3.2 Objetivos Específicos	34
<b>4. MATERIAIS E MÉTODOS</b>	<b>36</b>
<b>4.1 Materiais</b>	<b>36</b>
4.1.1 Animais	36
4.1.2 Dietas	36
<b>4.2 Métodos</b>	<b>38</b>
4.2.1 Distribuição dos grupos	38
4.2.2 Preparação das dietas	38
4.2.3 Consumo alimentar e hídrico	39
4.2.4 Procedimento para obtenção das peças	39
4.2.5 Leitura das lesões de cárie	40
4.2.6 Análise estatística	40
<b>5. RESULTADOS E DISCUSSÃO</b>	<b>43</b>
<b>6. CONCLUSÕES</b>	<b>52</b>
<b>7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	<b>54</b>

## ANEXOS

### LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> – Composição centesimal da dieta experimental.	35
<b>Tabela 2</b> – Composição centesimal da dieta padrão contendo caseína	35
<b>Tabela 3.</b> Prevalência de cárie em molares de ratos quando se utilizou a dieta experimental na presença ou ausência de flúor.	42
<b>Tabela 4.</b> Prevalência de cárie nos tecidos dentinários, esmalte, dentina superficial e profunda, em molares de ratos quando se utilizou a dieta experimental na presença ou ausência de flúor.	43
<b>Tabela 5.</b> Prevalência de cárie em molares de ratos quando se utilizou a dieta padrão na presença ou ausência de flúor.	44
<b>Tabela 6.</b> Prevalência de cárie em esmalte, dentina superficial e profunda, em molares de ratos quando se utilizou a dieta padrão na presença ou ausência de flúor.	45
<b>Tabela 7.</b> Prevalência de cárie em molares de ratos quando se utilizaram as dietas experimental e padrão na presença ou ausência de flúor.	46
<b>Tabela 8.</b> Prevalência de cárie em molares de ratos quando se utilizaram as dietas experimental e padrão na ausência de flúor.	47
<b>Tabela 9.</b> Prevalência de cárie em molares de ratos quando se utilizaram as dietas experimental e padrão na presença de flúor.	48

## RESUMO

A cárie dentária é uma doença infecciosa de caráter multifatorial e causadora de um dos maiores problemas de saúde bucal. O processo cariioso resulta da complexidade das interações bactéria-dieta-hospedeiro, e a sacarose desempenha papel fundamental no surgimento das lesões cariosas. O presente trabalho teve por objetivo verificar a prevalência de cárie entre uma dieta experimental e uma dieta padrão, na presença ou ausência de água com flúor. Foram utilizados 48 ratos (*Rattus norvegicus albinus Wistar*), com 23 dias de idade, os quais receberam, durante 60 dias, as dietas citadas anteriormente e água *ad libitum*. Os resultados demonstraram a característica multifatorial do processo cárie, tendo em vista que todos os grupos de animais os quais consumiram as dietas experimental e padrão apresentaram cárie. Houve evidência estatística de que o tratamento utilizando água com flúor, na dieta caseína, foi mais eficaz do que na dieta balanceada, bem como em relação à profundidade da cárie no tecido dentinário. Pode-se concluir que a prevalência de cárie dentária está relacionado com a caracterização de dietas.

## ABSTRACT

Tooth decay is an infectious disease with a multifactorial character and it is the cause of one of the major oral health problems. Carious process results from complexity interactions bacteria-diet-host and sucrose performs a fundamental role in carious lesion arising. The aim of the present research was to verify caries prevalence between a balanced and a standard diet having casein, even in presence or absence of water with fluorine. It had been used 48 rats (*Rattus norvegicus albinus Wistar*), at 23 days of age which received for 60 days diets and water *ad libitum*. Results showed carious process multifactorial characteristics, pointing out that all groups of animals, whom consumed experimental and standard diets presented decay. It had been a statistical evidence that treatment using water with fluorine, on casein diet, was more effective than balanced diet, as well as regard to caries depth in dentinal tissue. It can be concluded that dental caries control is related with diets characterization.

## 1. INTRODUÇÃO

Apesar dos avanços obtidos no controle e tratamento da doença-cárie, ela continua a ser um problema universal que afeta as pessoas sem distinção de raças e classes sociais. A cárie dental pode ser definida como uma destruição localizada e causada pela ação das bactérias. A desmineralização dos tecidos dentais é causada por ácidos, produzidos pela fermentação bacteriana dos carboidratos da dieta, geralmente a sacarose. A ingestão alimentar e os hábitos dietéticos são muito difíceis de serem transmitidos e assimilados dessa forma, recomendações sobre boa nutrição devem ser reforçadas através de guias informativos. A utilização de fluoretos, atuando como agentes remineralizadores, tem comprovada eficácia na redução da prevalência de cárie (THYLSTRUP; FEJERSKOV, 1995)

A cárie dentária é uma enfermidade bacteriana multifatorial que envolve cerca de 95% da população, sendo que sua prevalência é cumulativa e o seu risco é devido a diferenças sociais, políticas e econômicas. A doença inicia-se geralmente de forma precoce, quando a dentição está ainda em desenvolvimento, e aumenta com a idade, principalmente quando não controlada (BASTOS; HEINTZE, 1996).

Segundo NEWBRUN (1988), nutrição e dieta podem afetar a dentição de três maneiras: por sua influência na estrutura do dente, na erosão dental e no processo da cárie dental. O primeiro tem um efeito na fase pré-eruptiva durante a odontogênese; a erosão é resultado do efeito local intra-oral, enquanto que o desenvolvimento da cárie possui caráter multifatorial, onde se verifica a interação de três fatores principais: o hospedeiro (saliva e dentes), a microbiota (microrganismo) e o substrato (dieta). Outro fator é o tempo que deve ser considerado em qualquer discussão sobre a etiologia da cárie.

Em relação à dieta, o fator primordial na elevação do risco de cárie é a ingestão da sacarose entre as refeições. As unidades básicas dos carboidratos são os monossacarídeos: glicose, frutose, galactose. Os dissacarídeos: sacarose, lactose e maltose, compreendem os chamados carboidratos simples ou açúcares simples, também conhecidos como açúcares livres. Os polissacarídeos são longas moléculas compostas por um grande número de monossacarídeos, conhecidos como carboidratos complexos e, que incluem o amido, constituído por múltiplas unidades de glicose, e os polissacarídeos não amiláceos, os quais representam a maior parte das fibras contidas nos alimentos. (WORLD CANCER RESEARCH & AMERICAN INSTITUTE FOR CANCER RESEARCH, 1997).

Como doença infectocontagiosa, a cárie resulta de uma perda localizada de miligramas de minerais nos dentes afetados, causada por ácidos orgânicos provenientes da fermentação microbiana dos carboidratos da dieta diária. Em estágios mais avançados, essa doença bucal provoca a disfunção mastigatória e, em virtude disso, torna-se necessária a mudança de hábitos dietéticos indesejáveis (POMPEU; BRÍGIDO, 1999).

O correto diagnóstico da doença cárie é de fundamental importância segundo OLIVEIRA; ASSUNÇÃO, SÁ (1999), pois pode influenciar, positiva ou negativamente, no prognóstico do paciente na medida em que a decisão terapêutica selecionada poderá ser de caráter irreversível, ou seja, realização de um procedimento restaurador desnecessário.

A causa da cárie dentária é a interação entre bactéria oral, capaz de metabolizar os carboidratos fermentáveis e as partes vulneráveis dos dentes. Quando o fluxo salivar é aumentado, a proteção contra a cárie também é aumentada (WILDING; SOLOMON, 1996).

Muitos profissionais da área de saúde têm alertado para o interesse que as indústrias de bebidas, como os refrigerantes, têm demonstrado pelas crianças. Assim sendo, o

crescimento no consumo de bebidas adoçadas poderia aumentar a susceptibilidade para os problemas dentais e nutricionais sérios (SIENER; RUTHMAN; FARRAR, 1997).

Somando-se aos fatores orgânicos que desencadeiam todo processo da doença, existem algumas características da sociedade que refletem com nitidez a situação da saúde bucal. A crise prolongada na economia, desigualdades sociais, sistema educacional em falência, entre outros aspectos, influem diretamente sobre a área odontológica onde se percebe: acesso inviável às clínicas particulares para a população de baixa renda; expansão forçada da oferta de Cirurgiões-Dentistas, sem uma melhora no sistema econômico geral. Paralelamente, a Odontologia está voltada para a prática privada e curativa, pois não existem em determinadas regiões uma prática preventiva-educativa (PINTO, 1996).

Considerando-se que a prevalência de cárie está relacionada com a dieta, justifica-se, dessa forma, o estudo em ratos para verificar os efeitos de uma dieta experimental comparada a uma dieta padrão com e sem a utilização de água fluoretada, bem como os resultados deste trabalho podem contribuir de maneira a orientar a população sobre hábitos alimentares, procurando adequá-los, bem como melhorar a orientação preventiva com o intuito de diminuir o risco de instalação do processo-cárie.

## **2. REVISÃO DA LITERATURA**

### **2.1 – A cárie dentária**

MILLER (1905) considerava a cárie dentária como um processo químico-parasitário, o qual consistia em dois estágios: a descalcificação do esmalte, resultando em sua completa destruição, e descalcificação da dentina, como estágio preliminar; seguida da dissolução do resíduo amolecido. O ácido que afeta essa descalcificação primária é derivado da fermentação dos amidos e de açúcares alojados nos pontos retentivos dos dentes.

PRICE (1936) relatou que os esquimós do Alasca (USA), vivendo em isolamento, apresentaram uma incidência de cárie de aproximadamente 0,1%, enquanto os esquimós vivendo em áreas com acesso aos alimentos industrializados, apresentaram uma incidência de 13%.

A cárie dentária é um problema universal que afeta de perto todas as pessoas em todas as sociedades, raças e classes sócioeconômicas do mundo e, embora a sua prevalência tenha decrescido em crianças, adolescentes e adultos jovens na maioria dos países industrializados, continua a ser a razão principal da perda dentária (CHEN; RUBINSON, 1982).

Para SHAFER *et al.* (1987), a cárie dentária é uma doença microbiana dos tecidos calcificados dos dentes, caracterizada pela desmineralização da parte inorgânica e destruição da substância orgânica do dente, podendo ser considerada convenientemente como uma doença da civilização moderna, de vez que o homem pré-histórico raramente apresentava essa forma de destruição dentária.

