



CATÓLICA  
FACULDADE DE MEDICINA DENTÁRIA

---

VISEU

# DIQUE DE BORRACHA NA DIMINUIÇÃO DE MICROORGANISMOS NOS AEROSSÓIS

Dissertação apresentada à Universidade Católica Portuguesa para obtenção  
do grau de Mestre em Medicina Dentária

Por:

André Palma dos Santos Gil Milheiro

Viseu, 2021



CATÓLICA  
FACULDADE DE MEDICINA DENTÁRIA

---

VISEU

# DIQUE DE BORRACHA NA DIMINUIÇÃO DE MICROORGANISMOS NOS AEROSSÓIS

Dissertação apresentada à Universidade Católica Portuguesa para obtenção  
do grau de Mestre em Medicina Dentária

Por:

André Palma dos Santos Gil Milheiro

Orientador: Prof. Doutor Miguel Cardoso  
Coorientadora: Prof<sup>a</sup>. Doutora Rita Noites  
Coorientadora: Prof<sup>a</sup>. Doutora Ana Sofia Duarte

Viseu, 2021



## Dedicatórias

Gostaria de dedicar esta tese aos **meus pais**,

Por toda a coragem, carinho e dedicação que me transmitiram para nunca desistir e lutar sempre até ao fim, sem vocês não teria conseguido!



## **Agradecimentos**

Gostaria de agradecer em primeiro lugar, ao orientador desta dissertação, **Prof. Doutor Miguel Cardoso**, por me ter ajudado nesta etapa final da minha formação académica em Viseu, por toda a paciência, compreensão, disponibilidade e toda a ajuda, o meu obrigado!

Seguidamente à minha coorientadora **Prof.<sup>a</sup> Doutora Ana Sofia Duarte**, por toda a colaboração e apoio!

Ainda à minha segunda coorientadora **Prof.<sup>a</sup> Doutora Rita Noites**, por partilhar o seu conhecimento relativo a endodontia.

**Aos meus pais e ao resto da minha família** por todo o carinho e motivação que sempre demonstraram.

**Aos meus amigos Fernando e Ricardo**, estes últimos 5 anos foram incríveis!

**Aos meus colegas e amigos deste curso**, por todo o convívio e ajuda ao longo destes 5 anos.

**Aos meus amigos da Guarda**, por toda a força que me deram.

**À Cátia**, por toda a compreensão, apoio, força, atenção e carinho que me deste nestes últimos dois anos!!!

Ainda agradecer à colega Bárbara pela sua ajuda no trabalho laboratorial.



## Resumo

**Introdução:** A utilização do dique de borracha permite uma maior segurança durante a sua utilização numa consulta de medicina dentária, não só ao nível de infeção cruzada, assim como conferir ao médico dentista um campo operatório assético, limpo, seco e com boa visibilidade. Aquando do uso de instrumentos rotatórios, estamos inadvertidamente a formar aerossóis. Com este trabalho pretendeu-se avaliar se o dique de borracha interfere na distribuição de aerossóis bacterianos gerados durante a execução de cavidades de dentisteria ao usar instrumentos rotatórios.

**Materiais e métodos:** Foi realizada uma pesquisa bibliográfica na base de dados Pubmed/MEDLINE, com os seguintes termos: “rubber dam”, “dental dam” e “aerossol contamination”. Posteriormente foi realizada uma avaliação da distribuição de aerossóis produzidos durante a execução de tratamentos de cárie sob a forma de contagens em placas de Petri com meios específicos para bactérias e fungos. Numa fase final do trabalho desenvolvido, identificaram-se isolados clínicos através de sequenciação nucleotídica de modo a analisar-se os microrganismos que podem estar presentes nos aerossóis.

### Resultados:

O número de unidades formadoras de colónias foi superior nos grupos sem utilização do dique de borracha em detrimento de se o utilizar. No operador e no assistente não houve diferença estatisticamente significativa, no tabuleiro com diferença significativa. Após a sequenciação nucleotídica das culturas foram encontrados os seguintes microrganismos: *Staphylococcus*, *Pseudomonas*, *Micrococcus* e *Bacillus*.

### Conclusão:

É benéfico utilizar-se o dique, assim como outros meios-barreira (bochechos com solução antimicrobiana, luvas, máscara e viseira) de modo a diminuir o risco de contaminação para a equipa clínica, assim como conferir maior segurança ao paciente no tratamento.

**Palavras-Chave:** Dique de borracha; Dique dentário; Contaminação por aerossóis



## **Abstract**

**Introduction:** The usage of the rubber dam provides a greater safety during its use in a dental appointment, not only in terms of cross-infection, as well as providing the dentist with an aseptic, clean, dry environment and with a good visibility of the operating field. When using rotary instruments, we are inadvertently forming aerosols. The purpose of this study was to evaluate if the rubber dam interferes in the distribution of dental aerosols generated during caries treatment, while using rotary instruments.

### **Materials and methods:**

A research was carried out in the Pubmed/MEDLINE database with the following terms: “rubber dam”, “dental dam” and “aerosol contamination”. After that, an evaluation of the distribution of bacterial aerosols produced during the execution of caries treatments was carried out in the form of counts in petri plaques with specific environments for bacteria and fungi. In the final phase of the study, clinical isolates were identified through nucleotide sequencing, in order to analyze the microorganisms that may be present during a dental treatment.

### **Results:**

The number of colony forming units was superior in the groups not using rubber dam in comparison to its use. In the operator and assistant there was no statistically significant difference, while in the tray there was significant difference. After nucleotide sequencing of the cultures was found the following microorganisms: *Staphylococcus*, *Pseudomonas*, *Micrococcus* e *Bacillus*.

### **Conclusion**

It is beneficial to use the rubber dam, as well as other barrier-methods associated with it (mouthwashes with an antimicrobial solution, gloves, masks, and visor) in order to reduce the risk of contamination for the clinical team, as well as to provide greater safety for the patient during the treatment.

**Keywords:** “Rubber dam”, “Dental dam” and “Aerosol contamination”



# Índice

<b>1. Introdução:</b>	<b>3</b>
<b>1.1. Endodontia:</b>	<b>3</b>
<b>1.2. Microbioma oral</b>	<b>3</b>
<b>1.2.1 Bactérias e interações na cavidade oral</b>	<b>3</b>
<b>1.2.2 Membros não bacterianos da cavidade oral</b>	<b>4</b>
<b>1.2.3 Microbioma oral, cárie dentária e infecções endodônticas</b>	<b>5</b>
<b>1.3. Dique de borracha</b>	<b>6</b>
<b>1.3.1 História:</b>	<b>6</b>
<b>1.3.2 Vantagens/desvantagens e contra-indicações</b>	<b>6</b>
<b>1.3.3 Instrumental usado durante o isolamento absoluto com o dique de borracha:</b>	<b>7</b>
<b>1.3.4 Formas de aplicação do dique de borracha:</b>	<b>8</b>
<b>1.4 Aerossóis formados a partir de instrumentos rotatórios:</b>	<b>9</b>
<b>1.4.1 Composição dos aerossóis:</b>	<b>9</b>
<b>1.4.2 Métodos para se reduzir a contaminação aérea por aerossóis:</b>	<b>10</b>
<b>1.5. Pandemia derivada da COVID-19:</b>	<b>10</b>
<b>1.5.1 Implicações da COVID em medicina dentária:</b>	<b>11</b>
<b>2 Objetivos:</b>	<b>15</b>
<b>3. Materiais e métodos:</b>	<b>19</b>
<b>3.1. Locais de recolha e preparação dos meios de cultura</b>	<b>19</b>
<b>3.2. Amostra da recolha e códigos de identificação de cada paciente</b>	<b>21</b>
<b>3.3. Análise estatística</b>	<b>21</b>
<b>3.4. Processamento das amostras e Isolamento dos microrganismos</b>	<b>21</b>
<b>3.5. Identificação dos isolados clínicos bacterianos por sequenciação do gene 16S rRNA</b>	<b>23</b>
<b>4. Resultados:</b>	<b>27</b>
<b>4.1. Resultados a partir da amostra total sob a forma de contagens:</b>	<b>27</b>

<b>4.2. Resultados das amostras com fungos.....</b>	<b>38</b>
<b>4.3. Amplificação do gene 16S rRNA por PCR .....</b>	<b>39</b>
<b>4.3. Identificação dos isolados clínicos bacterianos por sequenciação do gene 16S rRNA .....</b>	<b>41</b>
<b>5. Discussão .....</b>	<b>45</b>
<b>6. Conclusão.....</b>	<b>51</b>
<b>7. Bibliografia: .....</b>	<b>55</b>
<b>8. Anexos: .....</b>	<b>61</b>

## Índice de Tabelas

<b>Tabela 1</b> - Programa de amplificação do 16S rRNA.....	233
<b>Tabela 2</b> - Amostra representativa por setores da cavidade oral (Incisivos; Pré-Molares e Molares) pelos momentos de cada recolha .....	27
<b>Tabela 3</b> - Identificação dos isolados clínicos bacterianos por sequenciação do gene 16S rRNA .....	41



## Índice de figuras

<b>Figura 1</b> - Locais de recolha representativos da colocação das placas: 1) Operador; 2) Assistente; 3) Tabuleiro .....	<b>Erro! Marcador não definido.</b>
<b>Figura 2</b> - Fluxograma representativo das etapas do trabalho desde a preparação dos meios de cultura em placa até à amplificação por PCR.....	<b>Erro! Marcador não definido.</b>
<b>Figura 3</b> - Termociclador CFX Connect Real-Time System (Bio-Rad).	<b>Erro! Marcador não definido.</b>
<b>Figura 4</b> - Número de UFC às 24 horas, em pacientes sem utilização de dique de borracha, nos diferentes pontos de recolha: Operador (Azul); Assistente (Cor de Laranja); Tabuleiro (Cinzento) .....	27
<b>Figura 5</b> - Número de UFC às 24 horas, em pacientes com utilização de dique de borracha, nos diferentes pontos de recolha: Operador (Azul); Assistente (Cor de Laranja); Tabuleiro (Cinzento) .....	28
<b>Figura 6</b> - Número de UFC contabilizadas às 24 horas (amarelo) e às 48 horas (verde), em pacientes sem utilização de dique de borracha, nos diferentes pontos de recolha: A) Operador; B) Assistente; C) Tabuleiro .....	29
<b>Figura 7</b> - Número de UFC contabilizadas às 24 horas (amarelo) e às 48 horas (verde) em pacientes com a utilização de dique, nos diferentes pontos de recolha: A- Operador; B- Assistente; C- Tabuleiro.....	30
<b>Figura 8</b> - UFC às 24 horas com e sem utilização de dique de borracha .....	311
<b>Figura 9</b> - UFC às 24 horas no Operador com e sem utilização de dique de borracha ..	311
<b>Figura 10</b> - UFC às 24 horas no Assistente com e sem utilização de dique de borracha. ....	322
<b>Figura 11</b> - UFC às 24 horas no Tabuleiro com e sem utilização de dique de borracha.	322
<b>Figura 12</b> - UFC às 24 horas nos diferentes pontos de recolha: Operador (Op), Assistente (As) e Tabuleiro (Tb).....	333
<b>Figura 13</b> - UFC às 48 horas com e sem utilização de dique de borracha. ....	344
<b>Figura 14</b> - UFC às 48 horas no Operador com e sem utilização de dique de borracha.	344
<b>Figura 15</b> - UFC às 48 horas no Assistente com e sem utilização de dique de borracha. ....	355
<b>Figura 16</b> - UFC às 24 horas no Tabuleiro com e sem utilização de dique de borracha.	355
<b>Figura 17</b> - UFC às 48 horas nos diferentes pontos de recolha: Operador (Op), Assistente (As) e Tabuleiro (Tb).....	366
<b>Figura 18</b> - UFC às 48 horas nos diferentes grupos de dentes: Incisivos (Ic), Pré-molares (Pm) e Molares (MI). ....	377

<b>Figura 19</b> - Produtos de PCR em gel de agarose da recolha SD1.....	39
<b>Figura 20</b> - Produtos de PCR em gel de agarose da recolha D1.....	40
<b>Figura 21</b> - Produtos de PCR em gel de agarose da recolha D1.....	40



## **Abreviaturas**

**DB** – Dique de borracha

**AAE** – American Association of Endodontics

**D** – Dique

**SD** – Sem dique

**rRNA**- RNA ribossômico

**DNA** – Ácido Desoxirribonucleico

**PCR** – Polymerase chain reaction

**UFC** – Unidades formadoras de colónias





## **Introdução**



## **1. Introdução:**

### **1.1. Endodontia:**

A endodontia é um ramo da medicina dentária cujo estudo e prática data desde o século XVII, desde descobertas significativas na histologia pulpodentinária a importantes procedimentos endodônticos cirúrgicos e não cirúrgicos na raiz de um dente. Fauchard foi o primeiro clínico que “furou” o dente com uma lima ou broca removendo a polpa com uma agulha áspera e colocação posterior de algodão com óleo, sendo que podia ser removida ou substituída se houvesse dor. No final do século XIX e início do século XX a endodontia foi descrita como sendo o tratamento canalar de uma raiz, sendo que em 1943 foi constituída em Chicago a AAE (American Association of Endodontics) por um grupo de clínicos interessados no tratamento canalar de uma raiz e tendo começado a usar o termo endodontia (provém do grego “en” significando dentro e “odus” significando dente, ou seja, o processo de trabalhar dentro do dente”). Já em 1963, com mais de 200 médicos dentistas a praticarem apenas endodontia, a AAE reconheceu a Endodontia como área de especialidade em medicina dentária. (1)

O objetivo central do tratamento canalar das raízes é tentar salvar um dente de uma exodontia e ao mesmo tempo manter a sua saúde assim como a sua função. Durante este tipo de tratamento é importante diminuir o risco de infecção, assim como assegurar a proteção do paciente. Por isso, foi desenvolvido e utilizado a primeira vez o dique de borracha em 1864 para combater e criar um campo assético para o tratamento ser bem-sucedido. (2)

### **1.2. Microbioma oral**

#### **1.2.1 Bactérias e interações na cavidade oral**

Graças ao trabalho de Robert Koch e aos seus associados é possível realizar-se uma identificação preliminar do microbioma oral de acordo com as suas necessidades nutricionais e de oxigénio que, por sua vez, leva à identificação de aeróbios facultativos/obrigatórios e anaeróbios que desempenham um papel crucial em problemas dentários. (3,4)

A maioria das associações de microbiotas não patogénicas com tecido humano são mútuos ou simbióticos. Estes microbiotas previnem diversas formas

patogénicas de se ligarem aos locais correspondentes para a ação patogénica, porém podem-se tornar parasíticos devido a fatores ambientais, um estado de enfermidade ou baixos níveis de imunidade podem resultar num estabelecimento bem-sucedido do patógeno que leva ao estado infeccioso.

