

Determinação dos níveis salivares de Lactobacilos e de Estreptococos do grupo mutans (SM)

Profa. Dra. Marcia Mayer

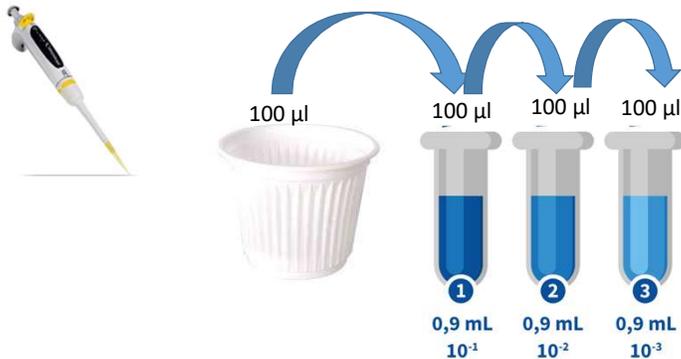
1. Obtenção de saliva estimulada

- Mastigar um chicletes sem sabor por 1 min.
- Cuspir a saliva estimulada em um copo descartável.



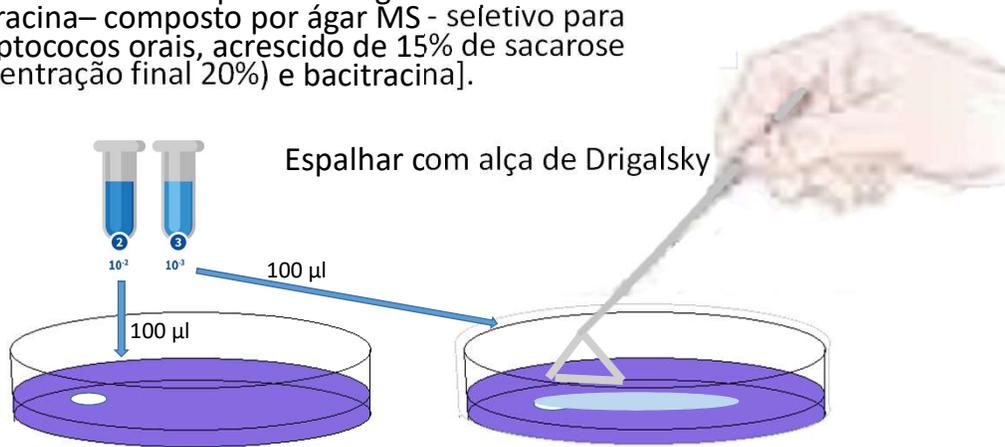
2. Diluição da saliva em solução salina fosfatada (pH 7)

- 100 µl de saliva + 900 µl de PBS (1:10)
- 100 µl da saliva diluída 1:10 + 900 µl de PBS (1:100)
- 100 µl da saliva diluída 1:100 + 900 µl de PBS (1:1000)



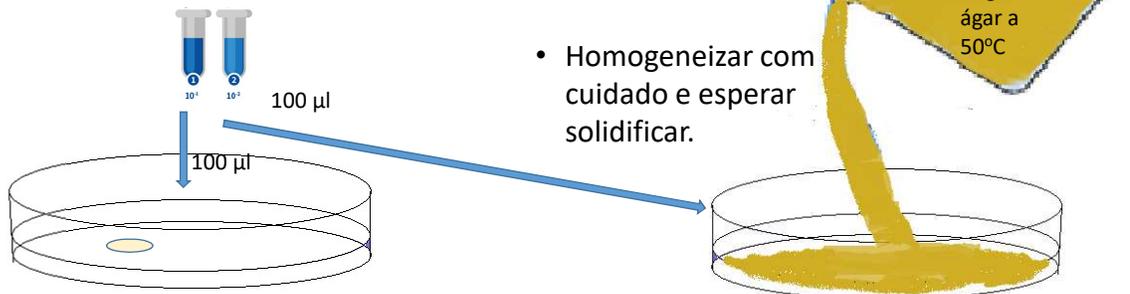
3. Inoculação e Semeadura por espalhamento em meio seletivo para estreptococos do grupo mutans

- Inocular 100 µl da saliva diluída 1:100 e 1:1000 na superfície de ágar MSB em placas de Petri [ágar MSB – seletivo para SM - ágar Mitis Salivarius Bacitracina– composto por ágar MS - seletivo para estreptococos orais, acrescido de 15% de sacarose (concentração final 20%) e bacitracina].



3. Inoculação e Semeadura em profundidade (pour plate) em meio seletivo para Lactobacilos

- Inocular 100 μ l da saliva diluída 1:10 e 1:100 na superfície de na superfície de placas de Petri estéreis vazias.
- Adicionar 20 ml de meio SL Rogosa fundido e resfriado a 50°C. [Rogosa SL agar composto por– peptídeos, carboidratos fermentáveis (Dextrose, arabinose e sacarose), acetato de sódio e de citrato amônia para inibição de fungos e estreptococos, e ácido acético (reduz o pH e consequentemente inibe os microrganismos que não são acidúricos)].



5. Incubação:

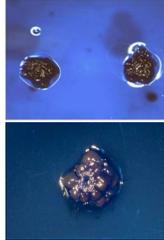
- Placas de ágar SL Rogosa: em estufa a 37°C por 48h.
- Placas de ágar MSB: em atmosfera de microaerofilia (estufa 10% de CO₂) a 37°C por 48 h.



6. Leitura:

- Determinar o número de UFC de SM ou lactobacilos/ml de saliva:
- Contar o número de colônias das placas apresentando entre 30 e 300 colônias, com auxílio de microscópio estereoscópico.

UFC SM ou lactobacilos/ml de saliva: no colônias na placa X fator de diluição X 10



Ex.: 85 colônias de SM na placa da diluição 1:1000
 $85 \times 1000 \times 10 =$
 $8,5 \times 10^5$ UFC SM/ml de saliva estimulada

Ex.: 107 colônias de Lactobacillus na placa da diluição 1:10
 $107 \times 10 \times 10 =$
 $1,07 \times 10^4$ UFC Lactobacillus/ml de saliva estimulada

Resposta : O que significam estes resultados quanto ao risco de cárie ??