A alta prevalência de cárie em crianças pode ser atribuída aos microrganismos cariogênicos antes da maturação da superfície do esmalte. A colonização precoce pode também indicar que a criança foi exposta a uma dieta rica em sacarose o que pode facilitar o desenvolvimento da doença-cárie (KÖHLER *et al*, 1988).

Segundo KOCH *et al.* (1992), a cárie dentária caracteriza-se por uma desmineralização e desintegração progressiva dos tecidos calcificados dos dentes, que ocorre sob uma camada de bactérias na superfície deles, causada por ácidos formados pela placa bacteriana, através da metabolização dos açúcares da dieta.

No Brasil, os dados nacionais sobre estado nutricional baseado em inquéritos de base populacional, em crianças menores de cinco anos de idade, demonstram diferenças entre o período de 1974 a 1996, os quais apresentam uma prevalência/ano de desnutrição de 20,1 e 5,6 respectivamente. Entre as razões que explicam a melhoria da situação nutricional na infância figuram o aumento da escolaridade materna, cobertura dos serviços de saúde, água e saneamento básico e queda da fecundidade (MONTEIRO; BENÍCIO; GOUVEIA, 1993).

GOMES *et al.* (1996) avaliaram fatores que determinam o aparecimento de cáries rampantes numa faixa etária precoce, através de estudo realizado em creche com 75 crianças. Verificaram que o alto consumo de dieta cariogênica, associado ao hábito da amamentação noturna contribuíram para os elevados índices de cárie (ceo-s) encontrados na amostra.

No Brasil, apesar da recente observação de uma redução na prevalência da cárie dental em crianças, o perfil epidemiológico, nessa faixa etária, ainda pode ser considerado bastante crítico, principalmente por se tratar de crianças tão jovens. Todavia, são escassos

os estudos nacionais longitudinais que observaram o incremento de cárie dental em crianças menores de 5 anos de idade (WALTER; NAKAMA, 1998).

Segundo BIANCHI (1998), como toda enfermidade de participação bacteriana, a cárie resulta do desequilíbrio das forças de defesa do hospedeiro frente à agressão do agente causal, sendo de fundamental importância : 1) a nutrição, com uma alimentação balanceada e adequada, absorção de proteínas de alto valor biológico, carboidratos complexos, vitaminas e sais minerais, para a maior mineralização e resistência da dentição decídua e permanente; 2) a eficiente ação do mecanismo imunitário; 3) o diagnóstico do risco da doença, com a análise microbiológica da saliva; 4) o controle do ambiente que rodeia a criança nos seus três primeiros anos de vida, evitando a colonização precoce do agente na etapa eruptiva.

COSTA *et al.* (1998) realizaram entrevistas diretas com um grupo de gestantes cadastradas pela Secretaria de Saúde do Município de Araçatuba-SP, a fim de detectar a percepção que elas têm a respeito da saúde bucal, sendo visto que das 60 gestantes entrevistadas, 71,66% disseram saber como se forma a cárie. Foram também pesquisados seus conhecimentos acerca do primeiro molar permanente, dieta, principais horários de escovação, amamentação. Considerando-se que a mãe tem papel chave na família e que na gestação ela encontra-se receptiva para incorporação de novas atitudes e comportamentos, é importante seu envolvimento em programas que venham interferir na quebra da cadeia de transmissibilidade da cárie a partir de medidas preventivo-educativas.

ESTEVES *et al.* (1998) compararam programas preventivos de escovação supervisionada e controle da dieta, isoladamente ou associados, em escolares durante seis

meses. O período experimental envolveu atividades como motivação, escovação supervisionada, controle e orientação da dieta, lista alimentar, sendo aplicado o índice de placa de O'LEARY. A partir dos índices de placa bacteriana inicial e final registrados, verificou-se que os programas preventivos aplicados são capazes de motivar e orientar os estudantes em condutas preventivas que produzam a saúde bucal, como o controle da dieta.

Para PREZ (1999), quando não se respeitam regras fundamentais de princípios básicos de prevenção, como educação para saúde e controle da dieta, a boca se deteriora; pois a higiene sendo deficiente, o ácido produzido pelos microrganismos ataca os dentes, que perdem estrutura. Portanto, a aplicação de uma Odontologia conservadora e progressista eleva a saúde bucal.

Apesar das objeções que costumam ser levantadas quanto à aplicabilidade em humanos dos resultados de estudos feitos em animais, estes têm sido muito utilizados em trabalhos experimentais sobre a cárie dentária. Os pequenos roedores são particularmente escolhidos para as pesquisas, não apenas por questões econômicas, mas porque podem, em poucas semanas, exibir lesões experimentais de cárie (BEZERRA; TOLEDO, 1999).

Para conhecer os fatores de riscos para a alta severidade da cárie em crianças de 12 anos de idade, PERES; BASTOS; LATORRE (2000) compararam algumas condições sociais e comportamentais entre dois grupos com severidades distintas da doença: um com muito alto (CPO-D = 0) e outro com muito baixo nível da doença (CPO-D = ou > 5). Para a análise, partiu-se dos resultados obtidos no levantamento epidemiológico em saúde bucal, realizado em Florianópolis (SC), no ano de 1995. Os resultados obtidos após a análise

mostraram que os fatores de risco para a alta severidade da cárie foram a frequência de consumo de doces e a renda familiar. Logo, a maioria das crianças com alta severidade de cárie pertenciam às famílias com baixa renda familiar. Foi visto que o alto grau de escolaridade do pai da criança pesquisada mostrou-se associado com a baixa severidade da doença; e as crianças do grupo de alta severidade de cárie consumiam com mais frequência produtos cariogênicos.

## **2.2 – Ação da dieta**

A dieta exerce uma ação osmótica sobre a superfície do esmalte, modificando a concentração de solutos da saliva e da placa dentária e, dessa forma, aumentando ou diminuindo as trocas iônicas entre o esmalte e o líquido que o envolve e, em função da qualidade e intensidade dessas trocas, poderá ocorrer uma maior perda de íons de esmalte para a saliva, resultando em uma elevação de sua permeabilidade.

WEISS; TRITHAR (1960) relataram novas evidências sobre a relação entre o hábito de comer nos intervalos das refeições e a incidência de cárie. Em um grupo de crianças em idade pré-escolar, constataram que a maior parte das merendas eram ricas em açúcar e/ou altamente adesivas. As crianças que não comiam entre as refeições apresentaram um índice de cárie menor. Os tipos mais comuns de lanches entre as refeições foram, em ordem decrescente de popularidade: chicletes, balas, refrigerantes, biscoitos e sorvetes.

De acordo com a teoria acidogênica, os carboidratos ao serem ingeridos sofrem ruptura causada pelo ataque de microrganismos, em especial os *Streptococcus mutans*, daí resultando a produção de ácidos que, com o tempo, podem causar desmineralização do

esmalte dentário. Um menor consumo de açúcares resulta na diminuição do número de microrganismos acidogênicos, com o conseqüente decréscimo na atividade de cárie (VIEGAS, 1961).

HEFTI; SCHMIP (1979) demonstraram, em ratos, que a concentração da sacarose na dieta influencia fortemente a incidência de cárie em superfícies lisas. Essa mesma influência foi demonstrada quando *hamsters* desenvolveram, significativamente, mais lesões de cárie dentária em superfícies lisas, proporcionalmente ao conteúdo de sacarose na dieta.

Em achados realizados por LANDRE; BOZZO (1983), utilizando dieta cariogênica ou não, em ratos submetidos à imunização com vacina serotipo C, isolada de cepa cariogênica de *Streptococcus mutans* (vacina *antistreptococcus mutans*) foi encontrada baixa prevalência de cárie em ratos imunizados, quando comparados aos animais mantidos com a dieta estudada.

Para LOESCHÉ (1985), os fatores fundamentais que conduzem ao início e progressão das lesões cariosas foram elucidadas por Miller, em 1890, quando reconheceu que a metabolização dos carboidratos por bactérias orais, com geração de produtos finais ácidos, é responsável pelo processo de desmineralização do esmalte dentário.

BELLAGAMBA (1986) ressaltou a importância do consumo crescente dos hidratos de carbono fermentáveis como o fator etiológico da cárie dentária. Os alimentos naturais contêm, em sua maior parte, nutrientes macromoleculares, como o amido que geralmente, não são solubilizados nem degradados rapidamente na cavidade bucal.

A **dieta cariogênica 2000 a**, composta por açúcar (56%), leite em pó desnatado (28%), trigo integral moído (8%), levedura (5%), sustagem® (2%) e cloreto de sódio (1%), foi estudada por WENDEL *et al.* (1986), os quais desenvolveram uma pesquisa acrescentando oxalato de cálcio e carbonato de cálcio à referida dieta e ofereceram a 30 ratos (*Ratus norvegicus albinus*), com 21 dias de idade, distribuídos em 3 grupos, os quais receberam a referida dieta durante 63 dias de experimento. O grupo I recebeu a ração cariogênica (controle), o grupo II recebeu a ração cariogênica e oxalato de cálcio a 1% e o grupo III, a ração cariogênica e carbonato de cálcio a 1%. A análise estatística dos dados permitiu concluir que o oxalato de cálcio a 1%, quando adicionado à ração cariogênica, exerceu um efeito anticariogênico no que se refere ao esmalte, e o carbonato de cálcio provocou um aumento estatisticamente significativo na prevalência de cárie a nível de dentina.

De acordo com KRASSE (1988), o estudo sueco de *Vipeholm* em 1954 mostrou, que, no desenvolvimento da cárie, era mais importante a frequência do que a quantidade total de ingestão de açúcares. Demonstrou, ainda, a importância da concentração e da aderência dos produtos do açúcar, verificando que estes últimos fatores influenciam o tempo de eliminação, isto é, o tempo tomado para a eliminação do açúcar na boca após a alimentação.

Estudo em ratos, realizado por OLIVEIRA (1989), observou o grau de cariogenicidade de diversos açúcar encontrados no mercado e consumidos pela população. A sacarose, na forma de açúcar refinado, mascavo e cristal, a glicose e a frutose. A análise dos dados

obtidos permitiu concluir que a glicose e a frutose produziram um índice de cárie em esmalte menor que o açúcar refinado e o mascavo, sendo a diferença estatisticamente significativa. O grupo do açúcar mascavo e o do açúcar cristal tiveram menos cárie em esmalte que o grupo do açúcar refinado.