Observou-se uma associação sinérgica em várias espécies nos casos de cárie dentária, o problema dentário mais comum seguido da periodontite, em humanos. (3) (5) Os biofilmes dentários foram estudados e reportados em diferentes associações, tais como a coagregação que ajuda na adesão de espécies à superfície do dente e cooperação metabólica através da interligação de cadeias alimentares de várias espécies. A produção de bacteriocinas por diferentes membros da comunidade de biofilmes são responsáveis pela biodiversidade e adequação ecológica dos microrganismos. As diferentes espécies que habitam a cavidade oral, tais como; *Streptococcus mutans*, *Streptococcus gordonii* e *Streptococcus mitis* produzem bacteriocinas através de “quorum sensing” e assim regulam a formação de biofilmes. Tais interações desempenham um importante papel nas relações destas comunidades entre biofilmes e ajudam a coexistência de diferentes espécies em ambiente oral semelhante. *Streptococcus gordonii* é responsável por minimizar a placa dentária devido à sua capacidade de produzir peróxido de hidrogénio que é letal para o crescimento de bactérias invasoras. Outra espécie associada ao biofilme oral é *Actinomyces naeslundii* que remove peróxido de hidrogénio de forma a ajudar no crescimento de *Streptococcus gordonii* na ausência de arginina. Há várias interações entre diferentes membros de biofilme oral, sendo elas antagonistas ou sinérgicas. (6)

A maioria das comunidades intracelulares encontradas na cavidade oral de pacientes saudáveis acredita-se terem propriedades patogénicas, mas não causam qualquer sintoma devido à evolução da tolerância do hospedeiro. O estudo de tais interações poderá ser muito útil na conceção de estratégias de diagnóstico, prevenção e cura de algumas doenças orais comuns. (3)

### **1.2.2 Membros não bacterianos da cavidade oral**

As formas mais diversas de microrganismos reportadas na cavidade oral são os protozoários, fungos e vírus. Os membros mais comuns da população

protozoária são *Entamoeba gingivalis* e *Trichomonas tenax*. Entre os fungos, a *Candida albicans* é a espécie mais prevalente na cavidade oral e responsável por diferentes infecções orais. Ghannoum *et al.* reportaram 85 diferentes tipos de fungos em culturas independentes em 20 hospedeiros saudáveis, nas quais as espécies mais prevalentes observadas pertenciam aos géneros *Candida*, *Cladosporium*, *Aureobasidium*, *Saccharomycetales*, *Aspergillus*, *Fusarium* e *Cryptococcus*. (7)

Num estudo de Wang *et al.*, os vírus foram encontrados tanto em formas latentes como em formas ativas sendo responsáveis, assim como os fungos e bactérias, por diversas doenças da cavidade oral. Ainda, diferentes bacteriófagos foram identificados a partir de amostras de saliva e de placa dentária. (8) Tem sido reportado que os bacteriófagos são estáveis na cavidade oral e, isto, pode ser correlacionado à sobrevivência dos fagos pela inativação dos mecanismos de defesa das bactérias que leva ao seu estabelecimento na cavidade oral. A infecção viral da cavidade oral mais comum é a infecção das glândulas salivares. Outra infecção comum é o *Herpes simplex*, responsável por diferentes sintomas em idades diferentes. O vírus do papiloma humano (HPV) é associado a diversas doenças da cavidade oral, incluindo condilomas, papilomas e hiperplasia epitelial. (9)

### **1.2.3 Microbioma oral, cárie dentária e infecções endodônticas**

Um consumo exagerado de hidratos de carbono leva à produção de ácido devido à ação da fermentação desses hidratos de carbono por vários microrganismos da cavidade oral que perturba a capacidade tampão da saliva, promovendo a formação da cárie dentária. Aquando da destruição do dente por cárie existe perda de esmalte associada, promovendo a alteração de microrganismos benéficos por microrganismos patogénicos nos biofilmes presentes nas superfícies dos dentes. A presença de biofilmes contendo espécies acidogénicas e acidúricas pode levar à desmineralização dos cristais de hidroxiapatite e conseqüente perda do esmalte. A dieta desempenha um papel fundamental na cárie dentária. Yamada *et al* demonstraram que *Streptococcus mutans* na presença de glicose, em meio aeróbico, produziu ácido. Este tipo de ambiente envolvente favorece o crescimento de bactérias

acidofílicas na cavidade oral. Também, as espécies do género *Propionobacterium*, *Bifidobacterium*, *Scarvidia* assim como *Streptococcus mutans* e *Lactobacilli* foram associados à formação de cárie dentária. (3,10)

Por outro lado, verificou-se que *Enterococcus sp.* são os principais agentes causadores de infeção endodôntica. *Enterococcus sp.* não são capazes de competir com a microbiota da cavidade oral, porém a partir do momento que alcançam o canal radicular, são capazes de colonizar com sucesso e atuar como fonte de variadas infeções. *Enterococcus sp.* provêm de produtos lácteos como o queijo que consegue albergar tais microrganismos, logo o seu consumo deve ser evitado em pacientes que estão a realizar tratamento endodôntico. (3,11)

### **1.3. Dique de borracha**

#### **1.3.1 História:**

O isolamento dentário com um pedaço de borracha foi introduzido em 1864 por Sanford Christie Barnum de modo a isolar o campo operatório do dente que estava a ser tratado dos restantes dentes. (12)

Barnum perfurou uma folha de borracha, colocando-a em torno do dente, ficando seguro com um pedaço de fio dentário de modo a ficar estável e controlar os fluídos orais. Posteriormente, em 1875, foi introduzido por Palmer um conjunto de 32 grampos, cada grampo ajustável para cada dente em específico. Por fim, em 1901 foi adicionada a estrutura em metal que é usada atualmente assim como o perfurador do dique de borracha que se tem mantido inalterado até à atualidade. (13)

O dique de borracha é constituído por um pedaço (folha) de borracha fino que é colocado em redor do dente a ser tratado de forma a impedir o seu contacto com a saliva. A sua utilização em tratamentos restaurativos e endodônticos é considerada necessária de modo a reduzir a contaminação bacteriana do campo operatório e também do ambiente clínico a partir de aerossóis. (14)

#### **1.3.2 Vantagens/desvantagens e contra-indicações**

A colocação deste tipo de isolamento permite assegurar uma maior segurança ao paciente e ao clínico ao nível de infeção cruzada, manter o campo assético, prevenir a ingestão/inalação de material clínico e melhorar a

visibilidade. Em relação a infecção cruzada, permite uma maior proteção para paciente e equipa clínica nos casos específicos de doenças infectocontagiosas que podem ser transmitidas a partir do sangue do paciente, como HIV e hepatite. (15,16)

Ainda que tenha muitas vantagens apresenta algumas dificuldades, nomeadamente o tempo de colocação, a própria técnica de aplicação ser árdua e em alguns pacientes proporcionar desconforto e rejeição. (17)

Casos de doenças obstrutivas do trato respiratório tais como infeções agudas podem ser consideradas contra-indicações para a utilização. A epilepsia e deficiências motoras devem ser consideradas para a possível não utilização do dique de borracha. (13)

### **1.3.3 Instrumental usado durante o isolamento absoluto com o dique de borracha:**

De entre o instrumental usado, destaca-se o próprio dique de borracha, o arco porta-dique, o perfurador de borracha, a pinça porta-grampos, os grampos e materiais auxiliares (fio dentário, entre outros). (13)

O dique pode ser feito a partir de látex com e sem pó ou de materiais sintéticos sem látex para pacientes que sejam alérgicos. Os diques desprovidos de pó são usados em pacientes que apresentem dermatite de contacto. De referir que os diques sintéticos sem látex são menos resilientes e menos elásticos quando comparados com diques à base de látex. (13)

O látex é um material complexo com duas características principais: resiliência, contribui para que haja selamento entre o dique e a zona que se adapta na cervical do dente; resistência, previne que o dique não rompa quando esticado por parte do médico ao ser colocado em redor do dente. (13)

A espessura do dique apresenta-se entre 0,13 e 0,29mm. Uma maior espessura irá melhorar a retração tecidual e a proteção, porém será mais difícil em colocar o dique entre espaços interproximais e por sua vez a adaptação em redor dos dentes será dificultada. (13)

Também é possível escolher a cor do dique de borracha. Em procedimentos restaurativos, nomeadamente na área da dentisteria, é preferível utilizar-se um dique mais escuro para contrastar com os componentes restauradores a serem utilizados. Todavia, na área de endodontia, um dique de

borracha mais claro facilitará a reflexão da luz o que torna o campo operatório mais luminoso. (13)

#### **1.3.4 Formas de aplicação do dique de borracha:**

Existem 4 formas distintas de se colocar o dique e o grampo na cavidade oral, sendo que cada uma tem as suas vantagens e desvantagens, por isso o clínico deve escolher a técnica que melhor se irá apropriar ao seu caso clínico. (13)

- a) Coloca-se primeiro o grampo em redor da zona cervical do dente, coloca-se depois o dique até o dente estar inteiramente coberto. A aplicação desta técnica é confortável para o paciente e não requer a ajuda do assistente. Tem a desvantagem de, aquando da colocação do dique, o grampo poder desprender e ser deglutido. Além disso é mais fácil rasgar a folha do dique.
- b) Colocação simultânea do grampo e o dique na zona cervical do dente. É uma técnica segura, pois já não há o risco de o grampo ser deglutido pois o grampo já está colocado no dique de borracha, não necessita, igualmente, do auxílio do assistente. Tem como inconveniente a visibilidade do dente ser reduzida, porém é a técnica mais utilizada.
- c) Introdução do dique de borracha ajustando em redor da região cervical do dente e posteriormente a colocação do grampo. É um método rápido e seguro salvaguardando-se que se o grampo de desprender, este é amparado pelo dique de borracha, não havendo a possibilidade de ser deglutido. É uma técnica a quatro mãos sendo necessária a ajuda do assistente e também pode haver dificuldade de visibilidade.
- d) Por fim, a técnica de colocação em simultâneo do dique pelo bracket do grampo. É uma técnica que não necessita do auxílio do assistente e é igualmente considerado uma técnica segura uma vez que se o grampo se desprender, continua colocado no dique. A visibilidade é excelente. (13)

#### **1.4 Aerossóis formados a partir de instrumentos rotatórios:**

Um consultório de medicina dentária tem várias rotas de propagação de infecção, tais como o contacto direto com fluídos corporais de um paciente infetado, o contacto de superfícies envolventes, o contacto com instrumentais que foram contaminados pelo paciente durante a consulta e o contacto com partículas infecciosas que permanecem no ar. (16)

A transmissão por ar no consultório dentário pode ocorrer a partir de dois tipos de partículas. Micik *et al* descreveram os aerossóis e os salpicos. Os aerossóis são partículas com menos de 50 micrómetros em diâmetro. As partículas deste tamanho são pequenas o suficiente para ficarem suspensas no ar durante um grande período de tempo até se instalarem nas superfícies envolventes ou entrarem no trato respiratório. Os salpicos são partículas com mais de 50 micrómetros em diâmetro. Micik *et al* referem que estas partículas se comportam de uma forma balística, isto é, estas partículas ou gotículas são ejetadas forçosamente do local do operador e fazem um arco numa trajetória semelhante à de uma bala até contactarem com a superfície envolvente. Como estas partículas são demasiado grandes para ficarem suspensas no ar, são apenas transmissíveis por ar momentaneamente. (16,17)

Há um consenso acerca de que, a maior ameaça de infecção pelo ar, numa consulta de medicina dentária, provém de aerossóis, partículas com menos de 50 micrómetros, devido à sua capacidade de suspensão no ar e potencial de entrada para o trato respiratório. (16,18,19)

##### **1.4.1 Composição dos aerossóis:**

A análise quantitativa e qualitativa da formação dos aerossóis é difícil dado que a composição dos aerossóis varia em cada paciente e em cada local utilizado. Todavia é razoável supor que os componentes das secreções da nasofaringe, placa bacteriana, saliva, sangue e estrutura dentária, assim como todos os materiais passíveis de formar aerossóis como turbina, contra ângulo, seringa ar-água são fontes potenciadoras de produção de aerossóis. (16)

Têm sido realizados estudos para verificar a quantidade de aerossóis formados durante consultas onde se usa instrumental passível de os formar, utilizando meios de cultura não-seletivos para bactérias e para fungos. (20)

Nesses estudos, a formação da colônia ou UFC (unidade formadora de colônias) é contabilizada quando uma bactéria aeróbica assenta na placa e cresce como uma colônia, havendo assim um meio de comparação para um potencial aumento de contaminação clínico aquando da realização de um tratamento. Porém, não permite diferenciar entre bactéria benigna e patogénica. Qualquer bactéria que requer condições de crescimento especiais, tais como as micobactérias ou anaeróbios estritos que são comuns em bolsas periodontais, não vão crescer nos meios de cultura utilizados. (16)

#### **1.4.2 Métodos para se reduzir a contaminação aérea por aerossóis:**

Durante procedimentos de rotina num consultório de medicina dentária, há uma grande possibilidade que os aerossóis incluam vírus, sangue e microrganismos. (16) Para prevenir essa contaminação deve-se usar material de proteção do tipo barreira, tais como máscaras N95, luvas e proteção ocular/viseira, de modo a eliminar a maior parte do perigo inerente às gotículas provenientes do local operatório. Porém, aerossóis (partículas com menos de 50 micrómetros), têm o potencial de entrar pela máscara e contactar com a membrana mucosa em redor dos dispositivos de proteção ocular. Como um aerossol permanece suspenso no ar durante 30 minutos após o final da consulta, significa que durante esse período de tempo continua a haver o risco de contaminação aérea, logo o operador deve manter o seu equipamento de proteção individual durante a consulta e até sair do espaço contaminado. Ainda destacar a utilização do dique para redução da contaminação dos aerossóis que provém do uso de instrumentos rotatórios. (16,21)

#### **1.5. Pandemia derivada da COVID-19:**

Em dezembro de 2019 foram reportados vários surtos de uma doença respiratória severa desconhecida em Wuhan na China. Sendo que a 9 de janeiro de 2020 o centro de prevenção e controlo de doença chinês declarou a identificação de um novo Coronavírus e reconhecido pela Organização Mundial de Saúde (OMS) como SARS-CoV-2. (22)

Pensa-se que a origem da transmissão do Vírus foi num mercado animal em Wuhan, mais propriamente morcegos. Foi declarada pela OMS, a 31 de Janeiro de 2020, o estado de emergência de saúde pública internacional. (23)

Os sintomas mais comuns dos pacientes que se encontram infetados com o vírus são febre, tosse seca, fadiga generalizada, dispneia, perda do paladar e olfato. (22)

O período de incubação do vírus varia de 1 a 14 dias dependendo de caso para caso. Em relação ao tipo de severidade da infeção, esta divide-se em assintomática, leve, moderada, severa e crítica (23)

- a) **Assintomático** – Paciente com um teste positivo ao vírus, porém não apresenta qualquer sintoma
- b) **Leve** – Paciente apresenta febre, mialgia, tosse seca, fadiga, dor de garganta, todavia não apresenta pneumonia
- c) **Moderado** – Paciente apresenta-se com pneumonia, tosse frequente e febre. Alguns relatos de hipoxemia.
- d) **Severo** – Avanço rápido da doença, saturação de oxigénio abaixo dos 92%, com várias manifestações de hipoxia.
- e) **Crítico** – Dificuldades na respiração, choque, disfunção dos órgãos.