PIMENTA (1992) utilizou 6 grupos de ratos (*Ratus norvegicus* var. *albinus*), com 21 dias de idade, ofereceu a **dieta cariogênica 2000 a**, sendo que em 5 grupos acrescentou, respectivamente: citrato de cálcio (1%), citrato de magnésio (0,9%), citrato de potássio (0,65%), citrato de amônio bibásico (0,45%), ácido cítrico (0,38%), durante 43 dias. Os resultados indicaram que o íon citrato apresentou efeito anticariogênico. O ácido cítrico demonstrou um maior efeito na redução da cárie quando comparado aos sais de citrato com diferenças estatisticamente significantes. Os sais de citratos quando comparados entre si, não demonstraram diferenças estatisticamente significantes.

Conforme STORINO (1993), desde a Antigüidade, a dieta tem influência na etiologia da cárie e uma das dificuldades de se encontrar provas conclusivas é devido a voluntários humanos não se submeterem a dietas estritamente controladas por longos períodos. Devido a esse fato, a significância da dieta na cárie humana não é facilmente estabelecida. O autor complementa que, na tentativa de identificar quais alimentos podem ser particularmente cariogênicos, muitos estudos têm dependido de informações obtidas a partir da história do paciente.

Por 60 anos, as dietas para roedores da American Institute of Nutrition (AIN-76 e AIN-76A) foram usadas extensivamente pelo mundo. Devido aos numerosos problemas

nutricionais e técnicos encontrados com as dietas durante esse período, elas foram revisadas. Duas novas formulações foram derivadas: AIN-93G, para crescimento, gestação e lactação e AIN-93M, para manutenção de adultos. Devido ao melhor balanceamento dos nutrientes essenciais, a dieta AIN-93 pode ser a melhor escolha quando comparada a AIN-76A em estudos com ratos de laboratório de longa ou curta duração (REEVES; NIELSEN; FAHEY, 1993).

A respeito dos substratos dietéticos da placa bacteriana, ALFANO (1993) afirmou ser o papel dos carboidratos, na formação da cárie dentária, fonte de energia para uma variedade de micróbios bucais. O autor salienta a importância da sacarose nas cáries de superfícies lisas e relaciona o seu papel como substrato na síntese e armazenamento de polissacarídeos extracelulares (glucanas e levanas), que são responsáveis pela adesividade requerida para a iniciação e manutenção da placa nas superfícies lisas do dente. É apropriado sugerir que a substituição da sacarose pelos açúcares naturais ou de frutas reduz a incidência da cárie dental.

Em decorrência dos fatores expostos em relação ao efeito da dieta sob o aparecimento da cárie, LOSCHE (1993) afirmou que todos os substitutos da sacarose são considerados menos cariogênicos do que a sacarose em modelos animais. O xilitol não é cariogênico e, com toda probabilidade, é anticariogênico quando substitui a sacarose nos alimentos ou em gomas de mascar. O autor realizou experimentos com animais consumindo dieta com: a) 65% de sacarose; b) 65% de amido; c) 6% de xilitol e 59% de amido. O grupo do xilitol apresentou, consideravelmente, menos cárie e a magnitude da redução foi proporcional ao tempo em que o xilitol foi ingerido. Os animais submetidos à dieta de amido não exibiram grau de redução da cárie. Esse estudo oferece forte evidência

de que os substitutos da sacarose podem incrementar a remineralização das lesões cariosas incipientes, portanto, devem ser incentivados.

Para OPPERMANN (1994), o consumo freqüente de açúcar determina maior quantidade de placa bacteriana, maior concentração de ácido e aumento da flora acidogênica e acidúrica tornando a placa cariogênica. O autor observou que, aparentemente, os diversos ciclos de desmineralização/remineralização, provocados pela ingestão freqüente de sacarose, resultam em um desequilíbrio duradouro do processo em favor da desmineralização. E a forma pegajosa do açúcar, aderindo-se aos dentes, provoca um maior tempo de retenção intra-oral da sacarose em comparação à forma líquida da mesma quantidade de sacarose ingerida e, portanto, uma fonte mais duradoura de carboidratos para a placa, prolongando o período de baixos níveis de pH.

Através de vários estudos com animais e pacientes, bem como observações *in vitro*, THYLSTRUP; FEJERSKOV (1995) conseguiram, claramente, mostrar a relação causal entre o consumo de carboidratos fermentáveis e o desenvolvimento de lesões cariosas. Os carboidratos da dieta são estimuladores de lesões de cárie que exercem o seu efeito cariogênico local na superfície do dente. É importante saber que todos os açúcares comuns da dieta alimentar, como sacarose, glicose, frutose e lactose, são utilizados no metabolismo de energia de muitas bactérias da placa, a partir de transformações e de degradações enzimáticas. Assim, o equilíbrio desses eventos é determinado por um complexo de fatores, tais como: o conteúdo dos alimentos; fatores indutores ou protetores contra a cárie dentária; o padrão de ingestão de alimentos; o tipo de placa; a quantidade e a composição da saliva; a susceptibilidade da superfície do dente e a concentração de flúor no ambiente da placa.

Para McDONALD; AVERY (1995), embora a cariogenicidade de um alimento possa estar relacionada com o teor de sacarose, sua consistência, a hora de consumo e as

condições em que é ingerido no aconselhamento dietético, deve merecer consideração especial quando o consumo de sacarose é feito entre as refeições. Em relação à consistência, o açúcar ingerido em forma líquida deve iniciar a cárie com menos frequência do que o açúcar consumido em forma sólida ou em associação com substâncias adesivas.

As gorduras e proteínas mostram efeito anticárie, porém o alto teor de gordura contido no leite, bem como sua associação com o chocolate, independente da quantidade de açúcar presente, oferece um potencial cariogênico de baixo a moderado. Por outro lado, esse produto possui tanino, derivado do cacau, que é cariostático (BARON, 1996).

De acordo com WALTER; FERRELE; ISSÁO (1996), a cariogenicidade de um produto está associado ao seu tempo de remoção total da boca. Esse tempo depende de diversos fatores tais como: sua consistência física e adesividade; as características da anatomia dental e do arco; os movimentos musculares, principalmente a função lingual na autolimpeza e os fatores salivares como o fluxo, viscosidade e difusão. O aumento da retenção de alimentos e a dificuldade de autolimpeza nas superfícies oclusais de molares são fatores que participam na determinação de uma elevação na prevalência de cárie a partir da erupção dos primeiros molares decíduos. Consideram ainda dois aspectos na determinação do potencial cariogênico de um alimento na primeira infância: o método de ingestão, ou seja, o modo ou maneira com que o alimento é ingerido e o momento de uso, principalmente em lactentes e crianças menores quando recebem amamentação noturna.

Segundo ARAÚJO *et al.* (1996) o uso relativamente recente de adoçantes dietéticos de baixo teor calórico contribuem para a prevenção da cárie, uma vez que seu uso cotidiano resulta numa significativa redução da ingestão de sacarose, comprometendo, portanto, o caráter multifatorial dessa doença endêmica, devido à supressão, ainda que parcial, desse nutriente cariogênico.

Conhecendo-se o papel da sacarose no desenvolvimento da cárie dentária, principalmente em relação à frequência de ingestão e ao tempo de sua eliminação da cavidade bucal, NAÇÃO; CHUAN; RODRIGUES (1996) analisaram os hábitos alimentares de 81 crianças com idade entre 3 a 12 anos, atendidas na Clínica de Odontopediatria da FOU SP, através de diários alimentares com registro da dieta preenchida pelo responsável, cujo objetivo foi de avaliar a sua correlação com o índice de cárie. Verificaram que a frequência de ingestão de lanches contendo sacarose era bastante alta, indicando a necessidade de orientação aos pais pelo profissional.

VAN PALENSTEIN HELDERMAN *et al.* (1996) realizaram uma pesquisa em crianças da África, Europa e América do Norte, com o intuito de determinar qual seria mais cariogênica, a prevalência de espécies de *Streptococcus mutans* ou a dieta, e concluíram que a experiência de cárie em crianças nos três continentes não pode ser explicada pela prevalência de espécies de *Streptococcus mutans*, mas em seu lugar mostraram ser atribuída a diferenças na cariogenicidade da dieta.

Em estudo realizado por HUUMONEN; TJADERHANE; LARMAS (1997) verificou-se que o aumento na concentração de sacarose na dieta reduz a formação de dentina e aumenta a extensão da cárie nesse tecido, como também o número e severidade das lesões de cárie. A concentração crítica mostrou-se ser entre 30 e 40g/100g de sacarose na dieta. No início do experimento, foi injetado tetraciclina para marcar a dentina formada durante o experimento. Após 6 semanas, os molares inferiores foram cortados sagitalmente e quantificadas, separadamente, as áreas e espessura de formação de dentina nos 1º. e 2º. molares. A dieta com 43% de sacarose resultou numa significativa redução na formação de dentina, bem como numa extensa área de cárie.

De acordo com RUGG-GUNN (1997), o amido é metabolizado vagorosamente pelos microrganismos acidogênicos e pode ser considerado como inativo quanto à cárie dental, embora possa se tornar bastante cariogênico quando associado à dieta contendo mono e dissacarídeos. Alguns alimentos, contendo proteína vegetal ( feijão) e gorduras (amendoim), têm sido considerados como fatores de proteção em relação à cárie dental.

Segundo TJADERHANE; LARMAS (1998), dietas com alto teor de sacarose altera o metabolismo mineral em humanos e animais. Foram examinados os efeitos do alto teor de sacarose na dieta no crescimento, composição e resistência mecânica dos ossos em ratos. Ratos da linhagem Wistar, de ambos os sexos, após o desmame, receberam uma dieta com alto teor de sacarose (43g/100g). Na dieta controle, a sacarose foi substituída por amido proveniente de batatas, o qual contém um valor igual de energia. Após 5 semanas, tibia e fêmur foram pesados, e o máximo de resistência a fraturas foi determinado e foi, significativamente, aumentada nos grupos que consumiram a dieta com 43% de sacarose. Nas fêmeas, o peso de ambos os ossos e a espessura da tibia foram significativamente menor em relação aos animais que ingeriram a dieta rica em sacarose. Os autores determinaram a concentração de cálcio e de fósforo em ambos ossos, a qual foi consideravelmente menor nos animais que consumiram a dieta com sacarose. Portanto, conclui-se que a interferência metabólica induzida pela sacarose foi a razão para as diferenças.

ALMEIDA (1998) preconizou que a pipoca, o queijo, o amendoim e as castanhas são considerados alimentos protetores dos dentes. Esses podem ser ingeridos entre as refeições e parecem ser uma ótima opção para o lanche escolar das crianças. O autor ainda sugeriu a diminuição do número de refeições diárias e que a mastigação fosse estimulada

através do consumo de alimentos mais fibrosos e consistentes como vegetais e grãos nas principais refeições e frutas secas entre elas.