As principais fontes de transmissão do vírus passam por aerossóis, gotículas e transmissão por contacto. Por isso, adotaram-se várias medidas para combater a evolução da pandemia, tais como utilização obrigatória de máscaras, distanciamento físico, higienização frequente das mãos, uso de desinfetante e até interrupção de algumas atividades na nossa sociedade. (23)

### **1.5.1 Implicações da COVID em medicina dentária:**

Os procedimentos aplicados em medicina dentária envolvem vários instrumentos associados à produção de aerossóis tais como turbinas, contra-ângulos, ultrassom e seringas ar-água entre outros. Estes aerossóis criados, juntamente com os fluídos corporais presentes na cavidade oral tais como o sangue e saliva, funcionam como um meio de transmissão do vírus sob a forma de gotículas. Dada a elevada capacidade de transmissão deste vírus, é necessário aplicar medidas que impeçam a propagação do vírus durante uma consulta de medicina dentária. (24)

Dado que, durante o período de incubação deste vírus um paciente assintomático tem capacidade de transmissão, é necessário tratar todos os pacientes como possíveis portadores desta doença tomando precauções especiais, entre as quais:

- a) **Receção** – Confirmação do uso de máscara. Ventilação adequada se o estabelecimento não possuir ventilação natural. Distanciamento de 2 metros.
- b) **Higienização das mãos** - Assegurar a higienização das mãos antes da entrada do paciente.
- c) **Equipamento de proteção individual (EPI)** – Barreira efetiva contra microrganismos perigosos gerados na consulta:

**Utilização de proteção ocular (viseira)** – O vírus pode ser transmitido pelo contacto com a membrana ocular dos olhos, logo deve ser utilizada proteção ocular.

**Máscara** – Uso de uma máscara FFP2 ou mesmo FFP3 permanente durante toda a consulta.

- d) **Elixir bucal** – A utilização pré-operatória de um elixir reduz até 68% da formação de colónias de microrganismos.
- e) **Utilização de dique de borracha** – Se a colocação do dique for efetiva, potencialmente elimina os agentes patogénicos provenientes da respiração, assim como a contaminação dos aerossóis provocados durante o uso de instrumentos rotatórios.
- f) **Desinfecção das superfícies** – Na formação de aerossóis, as gotículas que podem conter agentes patogénicos, permanecem sobre as superfícies circundantes no consultório. Deve-se desinfetar todas as superfícies expostas após cada visita dos pacientes. (24)

O uso das medidas mencionadas pode prevenir a transmissão do vírus de pacientes assintomáticos. Estas medidas servem, não só para o controlo da transmissão da COVID-19, assim como um guia para gerir outras doenças respiratórias. (24)

## Objetivos



## **2 Objetivos:**

O objetivo principal deste trabalho consistiu na avaliação da distribuição de aerossóis bacterianos gerados durante a execução de cavidades de dentisteria ao usar instrumentos rotatórios de alta velocidade, acoplados a jatos de ar/água. Para atingir este objetivo, foi feito um estudo com recurso a placas de Petri com meios de cultura diferentes (específicos para bactérias e fungos). De modo a fazer a comparação para este estudo, utilizámos 2 grupos:

- No grupo 1 utilizou-se dique de borracha
- No grupo 2 não se utilizou dique de borracha

No final da recolha de todas as amostras, contabilizou-se as UFC (Unidades formadoras de colónias) e identificou-se os isolados através de sequenciação nucleótídicas de forma a analisar os microrganismos que estão presentes durante um tratamento dentário. Por sua vez provar que o dique de borracha tem capacidade para diminuir a quantidade de microrganismos produzidos nos aerossóis, numa consulta de medicina dentária.



## **Materiais e métodos**



### **3. Materiais e métodos:**

Numa primeira fase, foi realizada uma pesquisa bibliográfica na base de dados Pubmed/MEDLINE, com os seguintes termos: “rubber dam”, “dental dam” e “aerossol contamination”.

Antes da participação voluntária neste estudo, cada paciente preencheu um consentimento informado, sendo que os dados recolhidos serviram apenas para uso exclusivo para o presente estudo. A comissão de ética da Universidade Católica Portuguesa aprovou, com parecer favorável, com o número de projeto 102, no dia 13 de janeiro de 2021, todo o protocolo que envolve esta investigação.

Depois da pesquisa bibliográfica e os consentimentos informados assinados, iniciaram-se as consultas e o início da recolha de dados nos pacientes. Este estudo foi realizado em 20 pacientes da Clínica Universitária da Universidade Católica Portuguesa – Viseu.

Todos os procedimentos foram realizados nas boxes 34 e 35 da clínica da Universidade Católica Portuguesa – Viseu, em dias diferentes por alunos do 5º ano do curso de Medicina Dentária, na área de dentisteria.

#### **3.1. Locais de recolha e preparação dos meios de cultura**

O paciente foi sentado numa posição reclinada, sendo por vezes variável de operador para operador, tendo sido dado a todos os pacientes, antes do início de qualquer procedimento clínico, um copo com uma solução de clorhexidina (Eludril) a 0,1% de modo a reduzir o número de microrganismos que existiam na cavidade oral. Em relação aos dentes intervencionados foram incluídos incisivos centrais, incisivos laterais, primeiros pré-molares, segundos pré-molares e molares. (25)

Atribuiu-se para este estudo 2 grupos diferentes:

- Grupo 1 – Realização de cavidades com instrumento rotatório e isolamento com dique de borracha, representado por (D).
- Grupo 2 – Realização de cavidades com instrumento rotatório sem isolamento com dique de borracha, representado por (SD).

As colheitas foram realizadas em três pontos diferentes, sendo colocadas as placas das recolhas no braço dominante do operador, o braço contrário do assistente em relação à dominância do operador e o tabuleiro (sendo o operador destro, colocou-se no braço esquerdo do assistente; se o operador for esquerdino, colocou-se no braço direito do assistente) e o tabuleiro (Figura 1).



**Figura 1** - Locais de recolha representativos da colocação das placas: 1) Operador; 2) Assistente; 3) Tabuleiro

Durante cada recolha colaram-se duas placas de Petri no assistente, no operador e duas no tabuleiro, usando fita cola de dupla face, de modo a registar a distribuição dos microrganismos ao longo da consulta num período de utilização de instrumentos rotatórios de alta velocidade durante 15 minutos.

Em cada local de recolha foram colocadas duas placas com meios de cultura diferentes, um específico para bactérias, Trypticase Soy Agar (TSA) e fluconazol (50µg/mL) (antifúngico) e o outro para fungos, Sabouraud Dextrose Agar (SDA) e ampicilina (50µg/mL) (antibiótico). Os meios foram preparados de acordo com as instruções do fabricante. (Anexo 1) (26)

### **3.2. Amostra da recolha e códigos de identificação de cada paciente**

A recolha irá contar com o mesmo posicionamento das placas de Petri (braço do operador, braço do assistente e tabuleiro), incluindo 10 pacientes usando o dique e outra recolha de 10 pacientes sem o dique de borracha.

Para cada uma destas placas de Petri será atribuído um código correspondente ao tipo de amostra analisada. Será codificado da seguinte forma: código do paciente / (D - com dique; ou SD – sem dique) / nº do dente / (O – operador; ou A – assistente; ou T – tabuleiro), sendo assim, por exemplo:

- 55000 D 23 O.

### **3.3. Análise estatística**

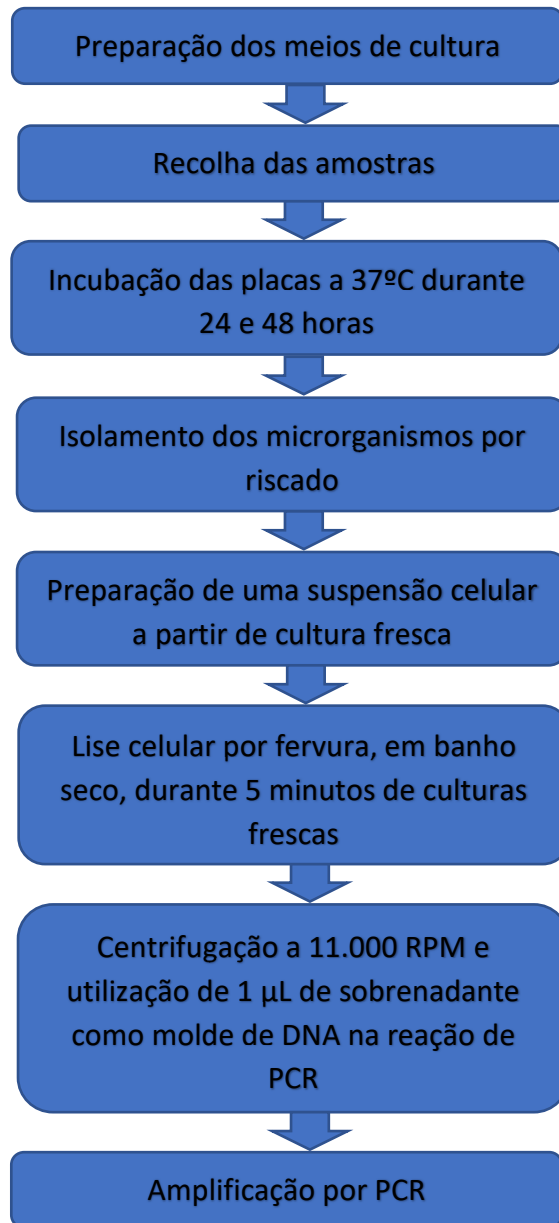
Após a recolha das amostras de todos os pacientes foi realizado o teste de Shapiro-Wilk para análise da distribuição dos dados. Dado que não ocorreu uma distribuição normal dos dados, na comparação de dois grupos foi realizado o teste U de Mann-Whitney. Comparações entre vários grupos foram realizadas com o teste de Kruskal-Wallis e, onde foram identificadas diferenças, as comparações de pares foram realizadas usando o teste U de Mann-Whitney com correção pelo método sequencial de Holm Bonferroni. Foi adotado um nível de significância de 95%. Os resultados foram analisados em SPSS 11.5.

Os valores serão apresentados como mediana e intervalo interquartil (IQR) ou número (percentagem), conforme apropriado.

### **3.4. Processamento das amostras e Isolamento dos microrganismos**

Para avaliar o crescimento de microrganismos, as placas foram incubadas a 37°C durante 24 e 48 horas. Após estes dois períodos foi contabilizado o número de unidades formadoras de colónias (UFC) em cada placa em cada um destes momentos.

Depois da seleção das colónias derivadas das placas das recolhas, estas foram purificadas por sementeira por riscado até à exaustão até se obter colónias puras. (Figura 3)



**Figura 2** - Fluxograma representativo das etapas do trabalho desde a preparação dos meios de cultura em placa até à amplificação por PCR

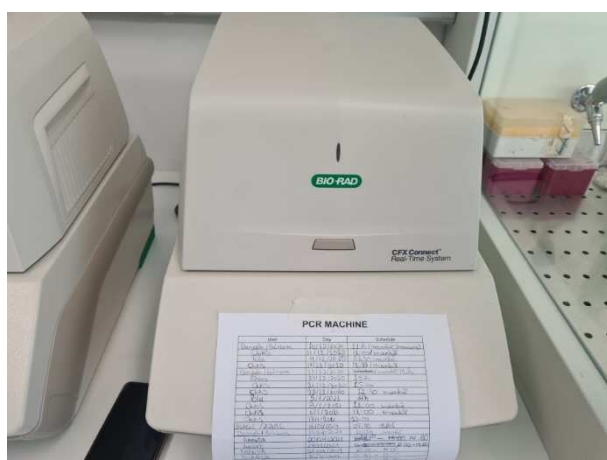
### 3.5. Identificação dos isolados clínicos bacterianos por sequenciação do gene 16S rRNA

Foi feita a testagem e identificação dos isolados clínicos por base na sequência do gene 16S rRNA quase completo, amplificando os *primers* 27F e 1492R. 10 µL de uma suspensão celular, preparada a partir de culturas frescas (lise por fervura, durante 5 minutos, em banho seco), foram centrifugados a 11000 rpm por 1 minuto e 1 µL do sobrenadante foi utilizado como molde de DNA na reação de PCR. (27)

A amplificação por PCR foi realizada num volume final de 25µL contendo 1µL de suspensão celular (anteriormente preparada), 6,25µL NZYTaQ 2× Green Master Mix (NZYTech) e 0,5 µL de cada *primer* específico. Foi ainda incluído um controlo negativo (água de biologia molecular). A amplificação foi realizada num termociclador CFX Connect Real-Time System (Bio-Rad), com o software CFX Manager 3.1.3 (Figura 2), sendo o programa listado na tabela 1. (27)

**Tabela 1** - Programa de amplificação do 16S rRNA

	<b>Temperatura</b>	<b>Minutos</b>
Desnaturação inicial	94°C	5:00
Desnaturação	94°C	01:00
“Annealing”	55°C	01:00
Extensão	72°C	01:30
Extensão Final	72°C	10:00



**Figura 3** - Termociclador CFX Connect Real-Time System (Bio-Rad).

Após a reação, os produtos de PCR foram analisados por eletroforese em gel de agarose a 1% com 2 µL de Green Safe para verificação dos resultados, tendo sido usado como marcador de pesos moleculares o NZYDNA Ladder I (NZYTech) e observado no transiluminador (Bio-Rad, ChemiDoc™ MP Imaging System).

As sequências nucleotídicas dos produtos de PCR foram obtidas por sequenciação de Sanger (GATC Biotech, Alemanha) e usadas para confirmar a identidade do microrganismo usando a ferramenta bioinformática Blastn/NCBI.

## Resultados



## 4. Resultados:

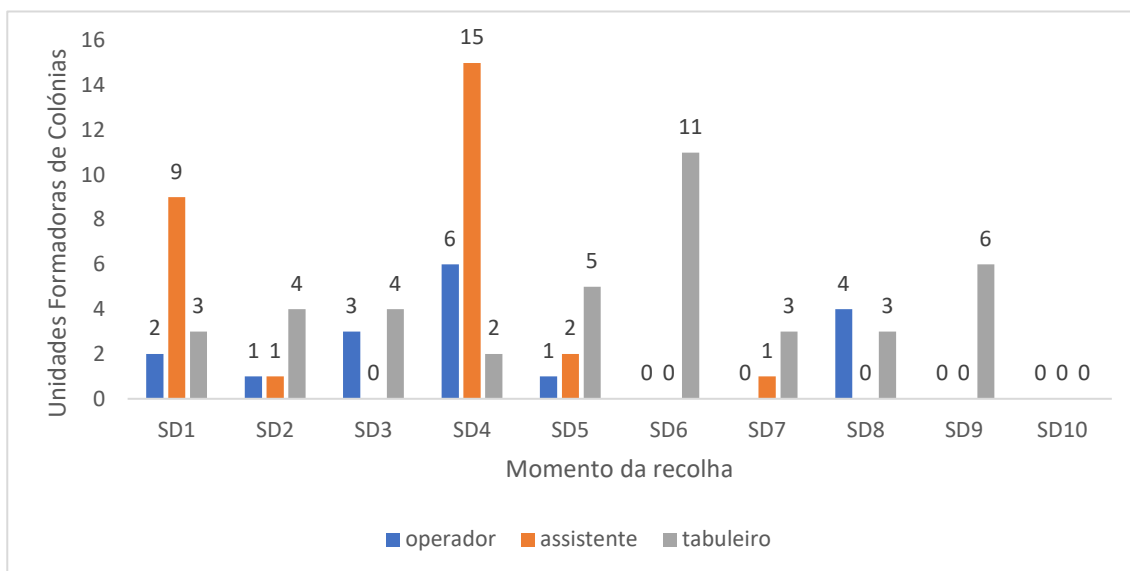
### 4.1. Resultados a partir da amostra total sob a forma de contagens:

Dos dentes tratados, 70% localizava-se na arcada superior e 30% na arcada inferior. Em relação à tipologia dos dentes, 35% eram incisivos centrais, 5% incisivos laterais, 20% primeiros pré-molares, 20% segundos pré-molares, 10% primeiros molares, 10% segundos molares e nenhum canino. Em toda a amostra foram realizadas cavidades de dentisteria.

**Tabela 2** - Amostra representativa por setores da cavidade oral (Incisivos; Pré-Molares e Molares) pelos momentos de cada recolha

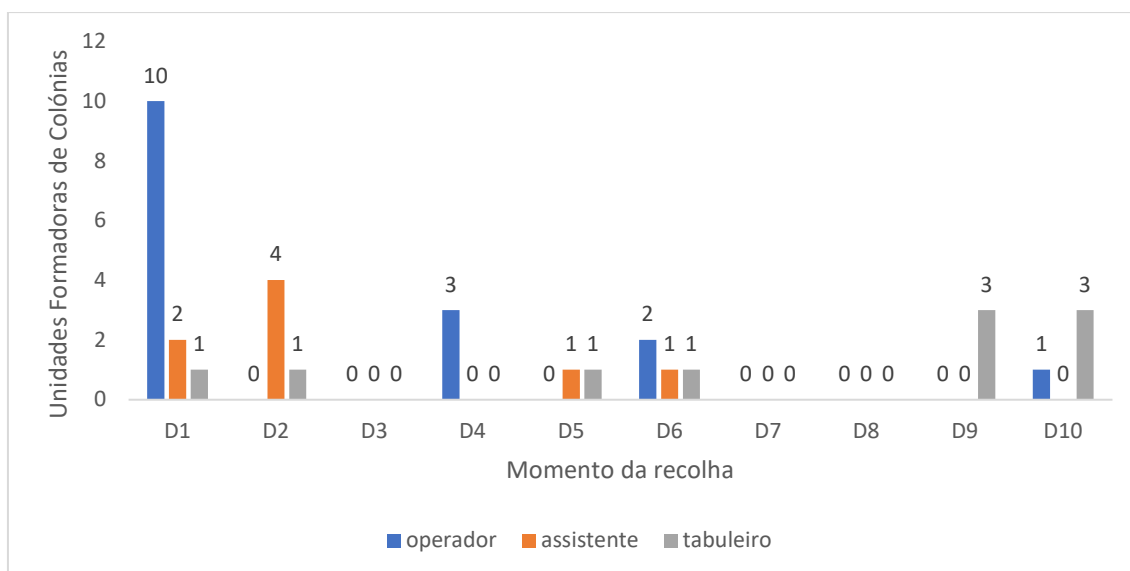
Dentes	Amostra
Incisivos	SD1; SD7; SD8; D3; D6; D7; D9; D10
Pré-Molares	SD2; SD6; SD9; SD10; D2; D4; D5; D8
Molares	SD3; SD4; SD5; D1

As contagens das colónias bacterianas expressa em Unidades Formadoras de Colónias (UFC) foi realizada às 24 horas (figura 4 e 5) e às 48 horas (Figura 6 e 7).



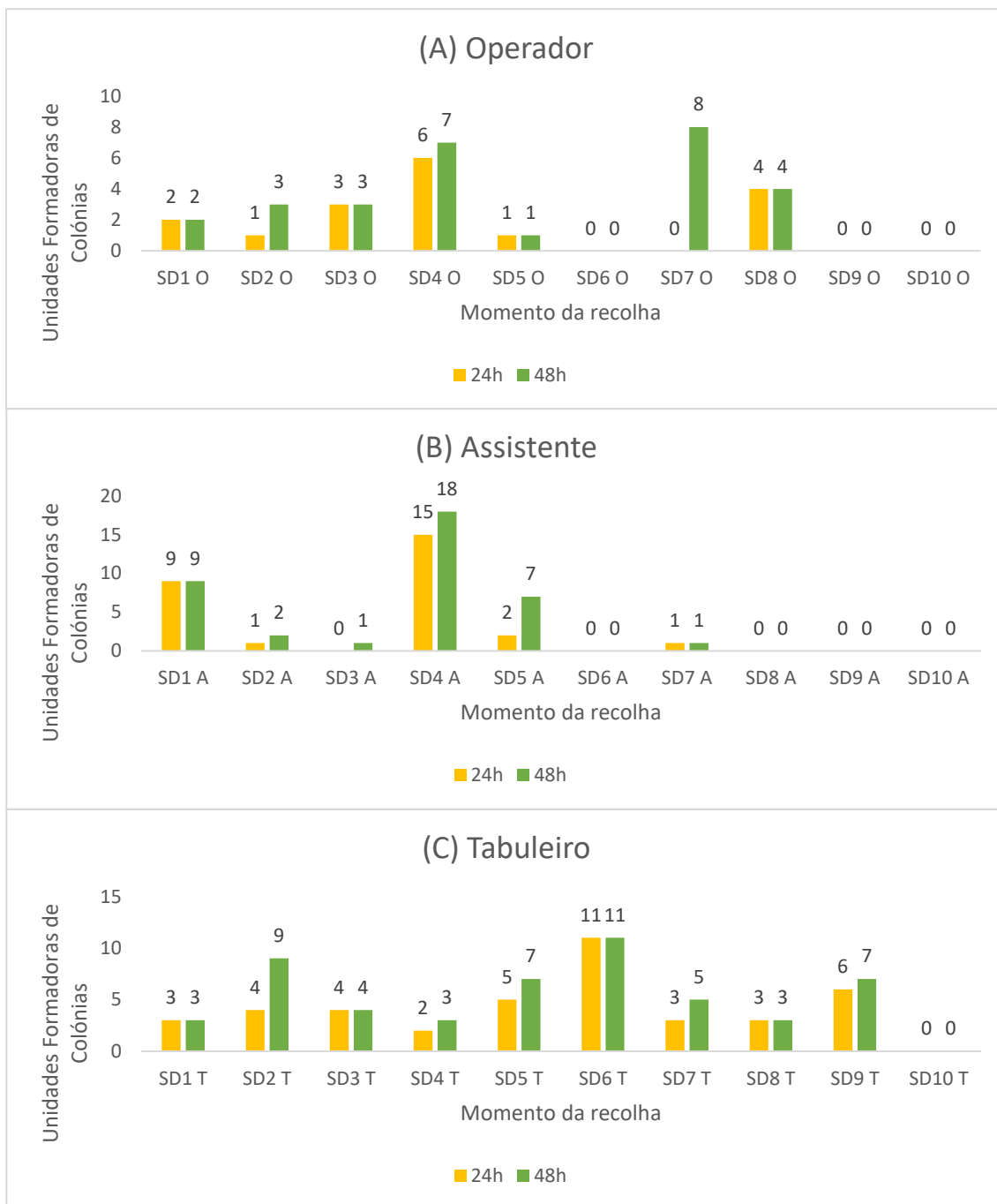
**Figura 2** - Número de UFC às 24 horas, em pacientes sem utilização de dique de borracha, nos diferentes pontos de recolha: Operador (Azul); Assistente (Cor de Laranja); Tabuleiro (Cinzento)

Na figura 4, referente a procedimentos sem utilização de dique de borracha, podemos observar que o valor de UFC às 24 horas no operador vai desde 0 até ao valor máximo de 6, no assistente de 0 até 15 e no tabuleiro de 0 até 11.



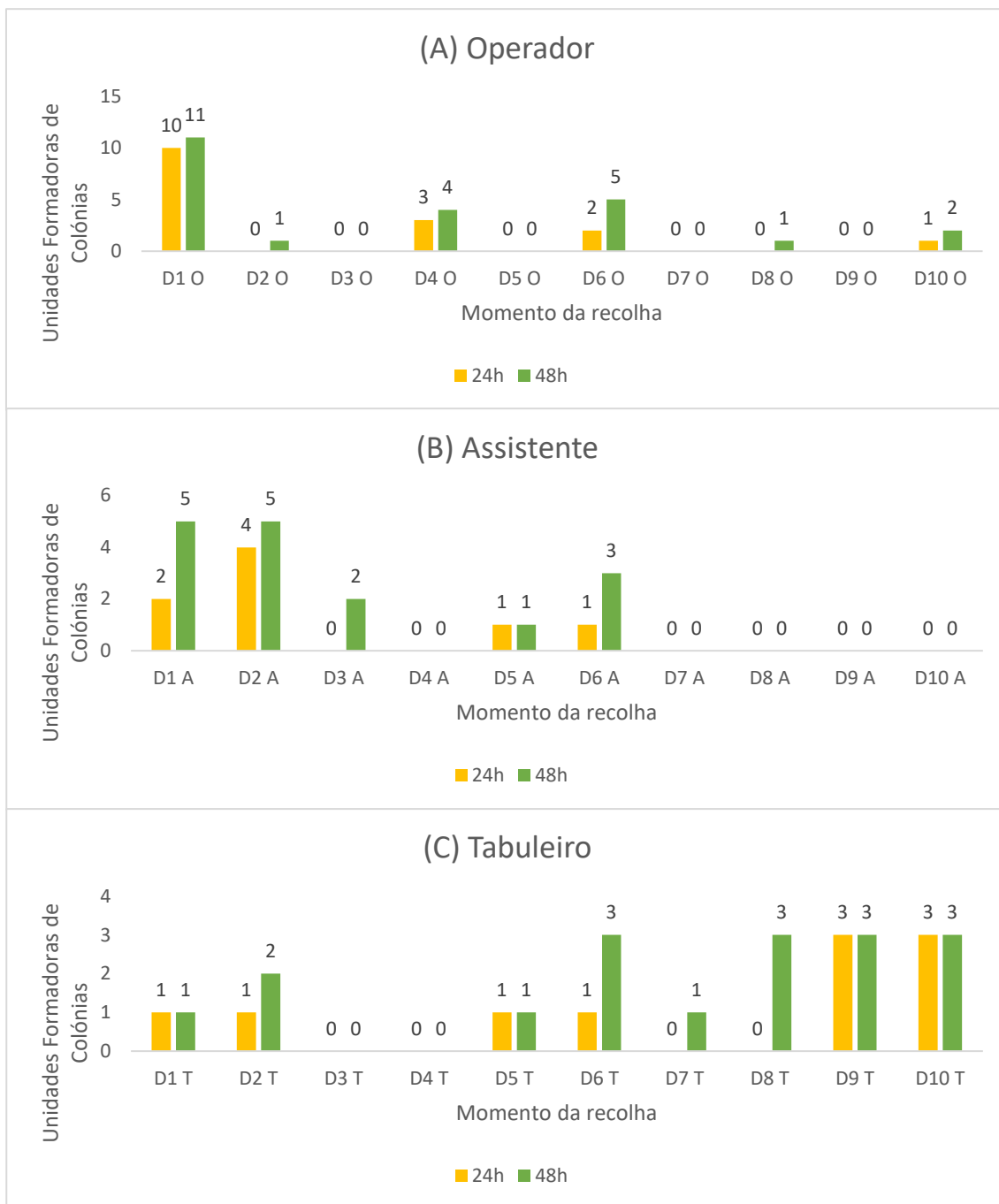
**Figura 3** - Número de UFC às 24 horas, em pacientes com utilização de dique de borracha, nos diferentes pontos de recolha: Operador (Azul); Assistente (Cor de Laranja); Tabuleiro (Cinzento)

Na figura 5 podemos observar que o valor de UFC às 24 horas com dique de borracha no operador vai desde 0 até ao valor máximo de 10, no assistente de 0 até 4 e no tabuleiro de 0 até 3.



**Figura 4** - Número de UFC contabilizadas às 24 horas (amarelo) e às 48 horas (verde), em pacientes sem utilização de dique de borracha, nos diferentes pontos de recolha: A) Operador; B) Assistente; C) Tabuleiro

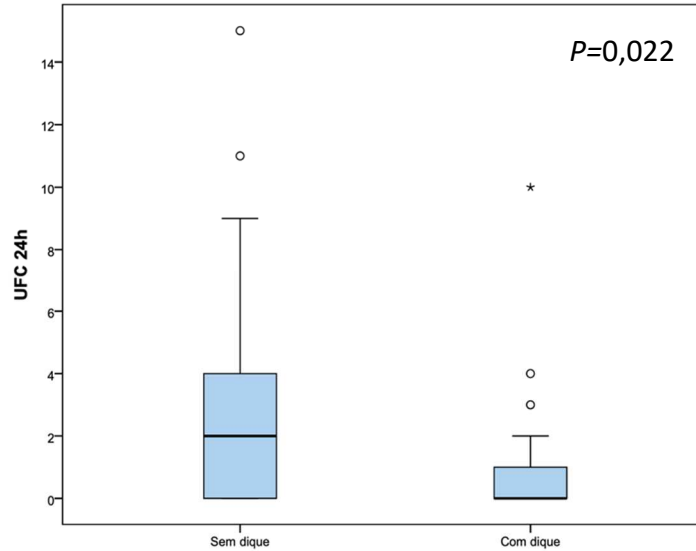
Comparando as contagens às 24 horas e 48 horas, no grupo sem utilização de dique de borracha, observou-se um aumento da contagem de UFC em 12 amostras. As restantes 18 amostras mantiveram a contagem de UFC (Figura 6).