Com o objetivo de avaliar a influência da dieta básica regional, da **dieta cariogênica 2000 a** e uma dieta controle (labina), na prevalência de cárie em molares de 60 ratos (*Rattus norvegicus albinus* Wistar), com idades de 30 e 60 dias, PINHEIRO *et al.* (1999) realizaram pesquisa e, com base no estudo das lesões de cárie dos molares, através do exame realizado em microscópio estereoscópico com aumento de 12,5 vezes, observaram que a Dieta Básica Regional (DBR) produziu 75,8% de cárie nos animais de 30 dias e 95% nos animais de 60 dias, a dieta cariogênica produziu 99,2% e 100% de cárie nos animais de 30 e 60 dias, respectivamente. A DBR mostrou ser tão cariogênica quanto à **dieta 2000 a**, não apresentando diferença significativa, na prevalência de cárie, nos animais de 60 dias.

O leite bovino possui alguns componentes como a caseína, lipídios e enzimas antibacterianas que apresentam potencial cariostático, embora contenha também 4% de lactose, açúcar sugestivamente cariogênico, sendo relatado como responsável pelo aparecimento de um tipo de cárie similar à cárie de mamadeira, apesar de alguns estudos defenderem sua não-cariogenicidade. Desvendar a controvérsia entre a cariogenicidade e as propriedades cariostáticas dos diferentes tipos de leite, ou simplesmente instruir-se sobre o assunto, poderia ter grande valor na prevenção de cáries durante a infância e na vida adulta (DUARTE; COPPI; ROSALEN, 2000).

BARROS *et al.* (2001) sugerem uma atenção precoce à saúde bucal para o diagnóstico de lesões incipientes e adoção de medidas educativas e preventivas, incentivando mudanças na higiene bucal e dieta, após verificarem, em estudo, as condições de saúde bucal de 340 crianças de 0 a 3 meses de idade, de 20 creches em Salvador, um aumento da prevalência da cárie em relação à idade e ao número de dentes irrompidos.

### **2.3. – Hábitos alimentares e fatores nutricionais**

Os distúrbios metabólicos responsáveis pelas cáries são resultado de deficiências nutritivas, isto é, falta de vitaminas ou de outros elementos essenciais na dieta. A vitamina A está intimamente ligada ao desenvolvimento dos dentes e, sua deficiência durante o período de formação dos dentes provoca alterações degenerativas nos odontoblastos, conduzindo à hipoplasia dentária. A carência de vitamina C é responsável pelo amolecimento dos dentes e aumenta a intensidade da cárie. A deficiência de vitamina D, associada à carência de cálcio e fósforo, produz raquitismo, contudo são mais frequentes as perturbações nos processos de calcificação dos dentes, constituindo, essa deficiência, um dos fatores que contribuem com o aparecimento da cárie dentária (MARCONDES, 1949).

NAVIA (1970), avaliando fatores nutricionais e dietéticos que influenciavam no processo de cárie em animais, constatou que os nutrientes da dieta podem modificar o crescimento e metabolismo microbiano, fluxo e composição salivar e depósitos sobre a superfície dental. Utilizou ainda em estudos experimentais, dieta hiperproteica (25%) e hipoproteica (8%) durante o período de gestação e lactação constatou que: a) ratos desnutridos durante a amamentação tiveram seu crescimento e desenvolvimento retardado e b) aumento da susceptibilidade à cárie.

A susceptibilidade dental à cárie pode ser compreendida como um aumento de sua permeabilidade à penetração de agentes agressores do meio bucal. Vários fatores de ordem local e sistêmica, tais como vitaminas, sais minerais e hormônios, podem alterar essa permeabilidade da estrutura dental e, por consequência, sua resistência à cárie. Durante o desenvolvimento e calcificação do órgão dentário, um desequilíbrio nutricional pode gerar

modificações nas estruturas dentárias, tornando-as mais suscetíveis às cáries. Esses nutrientes também promovem influência no período de maturação do elemento dentário e, de certa forma, durante toda sua existência (DREIZEN, 1975).

Para ALVES (1996), os hábitos e preferências alimentares estão diretamente ligados às influências familiares. Os doces devem ser ingeridos com moderação na sobremesa, evitando-os entre as refeições. E os refrigerantes devem ser substituídos por suco de frutas. Especificamente para o lanche escolar, devem-se evitar doces, balas, pirulitos e refrigerantes e preferir pão integral, queijo branco, frutas, ovo cozido, iogurte ou coalhada com mel. Uma dieta balanceada não é necessariamente cara, mas é preciso que o responsável saiba distribuir e aproveitar ao máximo os alimentos disponíveis.

SUSIN *et al.* (1996) afirmaram que nos países desenvolvidos os hábitos nutricionais contêm muitos alimentos ricos em carboidratos, estando seu consumo relacionado ao nível sócioeconômico da população. Verificaram também que a relação entre a dieta e a cárie dental está muito bem fundamentada e tem destaque cada vez maior em estudos de prevenção.

Sem dúvida, os hábitos alimentares afetam diretamente a saúde geral e dental da criança, resultando na perda de estruturas mineralizadas do elemento dentário. Tais hábitos podem ser representados por dieta rica em carboidratos fermentados, que servem de substrato para que os microrganismos cariogênicos produzam ácidos orgânicos, os quais atuarão na superfície dentária, com maior ou menor intensidade, dependendo da susceptibilidade do hospedeiros em questão. Sabe-se também que fatores secundários (saliva, flúor e higiene bucal) têm grande influência na progressão e regressão da cárie dentária, funcionando como moduladores no processo da doença cárie (FIGUEIREDO; FALSTER, 1997).

TOMITA *et al.* (1999) avaliaram as preferências pelo sabor doce e sua associação com as condições sócioeconômicas e a prevalência de cárie dentária em pré-escolares. Os achados sustentam a hipótese de que tais condições influenciam a preferência por açúcar que, por sua vez, está associada à prevalência de cárie dentária na dentição decídua.

Sabendo-se que a sacarose desempenha papel fundamental no surgimento de lesões cariosas, ROCHA *et al* (1998) analisaram pacientes com idades entre 5 a 7 anos da Clínica de Odontopediatria da Faculdade de Odontologia da UFMG, escolhidos aleatoriamente, comparando-se as diárias dietéticas com os índices de cárie e observaram que o maior consumo diário de sacarose promove uma maior prevalência de lesões cariosas.

Segundo DUARTE; COPPI; ROSALEN (2000), o leite humano, assim como o bovino, é composto por proteínas, lipídios, carboidratos (lactose 7%), vitaminas lipó e hidrossolúveis, minerais como cálcio, iodo, flúor e ferro, sendo a única fonte de nutrientes nas primeiras semanas de vida dos bebês, possuindo adequados níveis de vitamina D e flúor. Por outro lado, um prolongado e excessivo período de amamentação pode causar o aparecimento de um padrão de cárie rampante que se manifesta em incisivos superiores e, mais tarde, em molares.

#### **2.4. – Flúor**

A presença do flúor na saliva, placa ou esmalte, inibe a colonização das bactérias, seu crescimento, sua multiplicação e ou sua fermentação. Conseqüentemente o uso racional do flúor deve ser incentivado para que sejam estabelecidos e mantidos níveis desse elemento nos fluidos orais (TEN CATE; FEATHERSTONE 1991).

Em relação à biossegurança e toxicidade aguda do flúor, NEWBRUN (1992) afirmou ser a Dose Provavelmente Tóxica (DPT) de flúor 5mg/Kg de peso bem superior à dose

permitida que é 0,05mg/Kg. Os conceitos modernos sobre o mecanismo de ação do flúor ressaltam o fornecimento diário de flúor para estabelecer e manter uma concentração significativa na saliva e no fluido da placa para o controle da dissolução do esmalte (THYLSTRUP; FEJERSKOV, 1995).

MARTHALER (1996) revisando os efeitos da fluoretação de água da cidade de Basel, na Suíça, rodeada por áreas onde o sal fluoretado é comercializado, concluiu que: ela resultou nos benefícios esperados; o abastecimento da água fluoretada continua a ser necessária; os recentes desenvolvimentos políticos sugerem que a fluoretação continuará a existir junto com o sal fluoretado que é comercializado fora do Brasil. Segundo SCOTT, (1996) o efeito protetor do flúor contra a cárie é de 50 a 60% ao se utilizar esse elemento nas águas de abastecimento público.

O uso do flúor como medida preventiva deve estar associado a um processo educativo e de necessidade individual, com a finalidade de que a criança e o futuro adulto tenham a conscientização de usar o flúor de maneira racional (VILLENA; CURY, 1998).

FERREIRA; MARTIN; SILVA (1999) sugeriram um estudo sobre o teor de flúor ideal para as águas de abastecimento, uma vez que as mudanças térmicas têm modificado a concentração de flúor na água, detectada através de estudo em escolas de microrregiões da cidade de Vitória-ES. O flúor tem uma importante participação na prevenção da cárie dentária, estando disponível principalmente na água de abastecimento. Este íon tem sido associado com a inibição da desmineralização e a aceleração da remineralização durante o processo cariioso. A presença constante de flúor nos fluidos bucais constitui o principal fator na prevenção da cárie (ASSIS *et al.* 1999).

### **3 OBJETIVOS**

#### **3.1 Objetivo Geral**

Verificar a prevalência de cárie em molares de ratos quando utilizada a dieta experimental e a dieta padrão na presença e ausência de flúor.

#### **3.2 Objetivos Específicos**

- Utilizar uma dieta experimental, com e sem utilização de água fluoretada, para verificar a prevalência de cárie em molares de ratos (*Rattus norvegicus albinus Wistar*).
- Utilizar uma dieta padrão, com e sem utilização de água fluoretada, para verificar a prevalência de cárie em molares de ratos (*Rattus norvegicus albinus Wistar*).
- Comparar entre si a prevalência de cárie entre as dietas utilizadas.

## **4 MATERIAIS E MÉTODOS**

### **4.1 Materiais**

#### **4.1.1 Animais**

Utilizaram-se 48 (quarenta e oito) ratos (*Rattus norvegicus albinus Wistar*) de ambos sexos, provenientes do Biotério de Criação José Paulino Ventura Ramos, do Departamento de Nutrição, do Centro de Ciências da Saúde, da Universidade Federal de Pernambuco, os quais foram desmamados, com 23 dias de idade e colocados em gaiolas individuais devidamente identificadas. Os animais foram mantidos sob condições padrões de iluminação com ciclo fotoperiódico claro/escuro de 12/12 horas, em temperatura de 21 a 23° C e umidade de 65%.