**Figura 5** - Número de UFC contabilizadas às 24 horas (amarelo) e às 48 horas (verde) em pacientes com a utilização de dique, nos diferentes pontos de recolha: A- Operador; B- Assistente; C- Tabuleiro

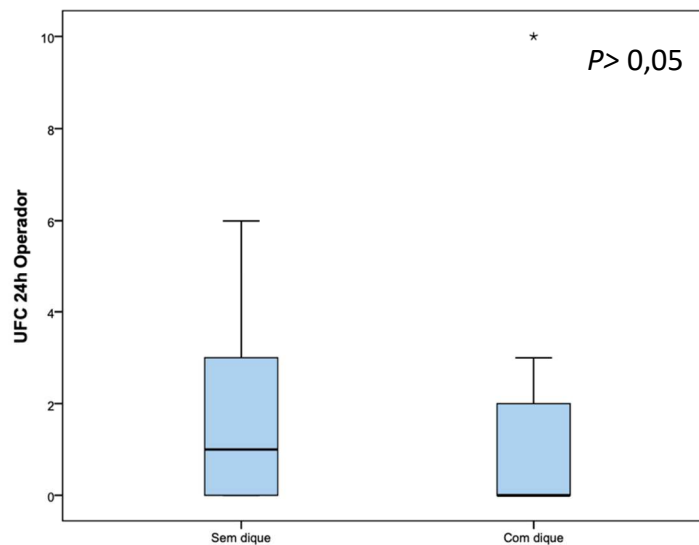
Comparando as contagens às 24 horas e 48 horas, no grupo com utilização de dique de borracha, observou-se um aumento da contagem de UFC em 14 amostras. As restantes 16 amostras mantiveram a contagem de UFC (Figura 7).

Na contagem às 24 horas verificou-se que o número de UFC foi significativamente maior quando não se utilizou dique de borracha em comparação com quando se utilizou [Mediana (IQR): SD:2,00(4) *versus* D:0,00(1),  $P=0,022$ ] (Figura 8).



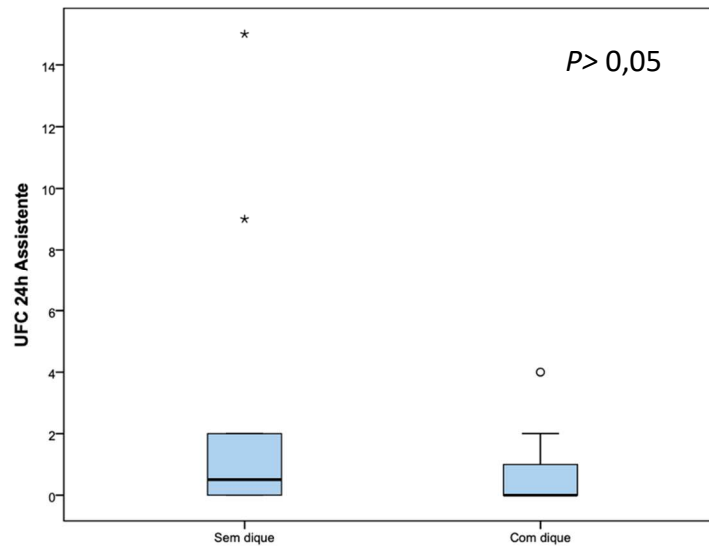
**Figura 6** - UFC às 24 horas com e sem utilização de dique de borracha

Em relação à recolha no operador verificou-se que às 24 horas o número de UFC foi tendencialmente superior quando não se utilizou dique de borracha em comparação com quando se utilizou, sem diferença estatisticamente significativa [Mediana (IQR): OpSD:1,00(3) *versus* OpD:0,00(2),  $P=0,466$ ] (Figura 9).



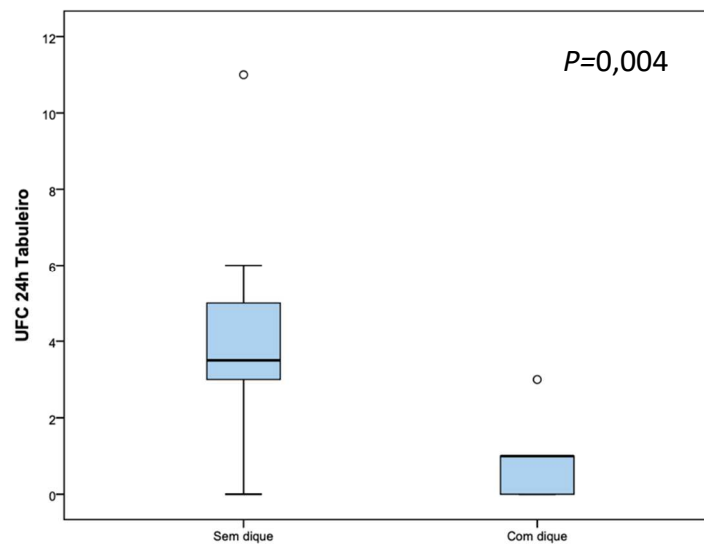
**Figura 7** - UFC às 24 horas no Operador com e sem utilização de dique de borracha

Na recolha no assistente verificou-se que às 24 horas o número de UFC foi ligeiramente superior quando não se utilizou dique de borracha em comparação com quando se utilizou, sem diferença estatisticamente significativa [Mediana (IQR): AsSD:0,50(4) *versus* AsD:0,00(1),  $P=0,533$ ] (Figura 10).



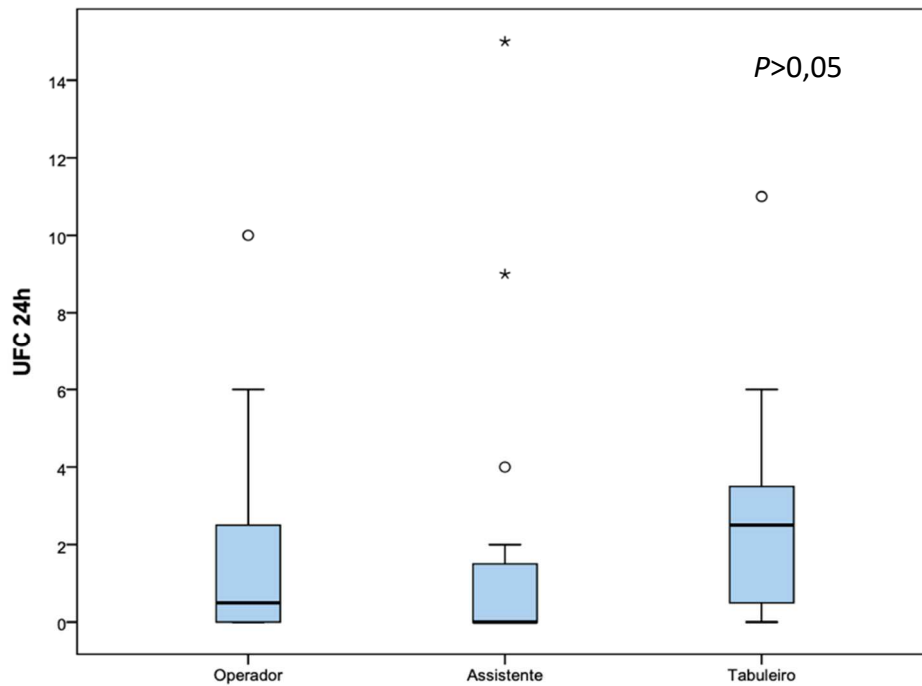
**Figura 8** - UFC às 24 horas no Assistente com e sem utilização de dique de borracha.

Na recolha no tabuleiro verificou-se que às 24 horas o número de UFC foi significativamente maior quando não se utilizou dique de borracha em comparação com quando se utilizou [Mediana (IQR): TbSD:3,50(3) *versus* TbD:1,00(2),  $P=0,004$ ] (Figura 11).



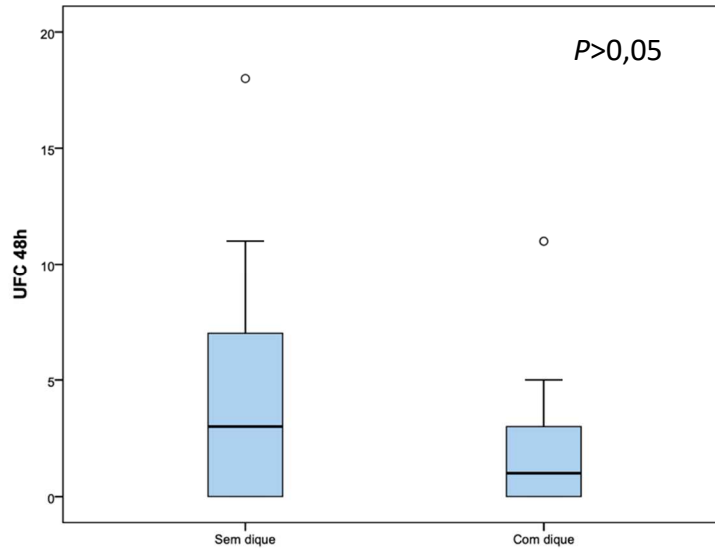
**Figura 9** - UFC às 24 horas no Tabuleiro com e sem utilização de dique de borracha.

Comparando os locais de recolha, verificou-se que às 24 horas o número de UFC foi tendencialmente superior no tabuleiro, seguido do operador e assistente, sem diferença estatisticamente significativa [Mediana (IQR): Tb:2,50(4); Op:0,50(3); As:0,00(2),  $P=0,104$ ] (Figura 12).



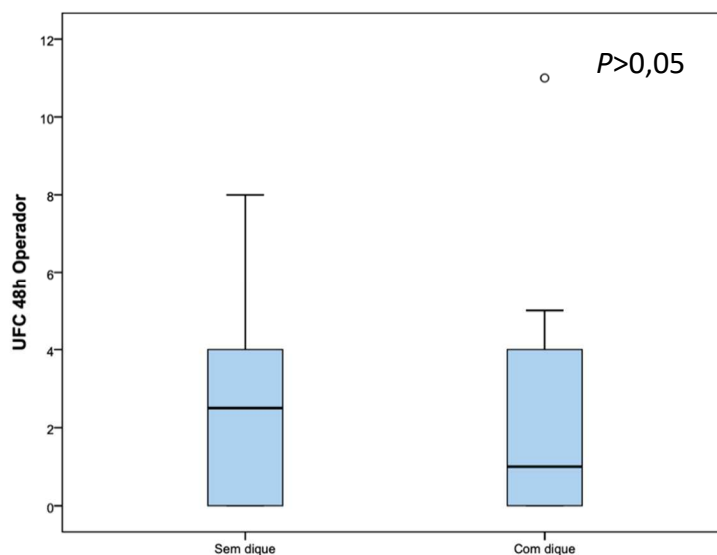
**Figura 10** - UFC às 24 horas nos diferentes pontos de recolha: Operador (Op), Assistente (As) e Tabuleiro (Tb).

Na contagem às 48 horas verificou-se que o número de UFC foi tendencialmente maior quando não se utilizou dique de borracha em comparação com quando se utilizou, mas sem diferença estatisticamente significativa [Mediana (IQR): SD:3,00(7) versus D:1,00(3),  $P=0,056$ ] (Figura 13).



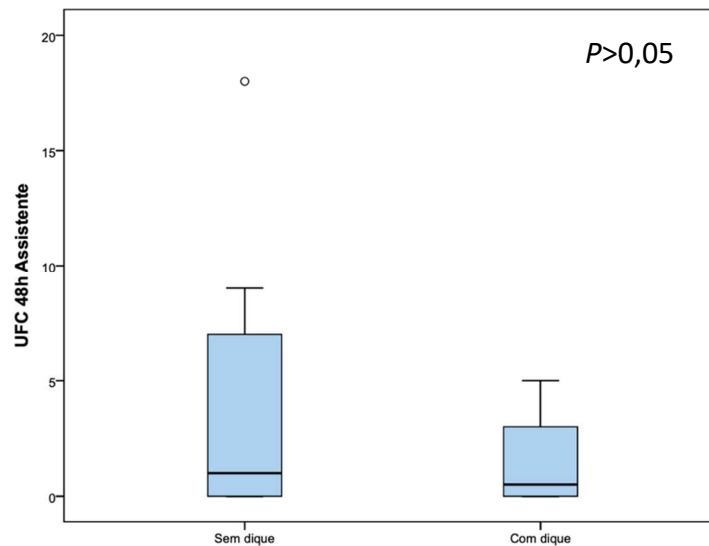
**Figura 11** - UFC às 48 horas com e sem utilização de dique de borracha.

Em relação à recolha no operador verificou-se que às 48 horas o número de UFC foi tendencialmente superior quando não se utilizou dique de borracha em comparação com quando se utilizou, sem diferença estatisticamente significativa [Mediana (IQR): OpSD:2,50(3) versus OpD:1,00(4),  $P=0,588$ ] (Figura 14).



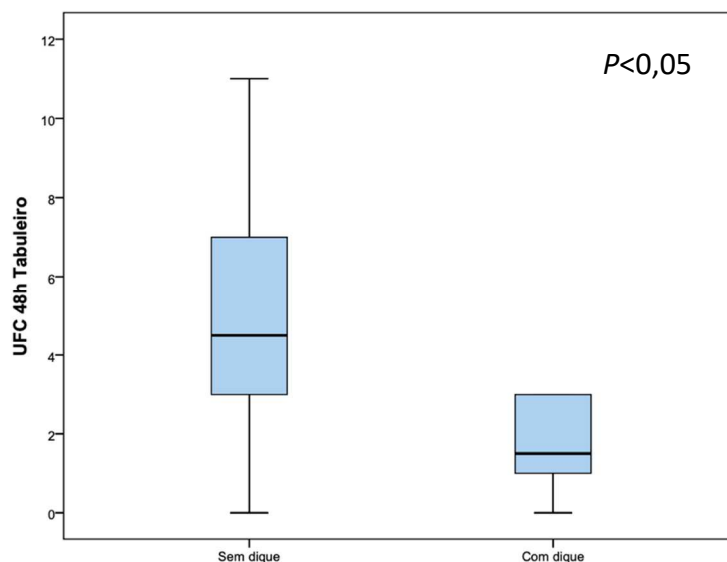
**Figura 12** - UFC às 48 horas no Operador com e sem utilização de dique de borracha.