#### **4.1.2 Dietas**

A dieta experimental e a dieta padrão foram elaboradas de acordo com as normas do Comitê para Dietas em Roedores (AIN-93) e balanceadas de modo a satisfazer o requerimento do animal, segundo REEVES, NIELSEN, FAHEY (1993) - (Tabela 1 e 2)

**TABELA 1** – Composição centesimal da dieta experimental.

Constituintes	Quantidade (g)	Proteínas %	Glicídios %	Lipídeos %	Sais Minerais %	Vitaminas %	Fibras %
Feijão Mulatinho	45,00	10,30	26,68	0,67	-----	-----	2,50
Farinha de Mandioca	38,91	0,51	32,04	0,17	-----	-----	0,81
Frango	5,88	3,43	-----	1,02	-----	-----	-----
Óleo Vegetal	5,18	-----	-----	5,18	-----	-----	-----
Vitaminas	1,00	-----	-----	-----	-----	1,00	-----
Sais Minerais	3,50	-----	-----	-----	3,50	-----	-----
Bitartarato de Colina	0,35	-----	-----	-----	-----	-----	-----
L. Cistina	0,09	-----	-----	-----	-----	-----	-----
L. Metionina	0,09	-----	-----	-----	-----	-----	-----
Total	100,00	14,24	58,72	7,04	3,50	1,00	3,31
NdpCal	10% (quantidade de calorías da proteína, calculada pelo método PAT)						

**TABELA 2** – Composição centesimal da dieta padrão

Constituintes	Quantidade (g)	Proteínas %	Glicídios %	Lipídeos %	Sais Minerais %	Vitaminas %	Fibras %
Caseína comercial	17,35	14,00	--	--	--	--	--
Óleo vegetal	6,88	--	--	6,88	--	--	--
Vitaminas	1,00	--	--	--	--	1,00	--
Sais Minerais	3,50	--	--	--	3,50	--	--
Celulose	5,00	--	--	--	--	--	5,00
Bitartarato de colina	0,25	--	--	--	--	--	--
L. cistina	0,30	--	--	--	--	--	--
Amido	65,72	0,66	55,14	0,12	--	--	--
Total	100,00	14,66	55,14	7,00	3,50	1,00	5,00

NdpCal% 12% (quantidade de calorias da proteína, calculada pelo método PAT)

## 4.2 Métodos

### 4.2.1 Distribuição dos grupos

Os animais foram divididos ao acaso em quatro grupos, os quais receberam, durante 60 (sessenta) dias, as diferentes dietas e água com flúor 1ppm, preconizada pela OMS (uma parte por milhão, que correspondeu a 20mg do pó em 20 L de água) e sem flúor *ad libitum* (sem intervalos determinados):

- Grupo A – 12 (doze) ratos
  - Dieta experimental + água destilada.
- Grupo B – 12 (doze) ratos
  - Dieta experimental + água fluoretada (1 ppm).
- Grupo C – 12 (doze) ratos
  - Dieta padrão + água destilada
- Grupo D – 12 (doze) ratos
  - Dieta padrão + água fluoretada (1 ppm).

### 4.2.2 Preparação das dietas

A dieta experimental foi constituída de alimentos mais utilizados no consumo da população e que possuem maior frequência e uso, bem como menor oscilação de oferta de mercado ou custo e preparada utilizando-se peito de frango com prévia remoção da gordura aparente e feijão mulatinho (*Phaseolus vulgaris*). Após o cozimento pelo método tradicional, os alimentos foram dessecados em estufa a 60° + ou - 10° C com circulação de ar e pulverizados em moinho, separadamente. Os produtos resultantes, bem como a farinha de mandioca (*Manihot esculenta*) e os demais constituintes, após pesagem, em balança

marca Ohaus, com capacidade de 2.610 g, foram passados na peneira de 60 Mesh, obtendo-se as farinhas e armazenados.

Os constituintes da dieta padrão contendo caseína (ROSTER®), proteína do leite, também foram pesados, usando-se a citada balança, misturados e peneirados para então serem armazenados. Em ambas foi calculada a quantidade de calorias da proteína, através do método PAT ( Padrão Alimentar do Trabalhador).

#### 4.2.3 Consumo alimentar e hídrico

Os ratos foram mantidos em gaiolas individuais identificadas no biotério de pesquisa do Departamento de Nutrição da UFPE. Confeccionaram-se fichas para anotação do peso e para leitura das peças quanto à prevalência de cárie (anexo). A quantidade de ração oferecida semanalmente foi de 150,0 g/animal, e a quantidade de água, de 200 mL. A pesagem dos animais foi realizada semanalmente durante os 60 dias do experimento.

#### 4.2.4 Procedimento para obtenção das peças

Após 60 dias do período experimental os ratos receberam anestesia com Thionembital (ABBOT-Cristália Produtos Químicos e Farmacêuticos LTDA) na dose de 50 mg/kg de peso, o equivalente a 0,8 ml de solução anestésica por animal e sacrificados por inalação de éter sulfúrico, no Laboratório Integrado de Pesquisa do Mestrado em Odontologia da UFPE.

Os segmentos ósseos mandibulares e maxilares foram retirados, lavados em água corrente e colocados para fixar em frascos rotulados contendo solução de formol a 10% neutralizada com carbonato de cálcio por um período de 24 horas. Após esse período, as peças passaram por uma lavagem em água corrente por 2 horas, secadas com gase e dissecadas. Os molares de cada hemimandíbula e hemimaxila foram seccionados no plano

sagital-mésio-distal, utilizando-se um disco de aço serrilhado, montado em mandril e adaptado a um contra-ângulo, sob refrigeração constante de um jato de água, de forma a evitar o aquecimento das peças seguindo a metodologia de VONO (1977).

Uma vez cortadas, as peças, lavadas, secadas e imersas para coloração no reativo de Schiff durante 24 horas, foram retiradas do reativo e lavadas em água corrente durante uma hora, conforme a técnica descrita por VAN REEN; COTTON (1968). Em seguida, encaminharam-se os animais sacrificados ao Departamento de Cirurgia Experimental para posterior incineração.

#### 4.2.5 Leitura das lesões de cárie

A leitura das lesões de cárie dos sulcos de molares foi feita por microscópio estereoscópico marca Irosa-Kyowa, com aumento de 12,5 vezes e fez-se a análise dos dentes de acordo com o método descrito por KEYES (1958), modificado por PINHEIRO *et al.* (1999) e assim descrito: primeiro, identificaram-se os dentes que apresentaram lesões de cárie e, a partir daí, foram reconhecidos os tecidos dentários acometidos pela doença: esmalte e/ou dentina. Quando verificada a presença de cárie em dentina, determinou-se a sua profundidade de penetração, dividindo o tecido dentinário em duas regiões. Portanto, as profundidades de penetração das lesões foram assim determinadas: E – somente esmalte, DS – dentina superficial e DP – dentina profunda.

Foram realizadas leituras das peças em duplicata, baseado em FREYSLEBEN; PERES; MARCENES (2000), objetivando-se a detecção de possíveis mudanças de diagnóstico ao longo dos exames. Depois realizaram-se reexames de forma que a examinadora não fosse capaz de identificar as peças que seriam reexaminadas.

---

#### 4.2.6 Análise estatística

Na análise estatística dos dados, utilizou-se o teste qui-quadrado, Teste de Fisher-Freeman-Halton, para comparar as proporções de cáries nos dois grupos, considerando a ocorrência de cárie nos elementos e tecidos dentários. (Testes bilaterais, com nível de significância de 5%.)

---

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A cárie dentária é uma doença infecciosa de caráter multifatorial e causadora de um dos maiores problemas de saúde bucal. Além disso, o tratamento odontológico está entre as principais fontes de despesas relacionados à manutenção da saúde (BASTOS; HEINTZE 1996, WILDING; SOLOMON 1996, POMPEU; BRÍGIDO 1999, PINTO 2000). Portanto, a complexidade das interações bactéria-dieta-hospedeiro, no processo que resulta na cárie dentária, levou pesquisadores a procurar modelos animais, nos quais as lesões cariosas pudessem ser estudadas sob condições mais controladas LOESCHE (1993).

No presente trabalho, foi utilizada uma dieta experimental constituída de alimentos de preferência da população e balanceada conforme recomendações para roedores em fase de crescimento e de acordo com normas do Comitê para Dietas em Roedores (AIN-93) segundo REEVES; NIELSEN; FAHEY (1993), (tabela 1). Essas recomendações estão de acordo com THYLSTRUP; FEJERSKOV (1995) e PINTO (2000) quando afirmaram que a energia diária recomendada para um indivíduo origina-se, principalmente, dos carboidratos, gorduras e proteínas, os quais fornecem equilíbrio fisiológico energético e nutritivo ao organismo.

Os animais que receberam a dieta experimental foram divididos em 2 grupos: o primeiro recebeu dieta com água sem flúor; o outro recebeu um tratamento no qual utilizou-se água com flúor. Observa-se que a dieta experimental e água com flúor apresentou 49,3% de dentes sem cárie e 50,7% de dentes com cárie, resultados apresentados na tabela 3, os quais demonstraram haver prevalência de cárie em ambos os grupos. Além disso, o teste estatístico de comparação de proporções entre os grupos, o

Qui-quadrado, não mostrou diferença significativa em relação ao grupo que recebeu água com flúor (  $p= 0,075$  ).

**Tabela 3.** Prevalência de cárie em molares de ratos quando se utilizou a dieta experimental na presença ou ausência de flúor.

Grupos	Prevalência de cárie		Número total de dentes
	Número de dentes sem cárie	Número de dentes com cárie	
A	56 (38,9%)	88 (61,1%)	144
B	71(49,3%)	73 (50,7%)	144
Total	127 (44,1%)	161 (55,9%)	288

A = dieta experimental e água sem flúor; B = dieta experimental e água com flúor

Embora se utilizando uma dieta balanceada em termos nutricionais, ela apresentou prevalência de cárie de 61, 1%, demonstrando que, apesar do hidrato de carbono ser indispensável ao organismo, sua presença na dieta, a frequência de ingestão e grau de adesividade dos alimentos podem ser responsáveis pelo desenvolvimento da cárie, confirmando os trabalhos de WEISS; TRITHAR (1960), HEFTI; SCHIMP (1979), BELLAGAMBA (1986), OPPERMANN (1994), McDONALD; AVERY (1995), WALTER; FERRELE; ISSÁO (1996).