Na recolha no assistente verificou-se que às 48 horas o número de UFC foi tendencialmente superior quando não se utilizou dique de borracha em comparação com quando se utilizou, sem diferença estatisticamente significativa [Mediana (IQR): AsSD:1,00(8) *versus* AsD:0,50(4),  $P=0,551$ ] (Figura 15).



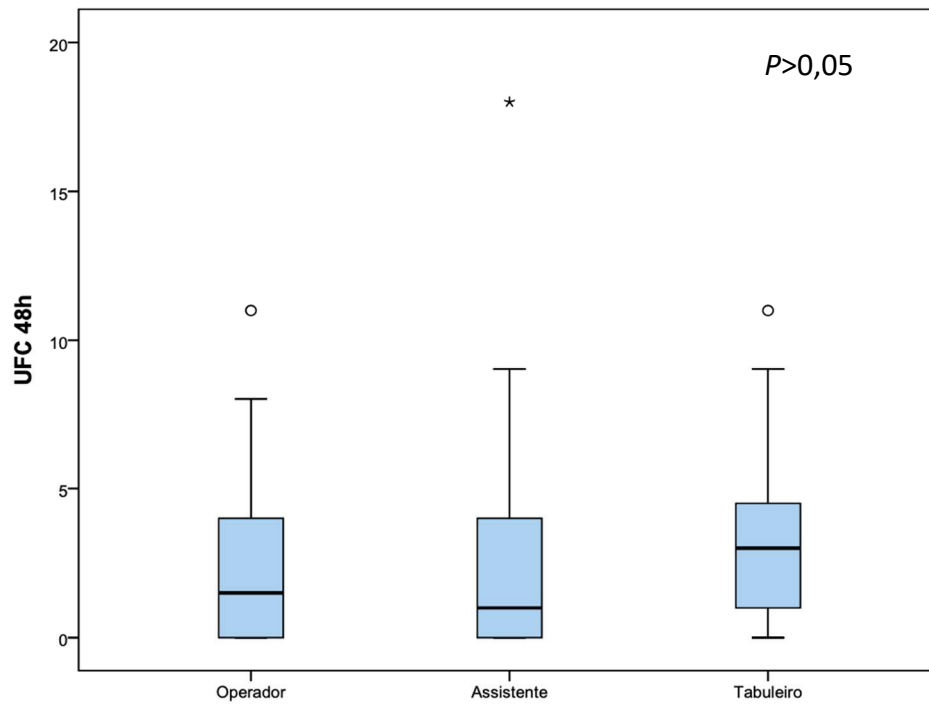
**Figura 13** - UFC às 48 horas no Assistente com e sem utilização de dique de borracha.

Na recolha no tabuleiro verificou-se que às 48 horas o número de UFC foi significativamente maior quando não se utilizou dique de borracha em comparação com quando se utilizou [Mediana (IQR): TbSD:4,50(5) *versus* TbD:1,50(2),  $P=0,007$ ] (Figura 16).



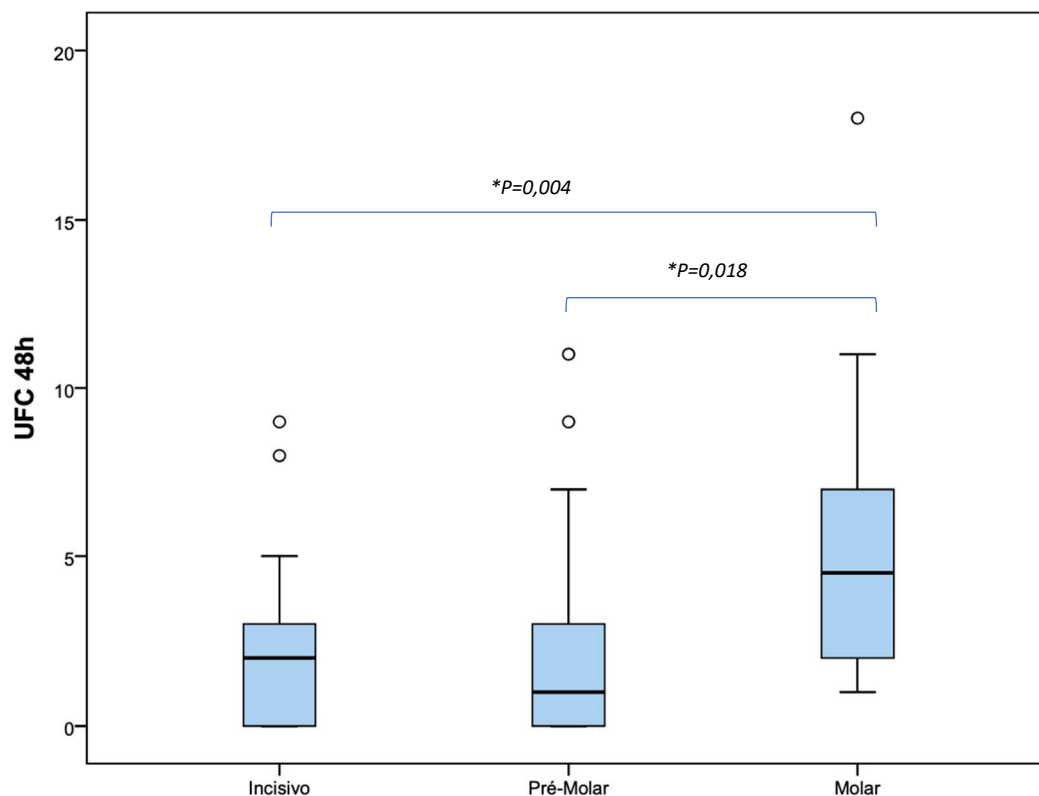
**Figura 14** - UFC às 24 horas no Tabuleiro com e sem utilização de dique de borracha.

Comparando os locais de recolha, verificou-se que às 48 horas o número de UFC foi tendencialmente superior no tabuleiro, seguido do operador e assistente, sem diferença estatisticamente significativa [Mediana (IQR): Tb:3,00(4); Op:1,50(4) ; As:1,00(5),  $P=0,206$ ] (Figura 17).



**Figura 15** - UFC às 48 horas nos diferentes pontos de recolha: Operador (Op), Assistente (As) e Tabuleiro (Tb).

Comparando os grupos de dentes: Incisivos (Ic), Pré-molares (Pm) e Molares (MI) às 48 horas, na aplicação do teste Kruskal-Wallis verificou-se que havia diferença estatisticamente significativa ( $P=0,011$ ). Aplicando o teste de U de Mann-Whitney com a correção de Holm Bonferroni observou-se que os Molares apresentavam o número de UFC maior que os Incisivos seguido dos Pré-Molares [Mediana (IQR): MI:4,50(6); Ic:2,00(3); Pm:1,00(3)] tendo diferenças estatisticamente significativas entre Molares e Incisivos ( $P=0,004$ ) e Molares e Pré-molares ( $P=0,018$ ). Não houve diferença estatisticamente significativa entre Pré-molares e Incisivos ( $P=0,358$ ) (Figura 18).



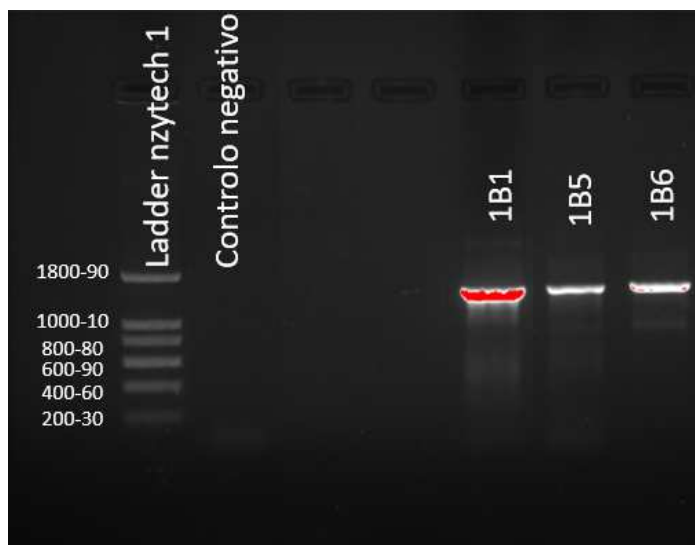
**Figura 16** - UFC às 48 horas nos diferentes grupos de dentes: Incisivos (Ic), Pré-molares (Pm) e Molares (MI).

#### **4.2. Resultados das amostras com fungos**

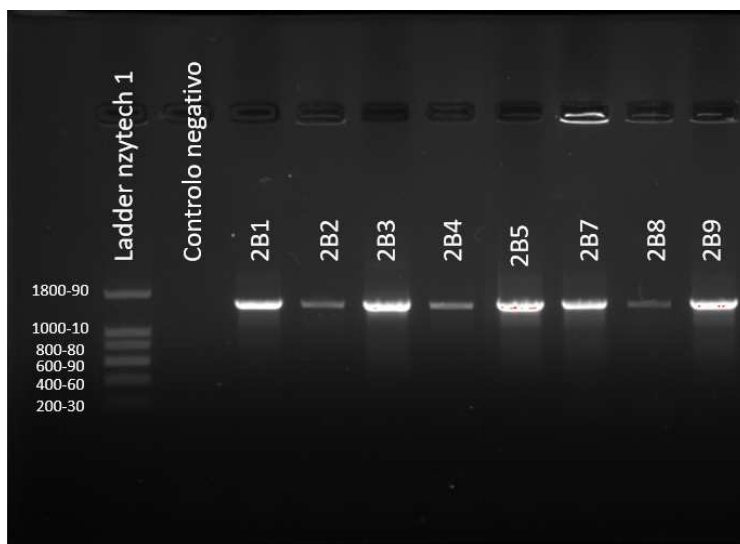
Da amostra total, em apenas 1 placa houve crescimento de fungos, nomeadamente na recolha SD7 T, havendo 1 UFC às 24 horas no tabuleiro, mantendo-se este valor inalterado às 48 horas.

### 4.3. Amplificação do gene 16S rRNA por PCR

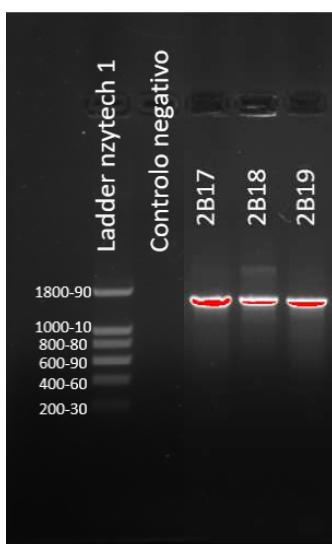
Após a amplificação da sequência parcial do gene 16S de cada uma das colônias de bactérias por PCR, procedeu-se à análise por eletroforese em gel de agarose, sendo usado o NZYDNA Ladder I (NZYTech) como marcador de peso molecular. Foi posteriormente observado no transiluminador (Bio-Rad, ChemiDoc™ MP Imaging System) com o software Lab 6.0.1.0. As figuras 19, 20 e 21 mostram o resultado das eletroforeses que foi realizado.



**Figura 17** - Produtos de PCR em gel de agarose da recolha SD1. No primeiro poço está o marcador de pesos moleculares (Ladder nzytech 1), no segundo poço um controlo negativo (água de biologia molecular), no poço 1B1 (SD1 As), no poço 1B5 e 1B6 (SD1 Op)



**Figura 18** - Produtos de PCR em gel de agarose da recolha D1. No primeiro poço está o marcador de pesos moleculares (Ladder nzytech 1), no segundo poço um controlo negativo (água de biologia molecular), no poço 2B1, 2B2, 2B3, 2B4, 2B5, 2B7, 2B8, 2B9 (D1 Op)



**Figura 19** - Produtos de PCR em gel de agarose da recolha D1. No primeiro poço está o marcador de pesos moleculares (Ladder nzytech 1), no segundo poço um controlo negativo (água de biologia molecular), no poço 2B17 e 2B18 (D1 As), no poço 2B19 (D1 Tb)

Ao analisar as figuras 19, 20 e 21 os produtos gerados a partir da amplificação aparentam ter um tamanho de cerca de 1465pb, conforme esperado para produtos de PCR a partir da amplificação do gene 16S, com os *primers* usados.

### 4.3. Identificação dos isolados clínicos bacterianos por sequenciação do gene 16S rRNA

Após sequenciação dos produtos de PCR, as sequências foram confrontadas com as bases de dados de nucleótidos da NCBI para determinar a identidade dos microrganismos, conforme a tabela 3 abaixo.

**Tabela 3** - Identificação dos isolados clínicos bacterianos por sequenciação do gene 16S rRNA

Tipo de recolha	Número do isolado	Local da recolha	Sequenciação
SD1	1B1	Assistente	<i>Staphylococcus</i> sp.
SD1	1B5	Operador	<i>Micrococcus</i> sp.
SD1	1B6	Operador	<i>Staphylococcus</i> sp.
D1	2B1	Operador	<i>Staphylococcus capitis</i>
D1	2B2	Operador	<i>Micrococcus</i> sp.
D1	2B3	Operador	<i>Bacillus</i> sp.
D1	2B4	Operador	<i>Pseudomonas</i> sp.
D1	2B5	Operador	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>
D1	2B7	Operador	<i>Staphylococcus</i> sp.
D1	2B8	Operador	IEC
D1	2B9	Operador	<i>Staphylococcus</i> sp.
D1	2B17	Assistente	IEC
D1	2B18	Assistente	IEC
D1	2B19	Tabuleiro	IEC

IEC - Identificação em curso

Os resultados permitiram identificar vários géneros de bactérias, incluindo *Staphylococcus* sp., *Pseudomonas* sp., *Micrococcus* sp., *Staphylococcus capitis*, *Bacillus* sp. e *Staphylococcus saprophyticus*.



## Discussão



## 5. Discussão

Foi confirmado em estudos anteriores que, a partir dos aerossóis produzidos por instrumentos rotatórios de alta velocidade de uso dentário, é possível efetivar a transmissão de agentes patogénicos, sendo eles bactérias, fungos ou mesmo vírus através de saliva ou sangue contaminado. Atualmente, destaca-se o vírus SARS-COV-2 como um agente transmissor a ter em conta, dado o seu elevado índice de transmissibilidade, pelo que é essencial impedir que tal transmissão seja efetuada. Em medicina dentária, especialmente neste estudo, irá confirmar-se que o uso do dique de borracha influencia a quantidade de aerossóis a que estamos expostos. (28,29)

Existe na literatura diversos estudos que investigaram microrganismos resultantes de procedimentos geradores de aerossóis em tratamentos dentários, usando instrumentos rotatórios de alta velocidade, sendo que, alguns tratamentos geram maior contaminação por aerossóis em relação a outros. (20,30-33). Na destartarização em que foram utilizados ultrassons, comprovou-se que este é o tratamento mais gerador de aerossóis em relação a tratamento de cáries em dentisteria e cavidades de acesso em endodontia. (20,32). Nestes estudos foram avaliados os aerossóis produzidos, sob a forma de contagens de UFC bacterianas em placas com meios de cultura, desde os 10 minutos até às 3 horas. Foi determinado ainda que, é provável que as contagens das colónias microbianas sejam mais elevadas com um maior tempo de exposição das placas ao meio envolvente. (20,25,31,32,33) Todavia, um estudo de Bennet *et al* concluiu que o pico da geração de aerossóis se encontra entre os 10 e os 30 minutos. (33)

A metodologia apresentada apoia-se, porém com algumas diferenças, na metodologia usada por Vaz *et al*. Antes de qualquer procedimento foi dado aos pacientes um bochecho à base de uma solução de clorhexidina (Eludril) a 0,1%, posteriormente foram expostas placas de Petri com os meios de cultura 15 minutos durante a consulta. Apenas se realizaram cavidades de dentisteria. Por sua vez, na metodologia de Vaz *et al* foram expostas as placas 30 minutos antes do tratamento, 30 minutos durante o tratamento e 30 minutos após o tratamento, bem como apenas realizaram cavidades de acesso em endodontia e num grupo do estudo não se utilizou nenhum bochecho. (25)

Em toda a amostra obtida, existiu a tendência de a utilização do dique de borracha formar menos UFC comparando com a sua não utilização. Desta forma, em nenhuma situação a não utilização de dique de borracha formou menos UFC do que quando se utilizou. Nos períodos de contagem de UFC tanto às 24 horas de incubação como às 48 horas, existiu significativamente um maior número de UFC quando não se utilizou o dique de borracha do que quando se utilizou, (figura 8,  $P=0,022$ ), registando-se um aumento de UFC nas 48 horas para os dois grupos, sem diferença estatisticamente significativa (figura 13,  $P=0,056$ )

Os resultados das figuras 8 e 13 podem ser comprovados com cada um dos locais de recolha seleccionados, o número de UFC formado às 24 horas foi sempre superior nos grupos sem utilização do dique de borracha em detrimento de se o utilizar, no operador e no assistente não houve diferença estatisticamente significativa (figura 9,  $P=0,466$  e figura 10,  $P=0,533$ ), no entanto no tabuleiro verificou-se significativamente maior formação de UFC quando não se utilizou o dique de borracha (figura 11,  $P=0,004$ ). O mesmo sucedeu às 48 horas, com o operador, assistente sem diferenças estatisticamente significativas (figura 14,  $P=0,588$  e figura 15,  $P=0,551$ ) e o tabuleiro com diferença significativa (figura 16,  $P=0,007$ ).

Estes resultados indicam-nos que, ao colocar uma barreira física na cavidade oral para tratamentos dentários, como é o caso do dique de borracha, é possível controlar melhor os fluídos orais (saliva e sangue), de forma que haja menos formação de aerossóis e por sua vez menos propagação de microrganismos resultantes dos aerossóis, o que comprova os seus benefícios a nível clínico. (14)

Ainda para os locais seleccionados de recolha, houve uma inclinação para o tabuleiro ser o local com maior formação de UFC, seguindo o operador e por fim o assistente para ambos os tempos de contagem de colónias em ambos os momentos de contagem de UFC, 24 horas e 48 horas (figura12,  $P=0,104$  e figura 17,  $P=0,206$ ).

A justificação de o tabuleiro ser o local com maior contagens de UFC, de entre os 3 pontos de recolha, pode-se dever aquando da colocação e remoção de instrumentos do tabuleiro ter as mãos do operador mais próximas das placas e desta forma ser o local com maior contaminação, uma vez que as luvas, estando em contacto com o campo operatório, se encontram contaminadas. A

fundamentação de o operador ter maiores contagens de UFC em relação ao assistente, prende-se com o facto de estar mais próximo da cavidade oral do paciente, todavia o assistente, ainda assim, sofre contaminação por aerossóis.

Em relação ao grupo de dentes em estudo (figura 18,  $P=0,011$ ), os molares foram o grupo que apresentou maior número de UFC, seguido dos incisivos e por fim dos pré-molares, observando-se uma diferença estatisticamente significativa.

Todos os resultados obtidos podem ser corroborados com estudos feitos anteriormente, os quais demonstraram que o uso de soluções antimicrobianas utilizadas pré-operatoriamente e o uso do dique de borracha podem reduzir significativamente o número de bactérias nos aerossóis que são produzidos durante os tratamentos dentários. (25,29,31,34)

Outro dos objetivos propostos foi identificar, em algumas das nossas recolhas, isolados de microrganismos através de amplificação por PCR e analisar as sequenciações nucleotídicas subsequentes de algumas colónias de bactérias e assim compreender quais espécies podem estar presentes ao realizar-se um tratamento dentário, nomeadamente em cavidades de dentisteria.

Toda a nossa amostra para sequenciação se baseou na amplificação do gene 16S rRNA quase completo amplificando os primers 27F e 1492R, para determinação de espécies bacterianas.

Após a sequenciação nucleotídicas obtivemos várias espécies bacterianas presentes sendo elas *Staphylococcus sp.*, *Pseudomonas sp.*, *Micrococcus sp.*, *Staphylococcus capitis*, *Bacillus sp.* e *Staphylococcus saprophyticus* e algumas amostras com a identificação em curso.

Em relação à não utilização do dique de borracha obtivemos 2 géneros de bactérias: *Staphylococcus sp* e *Micrococcus sp*. Na utilização de dique de borracha obtivemos 3 géneros diferentes de bactérias assim como algumas amostras com a identificação em curso, foram elas *Staphylococcus sp*, *Staphylococcus capitis*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Pseudomonas sp.* e *Bacillus sp*.

Num estudo desenvolvido por Vieira *et al*, verificou-se que, de entre 95 participantes divididos em dois grupos com cárie ativa e cárie inativa, existiu uma prevalência de *Bacteroides thetaiotaomicron* e *Rothia mucilaginosa* nos

participantes com cárie ativa e *Staphylococcus epidermidis* em participantes com cárie inativa. (35)

Num estudo de Scannapieco *et al*, *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa* colonizavam os dentes em pacientes hospitalizados, nomeadamente devido a casos de pneumonia. (3,36,37)

Ainda noutro estudo de Chiang *et al* revelaram ainda que elevadas concentrações de *Staphylococcus aureus* têm correlação com hospitalização por pneumonia em residentes de lares de idosos. (38)

Chopyk *et al*, revelou que *Bacillus* e *Pseudomonas* estão presentes em pacientes fumadores. (39)

Hallier *et al*, verificaram que os microrganismos mais predominantes isolados de aerossóis em clínicas dentárias são as espécies de *Staphylococcus* e *Micrococcus*, o que corroborou os resultados obtidos, uma vez que grande parte da nossa amostra correspondeu a estes dois géneros de bactérias. (40)

No presente estudo verificaram-se várias limitações, nomeadamente, o número de amostras representar apenas 20 pacientes pelo que ao aumentar a amostragem, poder-se-ia obter resultados mais significativos a nível estatístico. Outra das limitações passou pelo facto de os tratamentos dentários terem sido todos planeados anteriormente de acordo com a necessidade do paciente, havendo algumas variáveis que não puderam ser controladas, como é o caso da localização do dente tratado, sendo ele mandibular ou maxilar. Por outro lado, outro entrave ao estudo, prende-se com o facto de não haver um meio de cultura “ideal” que abranja todos os microrganismos a que a equipa clínica está exposta durante uma consulta. Por isso, nas recolhas não é possível contabilizar todos os microrganismos a que os profissionais foram submetidos.

De toda a amostragem, apenas obtivemos uma placa com crescimento de fungos, representado 1 UFC tanto nas 24 como nas 48 horas, sendo que num estudo futuro seria viável utilizar outro meio de cultura para o crescimento dos mesmos em colónias. Por fim, aliado ao baixo número de isolados aos quais foram efetuados sequenciação nucleotídica, poder-se-ia aumentar a amostragem para identificação e análise de sequências nucleotídicas, assim como poderão ser efetuados protocolos para determinar a patogenicidade e resistência a antibióticos.

## Conclusão



## 6. Conclusão

Quando são utilizados instrumentos rotatórios de alta velocidade existe um perigo significativo ao meio clínico, que envolve uma consulta de medicina dentária, causado pela propagação de aerossóis. Mesmo após a conclusão da consulta, os aerossóis ficam suspensos no ar, permitindo, assim, a entrada dos mesmos para o trato respiratório.

São várias as soluções para a resolução deste problema. O uso de dique de borracha, aliado ao uso de uma solução antimicrobiana de bochecho, por parte do paciente, prévio a qualquer procedimento dentário, poderá ajudar a reduzir a contaminação bacteriana assim como a disseminação de aerossóis, facto que é provado pelos resultados obtidos. Ainda assim, deverá ser combinado com outras medidas de proteção individual, tais como máscaras, luvas e viseiras. Apesar de ser impossível de eliminar todos os aerossóis resultantes da consulta, é possível minimizar-se o risco com algumas precauções acessíveis e simples que foram supramencionadas.

Tendo em conta os riscos com que lidamos diariamente, principalmente devido à pandemia provocada pelo vírus SARS-COV-2, a utilização destes meios de precaução, tornam-se cruciais para que exista redução do risco de contaminação, pelo que se devem utilizar estas medidas, quando possível, em todos os procedimentos dentários, principalmente naqueles em que existe maior geração de aerossóis.

Estas medidas podem ser corroboradas com os resultados adquiridos, uma que vez que as contagens de UFC foram sempre inferiores quando se utilizou o dique de borracha em relação a amostras sem dique nas quais houve maior formação de UFC. Os médicos dentistas deverão encarar estas medidas como uma forma de beneficiar o seu sucesso na prática clínica, bem como também para reforçar a segurança tanto dos clínicos como também dos seus pacientes.



## Bibliografia



## 7. Bibliografía:

1. Farley JR. Brief history of endodontics. *Tex Dent J.* 1974;92(2):9.
2. Lin PY, Huang SH, Chang HJ, Chi LY. The effect of rubber dam usage on the survival rate of teeth receiving initial root canal treatment: A nationwide population-based study. *J Endod.* 2014;40(11):1733–7.
3. Sharma N, Bhatia S, Sodhi AS, Batra N. Oral microbiome and health. *AIMS Microbiol.* 2018;4:42–66. doi: 10.3934/microbiol.2018.1.42. (página 2)
4. Loesche WJ. Chemotherapy of dental plaque infections. *Oral Sci Rev* 1976, 9: 65–107.
5. Kleinberg I. A mixed-bacteria ecological approach to understanding the role of the oral bacteria in dental caries causation: an alternative to *Streptococcus mutans* and the specific-plaque hypothesis. *Crit Rev Oral Biol Med.* 2002;13(2):108–125. doi: 10.1177/154411130201300202
6. Jakubovics NS, Gill SR, Vickerman MM, et al. Role of hydrogen peroxide in competition and cooperation between *Streptococcus gordonii* and *Actinomyces naeslundii*. *FEMS Microbiol Ecol* 2008;66: 637–644.
7. Ghannoum MA, Jurevic RJ, Mukherjee PK, et al. Characterization of the oral fungal microbiome (mycobiome) in healthy individuals. *PLoS Pathog* 2010;6(1): e1000713.
8. Wang J, Gao Y, Zhao F Phage-bacteria interaction network in human oral microbiome. *Environ Microbiol* 2016;18: 2143–2158
9. Loning T, Ikenberg H, Becker J, et al. (1985) Analysis of oral papillomas, leukoplakias, and invasive carcinomas for human papillomavirus type related DNA. *J Invest Dermatol.* 1985;88: 417–420. doi: 10.1111/1523-1747.ep12265517.
10. Yamada T, Takahashi-Abbe S, Abbe K Effects of oxygen on pyruvate formate-lyase in situ and sugar metabolism of *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sanguis*. *Infect Immun.* 1985;47: 129–134. doi: 10.1128/IAI.47.1.129-134.1985.

11. Razavi A, Gmür R, Imfeld T, et al. Recovery of *Enterococcus faecalis* from cheese in the oral cavity of healthy subjects. *Oral Microbiol Immun.* 2007;22: 248–251. doi: 10.1111/j.1399-302X.2006.00349
12. Elderton, R.J. A modern approach to the use of rubber dam–1. *Dent. Pract. Dent. Rec.* 1971, 21, 187–193
13. Cardinali F, Gorni F. The use of the Rubber Dam in Endodontics HOW-WHEN-WHY. 2020
14. Al-Amad SH, Awad MA, Edher FM, Shahramian K, Omran TA. The effect of rubber dam on atmospheric bacterial aerosols during restorative dentistry. *J Infect Public Health.* 2017;10(2):195–200
15. Madarati A, Abid S, Tamimi F, Ezzi A, Sammani A, Shaar M, Zafar M. Dental-Dam for Infection Control and Patient Safety during Clinical Endodontic Treatment: Preferences of Dental Patients. *Int. J. Environ. Res. Public Health* 2018, 15, 2012; doi:10.3390/ijerph15092012
16. Harrel SK, Molinari J. Aerosols and splatter in dentistry: A brief review of the literature and infection control implications, *JADA*, Vol. 135. April 2004
17. Micik RE, Miller RL, Mazzarella MA, Ryge G. Studies on dental aerobiology, I: bacterial aerosols generated during dental procedures. *J Dent Res* 1969;48(1):49-56.
18. Hinds WC. *Aerosol technology: Properties, behavior, and measurement of airborne particles.* New York: Wiley; 1982:6-8.
19. Cottone JA, Terezhalmay GT, Molinari JA. *Practical infection control in dentistry.* Baltimore: Williams & Wilkins; 1996:139-40.
20. Bentley CD, Burkhart NW, Crawford JJ. Evaluating spatter and aerosol contamination during dental procedures. *JADA* 1994;125: 579-84
21. Gandolfi MA, Zamparini F, Spinelli A, Sambri V, Prati C. Risks of Aerosol Contamination in Dental Procedures during the Second Wave of COVID-19 – Experience and Proposals of Innovative IPC in Dental Practice. *Int. J. Environ. Res. Public Health* 2020, 17, 8954; doi:10.3390/ijerph17238954
22. C. Chakraborty, A.R Sharma, G. Sharma, M. Bhattacharya, S.S Lee. SARS-CoV-2 causing pneumonia-associated respiratory disorder (COVID-19): diagnostic and proposed therapeutic options. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2020 Apr;24(7):4016-4026.