Avaliando-se os dois grupos da dieta experimental, observa-se existir o processo cariioso em tecidos mais profundos, a dentina. Ao ser analisado o grupo B, observa-se o efeito do flúor, visto que o percentual de dentes com cárie é menor, 50,7%, quando comparado ao grupo A, 61,1%, (tabela 3) concordando com SCOTT (1996) quando afirmou que o efeito protetor do flúor, contra a cárie ficou entre 50 a 60 % ao ser utilizado água fluoretada. Analisaram-se os resultados através do testes de probabilidade exata de Fisher-Freeman-Halton e demonstraram uma prevalência de cárie em ambos (tabela 4),

não havendo diferença significativa entre eles mesmos quando se utilizou o tratamento com flúor ( $p=0,075$ ).

**Tabela 4.** Prevalência de cárie nos tecidos dentinários, esmalte, dentina superficial e profunda, em molares de ratos quando se utilizou a dieta experimental na presença ou ausência de flúor.

Grupos	Número de dentes sem cárie	Prevalência de Cárie			Número total de dentes
		Cárie só em esmalte	Cárie em dentina superficial	Cárie em dentina profunda	
A	56 (38,9%)	66 (45,8%)	15 (10,4%)	7 (4,9%)	144
B	71 (49,3%)	48 (33,3%)	14 (9,7%)	11 (7,6%)	144
Total	127(44,1%)	114 (39,5%)	29 (10,1%)	18 (6,25%)	288

A = dieta experimental e água sem flúor; B = dieta experimental e água com flúor.

O controle da dieta, como ponto fundamental para obtenção de uma redução na prevalência da cárie dentária, foi sugerido por ROCHA *et al.* (1998) e NAÇÃO; CHUAN; RODRIGUES (1996) os quais afirmaram ser indiscutível a presença da sacarose como fator importante no surgimento das lesões cariosas. Por outro lado alimentos como pipoca, queijo, amendoim, castanhas e gorduras são considerados protetores dos dentes, (BARON 1996, ALMEIDA (1998). Estudos realizados por CARBONEL *et al.* (1995) demonstraram que o queijo ingerido no final das refeições ajuda a reduzir a cariogenicidade dos alimentos por estimular o fluxo salivar, aumentando a ação diluente através da saliva diminuindo, conseqüentemente, o número de bactérias cariogênicas na cavidade bucal. Por sua vez, LOESCH (1993), ARAÚJO *et al.* (1996) estimulam o uso dos substitutos do

açúcar como o xilitol, sorbitol, manitol, por considerá-los não cariogênicos e sim, um meio prático na redução da cárie dentária .

A dieta padrão contendo caseína, utilizada para comparação com a dieta experimental, foi também elaborada de acordo com as normas do Comitê para Dietas em Roedores AIN-93 segundo REEVES; NIELSEN; FAHEY (1993), cujos constituintes estão na tabela 2. Os resultados da prevalência de cárie nos molares dos ratos quando utilizada a dieta padrão na presença ou ausência de flúor estão apresentados na tabela 5. Observam-se percentuais elevados de número de dentes sem cárie entre o grupo que utilizou a dieta sem água fluoretada (51,4%) e o grupo que utilizou água com flúor (78,5%), resultados estes que demonstraram o efeito protetor do flúor assim como o efeito da dieta contendo caseína. Além disso, está de acordo com as observações de NESSER *et al.* (1994), os quais realizaram trabalho *in vitro*, mostrando a caseína fortemente absorvida ao esmalte. Esses resultados demonstraram ainda que a referida proteína tem efeito inibitório sobre os *Streptococos* orais segundo VACCA-SMITH; BOWEN (1995).

Após tratamento estatístico, através do Teste do Qui-quadrado, os resultados mostraram uma diferença significativa em relação à prevalência de cárie quando utilizado água fluoretada na dieta caseína ( $P < 0,001$ ) comparada a dieta caseína sem flúor, como demonstra a tabela 5.

**Tabela 5.** Prevalência de cárie em molares de ratos quando se utilizou a dieta padrão (caseína) na presença ou ausência de flúor.

Grupos	Prevalência de Cárie		
	Número de dentes sem cárie	Número de dentes com cárie	Número total de dentes
C	74 (51,4%)	70 (48,6%)	144
D	113 (78,5%)	31 (21,5%)	144

---

Total	187 (65%)	101 (35%)	288
-------	-----------	-----------	-----

---

C = dieta padrão e água sem flúor; D = dieta padrão e água com flúor

O leite bovino contém caseína, proteína considerada com efeito protetor e apresenta potencial cariostático, embora contenha 4% de lactose, açúcar sugestivamente cariogênico (BARON 1996, RUGG-GUNN 1997, ALMEIDA 1998, DUARTE; COPPI; ROSALEN 2000). Por sua vez, HEROD (1991) afirmou que o conteúdo de cálcio e fósforo, presentes no leite, colaboram com a remineralização do esmalte. Segundo BOWEN *et al.* (1997), o leite bovino tem, aproximadamente, 3,5% de gordura a qual atua formando uma membrana na superfície do dente, envolvendo os carboidratos da dieta e facilitando sua remoção da cavidade bucal.

A penetração da cárie em dentina também foi observada ao se utilizar a dieta padrão na presença ou ausência do flúor (tabela 6). Foi visto que a prevalência de cárie nos tecidos dentinários foi bastante inferior quando se utilizou a dieta caseína e água fluoretada. No esmalte, o percentual foi de 19,9%, diminuiu na dentina superficial para 2,1% , chegando a zero na dentina profunda, característica que não foi observada nos grupos que consumiram a dieta experimental (tabela 4). Segundo DUARTE; COPPI; ROSALEN (2000) o potencial antibacteriano das enzimas do leite bovino deve ser enfatizado, bem como o efeito anticariogênico de algumas fosfoproteínas, além da Vitamina D, do cálcio e do fósforo no desenvolvimento da estrutura dental. Os resultados foram analisados através do Teste de Fisher-Freeman-Halton e demonstraram haver proteção significativa do flúor ( $p = 0,002$ ).

**Tabela 6.** Prevalência de cárie em esmalte, dentina superficial e profunda, em molares de ratos ao utilizar a dieta padrão na presença ou ausência de flúor.

Grupos	Número de dentes com cárie	Prevalência de Cárie			Número total de dentes
		Cárie só em esmalte	Cárie em dentina superficial	Cárie em dentina profunda	
C	74 (51,4)	64 (44,4%)	6 (4,2%)	-	144
D	113 (78,5%)	28 (19,9%)	3 (2,1%)	-	144
Total	187(65%)	92(31,9%)	9 (3,1%)		288

C = dieta padrão e água sem flúor; D = dieta padrão e água com flúor.

Fatores biológicos aparecem associados à cárie dentária, são representados pelo consumo de produtos cariogênicos, principalmente entre as refeições (PERES; BASTOS; LATORRE, 2000). O estudo atual teve o cuidado de utilizar dietas normoproteicas, as quais são balanceadas em termos nutricionais. Comparando-se as duas dietas utilizadas, observa-se uma prevalência de cárie maior na dieta experimental (55,9%) contra (44,1%) da dieta padrão, indicando mais uma vez o valor da caseína, proteína encontrada no leite bovino, o qual contém substâncias antibacterianas como a lactoferrina, lisozima e peroxidase, que afetam a microflora bucal agindo com poder bacteriostático segundo pesquisas realizadas por ARNOLD *et al.* (1980). Os resultados demonstraram ser a dieta padrão contendo caseína menos cariogênica do que a dieta experimental (tabela 7), pois, ao comparar os grupos através do Teste Qui-quadrado, houve diferença significativa ( $p < 0,001$ ).

**Tabela 7.** Prevalência de cárie em molares de ratos ao se utilizarem as dietas experimental e padrão na presença ou ausência de flúor.

Grupos	Prevalência de Cárie		
	Número de dentes sem cárie	Número de dentes com cárie	Número total de dentes

A e B	127(44,1%)	161 (55,9%)	288
C e D	187 (64,9%)	101 (35,1%)	
Total	314 (54,5%)	262 (45,5%)	576

A = dieta experimental e água sem flúor ; B = dieta experimental e água com flúor; C = dieta padrão e água sem flúor; D = dieta padrão e água com flúor

Ainda comparando-se as dietas, quanto à penetração da cárie na dentina (tabela 8), foi utilizado o Teste Fisher-Freeman-Halton e observou-se uma menor prevalência do processo cariioso no grupo que utilizou a dieta padrão sem flúor do que o grupo que utilizou a dieta experimental sem flúor. Entretanto, essa característica de menor prevalência parece ser mais evidente em dentina profunda ( $p = 0,002$ ), concordando com SUSIN *et al.* (1996), HUUMONEN; TJADERHANE; LARMAS (1997), TOMITA *et al.* (1999), os quais observaram que o aumento da concentração de sacarose na dieta reduz a formação de dentina e aumenta a extensão da cárie nesse tecido dentinário, demonstrando assim o seu maior poder cariogênico.

**Tabela 8.** Prevalência de cárie em molares de ratos quando se utilizaram as dietas experimental e padrão na ausência de flúor.

Grupos	Prevalência de Cárie				Total de dentes
	Sem cárie	Cárie só em esmalte	Cárie em dentina superficial	Cárie em dentina profunda	
A	56 (38,9%)	66 (45,8%)	15 (10,4%)	7 (4,9%)	144
C	74 (51,4)	64 (44,4%)	6 (4,2%)	0%	144
Total	130 (45,1%)	130(45,1%)	21 (7,4%)	7 (2,4%)	288

A = dieta experimental e água sem flúor ; C = dieta padrão e água sem flúor

Foi possível observar o efeito do tratamento com flúor nos escores de cárie em dentina superficial (2,1%) e profunda (zero) quando se utilizou a dieta padrão com água fluoretada em comparação com a dieta experimental e água fluoretada em dentina superficial (9,7%) e profunda ( 7,6%), (Tabela 9)

Houve evidência de que o tratamento utilizando água com flúor, na dieta padrão, foi mais eficaz do que na dieta experimental e, em relação à profundidade da cárie, foi também mais eficaz (  $p < 0,001$ ). Esses resultados foram analisados através do Teste Fisher-Freeman-Halton e são corroborados por MARTHALER (1996) ao afirmar ser importante o abastecimento de água fluoretada por trazer benefícios esperados. Assim como VILLENA; CURRY (1998) que indicaram o uso do flúor como medida preventiva associada a um processo educativo e de necessidade individual, bem como está associado à inibição da desmineralização durante o processo cariioso (ASSIS *et al.* 1999).