23. Bulut C, Kato Y. Epidemiology of COVID-19. *Turkish J Med Sci.* 2020;50:563–70.
24. Zi-yu GE, Lu-ming Yang, Jia-jia XIA, Xiao-hui Fu, Yan-zhen Zhang. Possible aerosol transmission of COVID-19 and special precautions in dentistry. *J Zhejiang Univ-Sci B.* 2020 21(5):361-368
25. Vaz IP, Vaz CP, Carvaho MF, Azevedo A. Evaluating Spatter and Aerosol Contamination During Opening of Access Cavities in Endodontics. *Rev. Clín. Pesq. Odontol., Curitiba,* v. 4, n. 2, p. 77-83, maio/ago. 2008
26. Gangneux JP, Robert-Gangneux F, Gicquel G, et al. Bacterial and fungal counts in hospital air: comparative yields for 4 sieve impactor air samplers with 2 culture media. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2006 Dec;27(12):1405-1408. doi:10.1086/508840
27. Silva I, Tacão M, Tavares R, et al. Fate of cefotaxime-resistant Enterobacteriaceae and ESBL-producers over a full-scale wastewater treatment process with UV disinfection. *Sci Total Environ.* 2018 May 26;639:1028-1037. doi:10.1016/j.scitotenv.2018.05.229
28. R.L. Miller, Characteristics of blood-containing aerosols generated by common powered dental instruments, *Am. Ind. Hyg. Assoc. J.* 56 (7) (1995) 670–676.
29. Leggat PA. Bacterial aerosols in the dental clinic: a review. *Int Dent J.* 2001;51(1):39-44.
30. Harrel SK, Barnes JB, Rivera-Hidalgo F. Aerosol and splatter contamination from the operative site during ultrasonic scaling. *J Am Dent Assoc.* 1998;129(9):1241-9.
31. El-Din AMT, Ghoname NAE-H. Efficacy of rubber dam isolation as an infection control procedure in paediatric dentistry. *Eastern Mediterranean Health Journal.* 1997;3(3):530-9.
32. Rautemaa R, Nordberg A, Wuolijoki-Saaristo K, Meurman JH. Bacterial aerosols in dental practice - a potential hospital infection problem? *J Hosp Infect.* 2006;64(1):76-81. Epub 2006 Jul 3.
33. Bennett AM, Fulford MR, Walker JT, Bradshaw DJ, Martin MV, Marsh PD. Microbial aerosols in general dental practice. *Br Dent J.* 2000;189(12):664-7.

34. Holliday R, Alisson JR, Currie CC, Edwards DC, Bowes C, Pickering K, Reay S, Durham J, Lumb J, Rostami N, Coulter J, Nile C, Jakubovics. Evaluating contaminated dental aerosol and splatter in an open plan clinic environment: Implications for the COVID-19 pandemic. *J Dent*. 2021 Feb;105:103565. doi: 10.1016/j.jdent.2020.103565. Epub 2021 Jan 6.
35. Vieira AR, Hiller NL, Powell E, Kim LHJ, Spirk T, Modesto A, Kredt R. Profiling microorganisms in whole saliva of children with and without dental caries. *Clin Exp Dent Res*. 2019 Jun 20;5(4):438-446. doi: 10.1002/cre2.206. eCollection 2019 Aug.
36. Scannapieco FA Role of oral bacteria in respiratory infection. *J Periodontol*. 1999 Jul;70(7):793-802. doi: 10.1902/jop.1999.70.7.793.
37. Verma D, Garg PK, Dubey AK. Insights into the human oral microbiome. *Arch Microbiol*. 2018;200(4):525–540.
38. Chiang TC, Huang MS, Lu P, Huang ST, Lin YC. The effect of oral care intervention on pneumonia hospitalization, *Staphylococcus aureus* distribution, and salivary bacterial concentration in Taiwan nursing home residents: a pilot study. *BMC Infect Dis*. 2020 May 27;20(1):374. doi: 10.1186/s12879-020-05061-z
39. Chopyk J, Chattopadhyay S, Kulkarni P, Smyth EM, Hittle LE, Paulson JN, Pop M, Buehler SS, Clark PI, Mongodin EF, Sapkota AR Temporal Variations in Cigarette Tobacco Bacterial Community Composition and Tobacco-Specific Nitrosamine Content Are Influenced by Brand and Storage Conditions *Front Microbiol*. 2017 Mar 7;8:358. doi: 10.3389/fmicb.2017.00358. eCollection 2017.
40. Hallier C, Williams DW, Potts AJ, Lewis MA. A pilot study of bioaerosol reduction using an air cleaning system during dental procedures. *Br Dent J* 2010;209:E14

## Anexos



## **8. Anexos:**

### **Anexo 1: Preparação dos meios de cultura (exemplo para 300 mL)**

1. Pesar 9 g de meio Trypticase Soy Broth/ Sabouraud Dextrose Broth e 4,5g de Agar para cada meio;
2. Adicionar 300mL de água destilada;
3. Autoclavar os meios a 121°C durante 15 minutos;
4. Adicionar 300µL de fluconazol (antifúngico – stock final 50 mg/mL) e 300 µL de ampicilina (antibiótico – stock final 50 mg/mL) aos meios TSA e DAS, respetivamente;
5. Colocar em placas de Petri.

## Anexo 2: Parecer favorável da comissão de ética



**Parecer sobre o projeto nº 102**  
Comissão de Ética para a Saúde da Universidade Católica Portuguesa  
Mandato 2019/2023

<b>Projeto de Investigação</b> Na reunião do dia 13 de janeiro de 2021 a CES-UCP esteve reunida e apreciou do ponto de vista ético os elementos submetidos pelo investigador, em resposta a parecer prévio da CES. Sobre a apreciação redige o parecer que agora se apresenta.
<b>Título:</b> Dique de borracha na diminuição de microrganismos nos aerossóis
<b>Investigador Principal:</b> André Palma dos Santos Gil Milheiro <b>Orientadores:</b> Miguel Agostinho Beco Pinto Cardoso; Rita Brandão Noites; Ana Sofia Duarte.
<b>Resumo:</b> A endodontia, ou seja, o processo de trabalhar dentro do dente, é um ramo da medicina dentária que se dedica ao estudo de patologias pulpare e de tecidos que rodeiam as raízes, bem como o seu tratamento. O isolamento absoluto com dique de borracha é um processo essencial para a melhoria da assepsia em medicina dentária, é considerado um pré-requisito obrigatório, isto quando é necessário realizar um tratamento endodóntico. Aquando da realização da cavidade de acesso, ao usar instrumentos rotativos, jatos de ar/água, existe produção de aerossóis e, portanto, agentes microbianos movem-se para o meio clínico, tornando o estudo dessa propagação, relevante, para o estudo em questão. O objetivo central do tratamento canal das raízes, é tentar salvar um dente de uma exodontia e ao mesmo tempo manter a sua saúde assim como a sua função. Durante este tipo de tratamento é importante diminuir o risco de infeção, assim como assegurar a proteção do paciente. Por isso, foi desenvolvido e utilizado a primeira vez o dique de borracha em 1864 para combater e criar um campo assético para o tratamento ser bem-sucedido <b>Apreciação sobre os esclarecimentos submetidos:</b> Aos pedidos de esclarecimentos formulados, em parecer prévio, o mestrando respondeu, a 6 de janeiro de 2021: <i>1. Não há intervenção direta no paciente. Realiza-se apenas uma recolha do meio envolvente, o qual nada altera a condição a que o paciente se apresenta na consulta. 2. A identificação do paciente não será utilizada; apenas iremos associar à amostra a localização do dente na boca a ser tratado, para a própria dispersão dos aerossóis (e eventuais microrganismos do ar). Deste modo poderá ser estabelecida a eventual vantagem de utilizar o dique em detrimento de não se utilizar o mesmo.</i>
<b>Estiveram presentes na reunião nº 25 da CES-UCP</b> Presidente: Doutora Mara de Sousa Freitas Vice-Presidente: Doutora Teresa Marques Doutor Jerónimo Santos Trigo Doutor Pedro Garcia Marques Dr. Eugénio Fonseca Doutora Ana Mineiro Zaky Doutora Marta Brites Mestre Ivone Gaspar
<b>Conclusão</b> Ouvido o Relator sobre as respostas aos esclarecimentos pedidos, o plenário da reunião de 13 de janeiro de 2021, realizada por videoconferência, esta CES delibera, por unanimidade, emitir <b>Parecer Favorável</b> .
Esta CES solicita ao Investigador Principal que, aquando da conclusão do estudo, lhe seja enviada uma síntese dos resultados obtidos e respetivas conclusões, via eletrónica, para o correio eletrónico da CES UCP.
A Presidente,   _____ Mara de Sousa Freitas 13/01/2021

## Anexo 3: Consentimento Informado



### CONSENTIMENTO INFORMADO, ESCLARECIDO E LIVRE PARA PARTICIPAÇÃO EM ESTUDOS DE INVESTIGAÇÃO

(de acordo com a Declaração de Helsínquia e a Convenção de Oviedo)

**Título do estudo:** Dique de borracha na diminuição de microrganismos nos aerossóis

**Responsável pela Investigação:**

André Palma dos Santos Gil Milheiro

Tlm: 927333546

Email: andre123wwe@gmail.com

**Enquadramento:** Estudo do Dique de borracha na diminuição de microrganismos nos aerossóis orientado pelo Prof. Dr. Miguel Agostinho Beco Pinto Cardoso.

**Explicação do estudo:** Será testado nos pacientes da clínica universitária da Universidade Católica Portuguesa a quantidade de microrganismos que se geram com os aerossóis durante uma consulta de medicina dentária, provando, com a ajuda do dique de borracha, o controlo para a diminuição dos microrganismos. Desta forma melhorar o isolamento, a sua aplicação, bem como o conforto do paciente. Este teste irá decorrer durante as aulas práticas de endodontia na Clínica Universitária da Universidade Católica de Viseu, onde os alunos treinam a aplicação do isolamento absoluto antes de passarem para os pacientes.

**Vantagens e riscos na participação solicitada:** Não é feito qualquer tipo de intervenção terapêutica, apenas é colocado o dique de borracha na cavidade oral. Desta forma, a participação neste estudo é segura, não acarreta riscos ou inconvenientes. Visto que os alunos utilizam as aulas práticas de Endodontia para treinar a aplicação do dique de borracha uns nos outros antes de passar para os pacientes, esta será uma maneira que permite a realização de mais treino prático dos alunos que se voluntariarem assim como a prática clínica deles poderá melhorar. Ou seja, a participação neste estudo trará vantagens na sua experiência prática.

**Condições e financiamento:** Este estudo não é financiado e a participação não implica qualquer remuneração ou encargo económico para o participante. Os alunos participam de forma voluntária, livre e esclarecida. O participante é livre para interromper a sua colaboração no estudo a qualquer momento, sem que isso prejudique o seu percurso na FMDUCP. Os investigadores responsáveis garantem ainda aos participantes o exercício dos seus direitos em relação aos dados recolhidos (como o acesso, a retificação ou a eliminação), bastando o mesmo ser solicitado à Encarregada da Proteção de Dados deste estudo (*contactos no final do documento*). Para além do referido, o participante pode efetuar uma reclamação junto do Encarregado de Proteção de Dados (DPO - Data Protection Officer) da UCP, que a encaminhará para a Comissão Nacional de Proteção de Dados (CNPd), caso considerem que existe um incumprimento legal à proteção de dados por parte da equipa de investigação (*contactos no final do documento*).

**Confidencialidade e anonimato:** Os investigadores garantem o anonimato e a confidencialidade dos dados recolhidos. A informação é recolhida apenas pela Investigadora Principal, num momento único de observação, em ambiente de privacidade, não permite a identificação do participante e é usada apenas para os fins científicos do presente estudo. Os dados são registados e armazenados no computador pessoal da Investigadora, com acesso protegido e apenas durante o estudo. Concluída a investigação, os dados armazenados serão eliminados e é garantido que a identificação do participante nunca se torne pública.

Agradecemos o seu contributo para o desenvolvimento científico da Medicina Dentária da Universidade

*Este documento é composto por duas páginas e feito em duplicado: uma via para o investigador e a outra para a pessoa que consente.*



UNIVERSIDADE  
CATÓLICA  
PORTUGUESA  
VISEU

Católica Portuguesa e na qualidade de investigador responsável estou ao dispor para qualquer informação/dúvida que possa surgir durante este estudo.

Data: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Assinatura do Investigador Principal: \_\_\_\_\_

Por favor, leia com atenção toda a informação. Se achar que algo não está claro, não hesite em solicitar mais informações. Se concorda com a proposta que lhe foi feita, queira assinar este documento.

Declaro ter lido e compreendido este documento, bem como as informações verbais e escritas que me foram fornecidas pela Investigadora Principal que acima assina.

Foi-me garantida a possibilidade de, em qualquer altura, recusar participar neste estudo sem qualquer tipo de consequências assim como de aceder aos meus dados.

Aceito participar neste estudo, de forma informada e esclarecida, e permito a utilização dos dados que de forma voluntária forneço, confiando em que apenas serão utilizados para esta investigação e nas garantias de confidencialidade e anonimato que me são dadas pelo investigador.

Nome do participante no estudo: \_\_\_\_\_

Assinatura: \_\_\_\_\_

**SE NÃO FOR O PRÓPRIO A ASSINAR POR IDADE OU INCAPACIDADE**

**(se o menor tiver discernimento deve também assinar em cima, se consentir)**

Nome: \_\_\_\_\_

BI/CC n.º: \_\_\_\_\_

Data ou validade \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_

Grau de parentesco ou tipo de representação: \_\_\_\_\_

Assinatura: \_\_\_\_\_

Contacto do Encarregado de Proteção de Dados (DPO - Data Protection Officer) da UCP:

Data Protection Officer - UCP

Dra. Frederica Campos de Carvalho

Contacto telefónico: +351 217214179

E-mail: [compliance.rgpd@ucp.pt](mailto:compliance.rgpd@ucp.pt)

Contacto do Encarregado da Proteção de Dados deste estudo na FMD-UCP Viseu:

Investigador Principal: André Palma dos Santos Gil Milheiro

Contacto telefónico direto: +351 927333546

E-mail: [andre123wwe@gmail.com](mailto:andre123wwe@gmail.com)

*Este documento é composto por duas páginas e feito em duplicado: uma via para o investigador e a outra para a pessoa que consente.*