**Tabela 9.** Prevalência de cárie em molares de ratos quando se utilizaram as dietas experimental e padrão na presença de flúor.

Grupos	Prevalência de Cárie				
	Sem cárie	Cárie só em esmalte	Cárie em dentina superficial	Cárie em dentina profunda	Total de dentes
B	71 (49,3%)	48 (33,3%)	14 (9,7%)	11 (7,6%)	144
D	113 (78,5%)	28 (19,9%)	3 (2,1%)	0%	144
Total	184 (63,9%)	76 (26,4%)	17 (5,9%)	11(3,8%)	288

B = dieta experimental e água com flúor ; D = dieta padrão e água com flúor

Pode-se afirmar que os resultados mostraram a característica multifatorial do processo cárie, tendo em vista que todos os grupos de animais que consumiram as dietas experimental e padrão apresentaram cárie, enfermidade bacteriana resultante do desequilíbrio das forças de defesa do hospedeiro frente à agressão do agente causal, sendo de fundamental importância uma alimentação balanceada e adequada como afirmou BIANCHI em 1998, bem como a adoção de medidas educativas preventivas que visem não apenas ao controle da dieta, mas também sirvam motivação para os hábitos de higiene e utilização de flúor.

## 6 CONCLUSÕES

Os resultados obtidos no presente trabalho permitem inferir as seguintes conclusões:

1. A dieta experimental pode induzir cárie quando associada a fatores coadjuvantes como a ausência de suplementos com flúor.
2. A dieta padrão contendo caseína tem efeito inibidor da cárie dentária e, quando utilizada com adição de flúor, possui propriedades cariostáticas bem definidas.
3. Mesmo se utilizando dieta balanceada, ou seja, com recomendações nutricionais adequadas, é necessário encontrar medidas preventivas eficazes que venham anular o efeito cariogênico dos carboidratos.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ALFANO, M. C. Nutrição na Cárie Dentária. **In:** MENAKER, L. **Cáries Dentárias: Bases Biológicas**. Rio de Janeiro : Ed. Guanabara Koogan, 1993. cap. 16, p. 302-320.
2. ALMEIDA, E. R. Hábitos Alimentares. **In:** GUEDES PINTO, A. C. **Odontopediatria Clínica**. São Paulo : Ed. Artes Médicas, 1998. cap. 6, p. 75-86.
3. ALVES, J. A. R. Alimentação do Pré-Escolar e do Escolar. **Pediatria Moderna**, São Paulo, v. 32, n. 5, p. 496-500, ago. 1996.
4. ARAÚJO, M. T. B.; ARAÚJO R. P. C.; AZEVEDO JUNIOR, P. A.; CAMPOS, E. J.; GARCIA, M. A. S; ARAÚJO, C. P. Determinação in vitro do grau de desmineralização do fosfato tricálcico em decorrência da ação acidogênica dos microorganismos presentes na saliva humana em consequência da adição do esteviosídeo e do aspartame. **Revista Associação Brasileira Odontologia**, Porto Alegre, v. 3, n. 6, p. 377-381, dez. 1995/jan. 1996.
5. ARNOLD, R. R.; BREWEN, M.; GAUTHIER, J. J. Bactericidal activity of human lactoferrin: sensitivity of a variety of microorganism. **Infectology and Immunology**, v. 28, p. 893-898, 1980.
6. ASSIS, G. F. de; BUZALAF, M. A. R.; FARIA, F. A. de; GRANJEIRO, J. M.; TORRES, S. A.; LARA, V. S.; OLIVEIRA, D. J. Mecanismos biológicos e influência de fatores ambientais na fluorose dentária e a participação do flúor na prevenção da cárie: revisão de literatura. **Revista Faculdade Odontologia de Bauru**. Bauru, v.7, n. 34, p. 63-70, jul./dez. 1999.
7. BARON, R. B. Nutrition. **In:** TERNEY Jr., L. M. *et al.* **Current: Medical Diagnosis & Treatment**. 35 ed. Ed. Appleton & Lange, 1996. cap. 28, p. 1081-1110.

8. BARROS, S. G. de; ALVES, A. C.; PUGLIESE, L. S.; REIS, S. R. A. Contribuição ao estudo da cárie dentária em crianças de 0030 meses. **Pesquisa Odontológica Brasileira**, v. 15, n. 3, p. 215-222. jul/set. 2001.
9. BASTOS, M. R. J.; HEINTZE, S. Prevenção Primária. **Jornal da ABOPREV**, Porto Alegre, ano VII, mar./abr., 1996, p. 3.
10. BELLAGAMBA, R. L. V. H. P. de. Programa Personalizado para Controle da Dieta. **Revista Goiana Odontologia**, Goiânia, v. 34, n. 4, p. 333-338, jul./ago. 1986.
11. BEZERRA, A. C. B.; TOLEDO, O. A. de. Nutrição, dieta e cárie. **In: LÉO KRIGER. ABOPREV: Promoção de Saúde Bucal**. 2. ed., São Paulo : Artes Médicas, 1999. cap. 3, p. 43-68.
12. BIANCHI, H. Promocion de salud bucal en la embarazada: prediccion de riesgo en el neonato. **Odontologia Uruguia**, [s.l.], v. 45, n. 1, p. 23-32, Jun. 1998.
13. BOWEN, W. H.; PEARSON, S. K.; ROSALEN, P. L.; MIGUEL, J. C.; SHIH, A. Y. Cariogenic potencial of some infant formulas milk and sugar solutions. **Journal American Dental Association**, v. 128, n. 7, p. 865-871, 1997.
14. CARBONEL, V. V.; BRASILE, K. A.; VICENTINI, M. R.; DEL BEL CURY, A. A.; MALTZ, M.; ARAÚJO, F. B.; CURY, J. A. Na in situ of cariogenesis of bovine milk. **Journal Dental Research**, v. 74, n. 3, p. 811, 1995.
15. CHEN, M. S.; RUBINSON, L. Preventive dental behavior in familes: a national survey. **Journal American Dental Association**, Chicago, v. 105, n. 1, p. 43-46, July, 1982.
16. COSTA, I. C. C.; MARCELINO, G.; BERTI GUIMARÃES, M.; SALIBA, M. A. A gestante como agente multiplicador de saúde. **Revista de Pós-Graduação**, [s.l.], v. 5, n. 2, p. 87-92, abr./jun. 1998.

17. DREIZEN, S. Vitamins and dental caries. **In:** Symposium on Dietary Chemicals in Relation to Dental Caries, 1996, Phoenix. **Papers.** Washington : American Chemical Society, 1975. n. 39, p. 209-211.
18. DUARTE, P. M.; COPPI, L. C.; ROSALEN, P. L. Cariogenicidade e propriedades cariostáticas por diferentes tipos de leite – Revisão. **Archivos Latino Americanos de Nutricion.** Caracas, v. 50, n. 2, p. 113-120, 2000.
19. ESTEVES, G. V.; NAVARRO, R. S.; OLIVEIRA JÚNIOR, W. T. de; WOUSSEF, M. N. Estudo clínico do comportamento de escolares mediante escovação supervisionada, controle da dieta e motivação para prevenção da cárie e doença periodontal. **Revista de Pós-Graduação**, [S.L.], v. 5, n. 3, p. 211-218, jul./set. 1998.
20. FERREIRA, H. C. G.; MARTIN, A. M.; SILVA, K. R. de C. S. Avaliação do teor de flúor na água de abastecimento público do município de Vitória-ES. **Revista da Associação Paulista de Cirurgiões Dentistas**, v. 53, n. 6, p. 455-459, nov./dez. 1999.
21. FIGUEIREDO, M. C.; FALSTER, C. A. A. Cárie dentária como uma doença infecciosa e transmissível. **Revista da Faculdade de Odontologia – Universidade de Passo Fundo.** Passo Fundo, v. 2, n. 1, p. 23-32, jan./jun., 1997.
22. FREYSLEBEN, G. R.; PERES, M. A. A.; MARCENES, W. Prevalência de cárie e CPO-D médio em escolares de doze e treze anos de idade nos anos de 1971 e 1997, região sul, Brasil. **Rev. Saúde Pública**, v.34, n. 34, p. 304-308, 2000.
23. GOMES, M. P.; SOUZA, I. P. S.; MODESTO, A.; RUSCHEL, H. C. Fatores envolvidos no desenvolvimento da cárie de amamentação. **Revista Associação Paulista Cirurgiões Dentistas**, São Paulo, v. 50, n. 6, p. 497-501, nov./dez. 1996.
24. HEFTI, A.; SCHMIP, R. Effect on caries incidence in rats of increasing dietary sucrose levels. **Caries Research.**, Basel, v. 13, p. 298-300, 1979.

25. HEROD, E. L. The effect of cheese on dental carie: a review of the literature. **Australian Dental Journal**, v. 36, n.2, p. 120-125, 1991.
26. HUUMONEN, S.; TJADERHANE, L.; LARMAS, M. Greater concentration of dietary sucrose decreases dentin formatin and increases the area of dentinal caries in growing rats. **American Society for Nutritional Sciences**. May. 1997.
27. KEYES, P. H. Dental caries in themolar teeth of rats II. A method for diagnosing and scoring several types of lesions simultaneously. **Journal Dentistry Research**. N. 37, p. 1088-1099, 1958.
28. KOCH, G. *et al.* **Odontopediatria: Uma Abordagem Clínica**. São Paulo : Ed. Santos, 1992. 374p.
29. KÖHLER, B. *et al.* The earlier the colonization by mutans streptococci, the higher the caries prevalence at 4 years of age. **Oral Microbiology and Immunology**, v. 3, p. 14-17, 1988.
30. KRASSE, B. **Risco de cárie**: um guia prático para avaliação e controle. 2. Ed. São Paulo : Quintessence, 1988. 112p.
31. LANDRE, C. C.; BOZZO, L. Prevenção da cárie dental: ensaio em ratos convencionais, usando suspensão de *Streptococcus mutans*. **Revista da Escola de Farmácia Odontologia de Alfenas**, Alfenas, v. 6, p. 63-72, jan./dez. 1983.
32. LOESCHE, W. J. **Cárie dental**: uma infecção tratável. Rio de Janeiro : Cultura Médica, 1993. cap. 8, p. 82-102: modelo animal de cárie dentária.
33. LOESCHE, W. J. The rationale for caries prevention through the use of sugars substitutes. **Internation Dentistry Journal**, v. 35, n. 1, p. 1-8, 1985.
34. MARCONDES, R. S. Dieta, normas e estados de desnutrição. **Revista da Associação Paulista de Cirurgiões Dentistas**, São Paulo, v. 3, n. 2, p. 29-34, nov./dez. 1949.

35. MARTHALER, T. Fluoride supplements for systemic effects in caries prevention. In: Continuing evaluation of the use of fluorides. JOHANSEN, E.; TAVES, D. R.; OLSEN, T. O. **Selected Symposium**, Colorado: Westview Press, 1996, p. 33-59.
36. McDONALD, R. E.; AVERY, D. R. **Odontopediatria**. 6. ed. Rio de Janeiro : Ed. Guanabara Koogan, 1995. cap. 10, p. 151-175.
37. MILLER, W. D. New theories concerning decay of teeth. **Dental Cosmos**, Chicago, v. 47, p. 1293, 1905.
38. MONTEIRO, C. A.; BENÍCIO, M. H.; GOUVEIA, N. C. Aspectos de saúde e nutrição das crianças brasileiras em 1989. **Pediatria Moderna**, v. 29, n. 1, fev. 1993.
39. NAÇÃO, M.; CHUAN, L. P.; RODRIGUES, C. R. M. D. Análise dos hábitos de dieta em crianças por meio da utilização de diários alimentares. **Revista Odontologia Universidade São Paulo**, São Paulo, v. 10, n. 4, p. 275-280, out./dez. 1996.
40. NAVIA, J. M. Evaluation of nutritional na dietary factors that midify animal caries. **Journal Dentistry Research**, Washington, v. 49, p. 1213-1227, Jul. 1970.
41. NESSER, J. R.; GOLLIARD, M.; WOLTZ, A; ROUVET, M.; DILLMANN, M. L.; GUGGENHEIM, B. In vitro modulation of bacterial adhesion to saliva-coated hydroxyapatite beads by milk casein derivatives. **Oral Microbiology and Immunology**, v. 9, n. 4, p. 193-201, 1994.
42. NEWBRUN, E. **Cariologia**. 2. Ed. São Paulo : Ed. Santos, 1988, cap. 2, p. 17-40.
43. OLIVEIRA, M. A. F.; ASSUNÇÃO, I. V.; SÁ, G. I. C. Diagnóstico e tratamento da superfície oclusal: divergências entre examinadores. **Revista da Associação Brasileira de Odontologia**. Porto Alegre, v. 7, n. 5, out./nov., p. 270-284, 1999.
44. OLIVEIRA, S. S. de. **Influência de diversos açúcares na incidência de cárie de molares de ratos (*Rattus norvegicus* var. *albinus*)**. Bauru, s.n. 1989. 93p. Tese.

45. OPPERMANN, R. V. Diagnóstico Clínico e Tratamento das Doenças Cárie e Periodontal **In:** MEZZONO, Elio. **Reabilitação Oral para o Clínico**. 2. ed. São Paulo : Ed. Santos, 1994. cap. 1, p. 07-59.
46. PERES, K. G. A.; BASTOS, J. R. M.; LATORRE, M. R. D. O. Severidade de cárie em crianças e relação com aspectos sociais e comportamentais. **Rev. Saúde Pública**, São Paulo, v. 34, n. 4, p. 402-408, 2000.
47. PIMENTA, M. C. F. **Influência de diferentes citratos na prevenção da cárie dentária em ratos (*Rattus norvegicus* var. *albinus*)**. Bauru, s.n. 1992, 72 p. Tese.
48. PINHEIRO, J. T. COUTO, B. L. VASCONCELOS, M. M. V. B.; MELO, M. D. C.; GUEDES, R. C. A.; CORDEIRO, M. A. C. Análise comparativa entre a DBR e uma dieta cariogênica – Estudo em ratos (*Rattus norvegicus* var. *albinus* Wistar). **Anais Faculdade Odontologia Universidade Federal Pernambuco**, Recife, v. 9, n. 1, p. 32-37, 1999.
49. PINTO, V. G. **Saúde Bucal Coletiva**. 4. ed. São Paulo : Santos, 2000. 537p.
50. PREZ, A. R. Princípios preventivos. **Salud Bucal**, [s.l.], v. 84, p. 18-20, 1999.
51. PRICE, W. A. Eskimo and Indian field studies in Alaska and Canada. **Journal American Dental Association**., Chicago, v. 23, p. 417, 1936.
52. POMPEU, J. G. F.; BRÍGIDO, C. F. C. Levantamento epidemiológico da cárie dental em escolares de 7 a 14 anos de idade da rede oficial de ensino de Teresina-PI, 1992. **Revista da Associação Brasileira de Odontologia Preventiva**. Porto Alegre, v. 2, n. 1, p. 28-37, maio, 1999.
53. REEVES, P. G.; NIELSEN, F. H.; FAHEY, G. C. AIN-93. Purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition Ad Hoc Writing Committee

- on the reformulation of the AIN-76 A rodent diet. **Journal Nutrition**, Urbana, v. 123, n. 10, p. 1939-1951, 1993.
54. ROCHA, C. M. ABREU, C. A. A. D.; ARAÚJO, D. R. de; ISAAC, S. Z.; PORDEUS, I. A.; PAIXÃO, H. H. Relação dieta/cárie na Odontopediatria: uma análise do consumo de sacarose. **Arquivos de Odontologia**, v. 34, n. 1, p. 25-31, jan./jun. 1998.
55. RUGG-GUN, A. Nutrition, dietary guidelines and food policy in oral health. **In:** PINE, C. M. **Community oral helth**. Oxford : Wrigt, 314p. 1997.
56. SCOTT, D. B. The dawn of a new era. **Journal of Dentistry for Children**, Chicago, v. 56, n. 5, p. 235-238, 1996.
57. SHAFER, W. G. *et al.* **Tratado de Patologia Bucal**. 4. ed. Rio de Janeiro : Guanabara Koogan, 1987. cap. 7, seção II, p. 376-433 : cárie dentária.
58. SIENER, K.; RUTHMAN, D.; FARRAR, J. Soft Drink Logos on Boby Bottles; do they influence whot os fed to children? **Journal of Dentistry for Children**, Chicago, v. 64, p. 55-60, 1997.
59. STORINO, S. P. **Cariologia**: Procedimentos preventivos. Rio de Janeiro : Ed. Revinter, 1993. cap. 04, p. 29-44.
60. SUSIN, A. H.; PEREIRA, O. L.; LOFFREDO, L. C. M.; VERTUAN, V. Hábitos da Dieta Alimentar. Avaliação Comparativa em Universitários de Odontologia. **Revista Riograndense de Odontologia**, Porto Alegre, v. 44, n. 1, p. 37-39, jan./fev. 1996.
61. THYLSTRUP, A.; FEJERSKOV, O. **Cariologia Clínica**, 2 ed. São Paulo : Ed. Santos, 1995, cap. 13, p. 283-310.
62. TJADERHANE, L.; LARMAS, M. A high sucrose diet decreases the mechanical strength of bones in growing rats. **American Society for Nutrition Sciences**, Urbana, v. 128, p. 1807-1810, 1998.

63. TOMITA, N. E.; NADANOVSKY, P.; IEIRA, A. L. F.; LOPES, E. S. Preferências por alimentos doces e cárie dentária em pré-escolares. **Revista de Saúde Pública**. São Paulo, v. 33, n. 6, p. 542-546, dez. 1999.
64. VACCA-SMITH AM, BOWEN WH. The effect of milk and kappa casein on streptococcal glucosyltransferase. **Caries Research**, v. 29, n. 6, p. 498-506, 1995.
65. VAN PALENSTEIN HELDERMAN, W. H.; MATEE, M. I. N.; VAN der HOEVEN, J. S.; MIKX, F. H. M. Cariogenicity Depends more on diet than the prevailing mutans Streptococcal species. **Journal Dental Research**. Washington, v. 75, p. 535-545, 1996.
66. VAN REEN, R.; COTTON, W.R. Methods for scoring dental caries in experimental animals. In: HARRIS, R.S. Arts and science of dental caries research. New York. **Academic Press**, 1968. cap. 7. p. 287-294.
67. VIEGAS, A. R. **Odontologia Sanitária. Aspectos preventivos da cárie dentária**. São Paulo, 1961.
68. VILLENA, R. S.; CURY, J. A. Flúor – aplicação sistêmica. In: WALTER, L. R. *et al* **Odontopediatria na primeira infância**. Liv. Ed. Santos. São Paulo, 1998. P. 291-314.
69. VONO, B.G. **Efeito do ítrio e do flúor na prevenção da cárie em ratos**. 1977, Dissertação ( Mestrado em Odontologia). Faculdade de Odontologia de Bauru – USP, São Paulo.
70. WALTER, L. R. F. FERRELE, A.; ISSÁO, M. **Odontologia para o Bebê**. Odontopediatria do Nascimento aos 3 anos. Londrina : Ed. Artes Médicas, 1996. cap. 7, p. 109-122.
71. WALTER, L.R.F.; NAKAMA, R. Prevenção da cárie dentária através da identificação, determinação e controle dos fatores de risco em bebês –

- parte I. **Jornal Brasileiro Odontopediatria e Odontologia para bebês**, v. 1, n. 3, p. 91-100, jul./set. 1998.
72. WEISS, R. L.; TRITHART, A. H. Between-meal eating habits and dental caries experience in preschool children. **American Journal of Public Health**, Washington, v. 50, p. 1097-1104, 1960.
73. WENDEL, M. T. S.; ABDO, R. C. C.; PINHEIRO, C. E.; MENEZES, V. A. Influência do oxalato de cálcio e do carbonato de cálcio na incidência de cárie dentária em ratos. **Estomatol. Cult.**, v. 16, n. 3, p. 34-37, jul./set. 1986.
74. WILDING, R. J. C.; SOLOMON, C. S. Arrested Caries. A review of the repair potential of the pulp-dentine. **Journal of Dental Association South Africa**, v. 51, n. 12, p. 828-833, 1996.
75. WORLD CANCER RESEARCH FUND & AMERICAN INSTITUTE FOR CANCER RESEARCH. **Carbohydrate. In: Food nutrition and the prevention of cancer: a global perspective**. Washington : Banta, 670p., 1997.