



CATÓLICA
FACULDADE DE MEDICINA DENTÁRIA

UISEU

Avaliação de um índice de risco de cárie numa população adulta

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

Por:
André Filipe dos Santos Fonseca

Viseu, 2022



CATÓLICA
FACULDADE DE MEDICINA DENTÁRIA

VISEU

Avaliação de um índice de risco de cárie numa população adulta

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

Por:
André Filipe dos Santos Fonseca

Orientador: Professora Doutora Rute Rio

Co-Orientador: Professora Doutora Maria José Correia e Mestre Pedro Lopes

Viseu, 2022

Agradecimentos

À minha orientadora **Professora Doutora Rute Rio**, por acreditar que era possível a elaboração deste trabalho desde o primeiro instante, pela sua dedicação, paciência, palavras de incentivo e transmissão de conhecimentos. O meu muito obrigado, foi sem dúvida um grande pilar para a realização deste trabalho.

À minha co-orientadora, **Professora Doutora Maria José Correia**, pela forma como acompanhou este projeto e como sempre transmitiu segurança e confiança no trabalho que fui realizando. Obrigado pelo apoio incansável, foi um gosto trabalhar consigo!

Ao meu co-orientador, **Mestre Pedro Lopes**, obrigada pela disponibilidade, conselhos e críticas sempre tão construtivas.

Ao SalivaTec, e em particular, à Doutora Ana Karina Mendes, à Doutora Ana Peixoto Gomes, à Marla Pinto, à Rafaela Gomes e à Joana Magalhães, por toda a ajuda e esforço que exerceram para proporcionar as condições necessárias para a realização deste trabalho.

À Universidade Católica Portuguesa, aos professores e funcionários com quem tive a oportunidade de partilhar estes anos e por quem tenho um apreço enorme.

Aos meus pais, pelo vosso apoio incondicional, tenho consciência que sem vocês nada disto teria sido possível. Obrigado por me permitirem realizar este sonho, por serem modelos de coragem, e me encorajarem a ir sempre mais longe. A vocês dedico este trabalho!

À Vanessa, por ser o meu porto de abrigo ao longo desta jornada. Obrigado por toda a ajuda, apoio e amor incondicional. Agradeço por todas as palavras de incentivo e por sempre acreditares nas minhas capacidades.

Ao meu incrível grupo de **amigos** por todos os momentos vividos, por todo o companheirismo e por terem sido essenciais ao longo destes cinco anos.

A todos os que contribuíram direta ou indiretamente para que eu pudesse desenvolver este trabalho, um enorme **obrigado do fundo do coração!**

Resumo

Introdução: A cárie é a principal doença crónica a afetar o ser humano. A avaliação do risco de cárie é essencial para encontrar indivíduos mais propensos a desenvolver estas lesões e assim individualizar o plano de tratamento, fornecendo medidas preventivas para evitar o aparecimento ou progressão da doença.

Objetivos: Desenvolver um índice de avaliação do risco de cáries com base no CAMBRA modificado pela adição e modificação dos fatores analisados. Iniciar a aplicação do índice à população da CDU-UCP verificando a exequibilidade dos procedimentos e deixando recomendações para a continuação do estudo.

Materiais e métodos: Foi modificado o índice de risco de cárie CAMBRA tendo sido posteriormente aplicado num estudo observacional transversal que incluiu 80 pacientes que frequentaram a Clínica Dentária da Universidade Católica Portuguesa de Viseu durante o período de recolha de dados. Cada paciente que cumpriu os requisitos necessários para participar neste estudo foi observado pelos investigadores que recolheram os dados do paciente através de um questionário, de uma avaliação intraoral, e na recolha de amostras de saliva e de biofilme.

Resultados: Nos 80 pacientes avaliados, classificamos como risco baixo 56,25% (n=45), risco moderado 27,50% (n=22), risco elevado 13,75% (n=11) e risco severo 2,50% (n=2). Foi verificada a exequibilidade dos procedimentos embora haja melhorias a fazer nomeadamente nas análises microbiológicas a realizar.

Conclusão: Neste trabalho cumpriram-se os objetivos de verificar a exequibilidade de aplicação do índice proposto, bem como de avaliar as alterações necessárias para aplicar o índice de forma mais generalizada na CDU-UCP, nomeadamente em todas as primeiras consultas. Desta forma o acompanhamento dos pacientes torna-se mais preciso e mais personalizado e os futuros médicos dentistas são treinados neste tipo de avaliação que podem depois levar para a sua prática clínica pós-graduada.

Palavras-chave: Cárie dentária, Prevenção de cárie, CAMBRA, Risco de cárie, indicadores de doença, fatores de risco, fatores de proteção.

Abstract

Introduction: Caries is the main chronic disease affecting humans. The assessment of the risk of caries is essential to find individuals more likely to develop these lesions and thus individualize the treatment plan, providing preventive measures to prevent the onset or progression of the disease.

Goal: Develop an index of assessment of caries risk based on CAMBRA modified by the addition and modification of the analysed factors. Initiate the application of the index to the population of the CDU-UCP verifying the feasibility of the procedures and leaving recommendations for the continuation of the study.

Materials and methods: The CAMBRA caries risk index was modified and then applied in a cross-sectional observational study including 80 patients who attended the CDU-UCP during the data collection period. Each patient who met the necessary requirements to participate in this study was observed by the investigators who collected patient data through a questionnaire, an intraoral evaluation, and the collection of saliva and biofilm samples.

Results: In the 80 patients evaluated, we classified 56.25% as low risk (n=45), 27.50% as moderate risk (n=22), 13.75% as high risk (n=11) and 2.50% as very high risk. % (n=2). The feasibility of the procedures was verified, although there are improvements to be made, namely in the microbiological analysis to be carried out.

Conclusion: In this work, the specific objectives of verifying the feasibility of applying the proposed index were fulfilled, as well as to evaluate the changes necessary to apply the index more generally in CDU-UCP, in all first appointments. In this way, patient follow-up becomes more accurate and personalized and future dentists are trained in this type of assessment that they can then take to their post-graduate clinical practice.

Key words: Dental caries, Caries prevention, CAMBRA, Caries risk, disease indicators, risk factors, protective factors.

Índice Geral

Agradecimentos	IV
Resumo	V
Abstract	VI
Índice Geral	VII
Índice de abreviaturas	IX
Índice de tabelas e figuras	X
1. INTRODUÇÃO	1
2. Materiais e métodos.....	7
Caracterização do estudo	7
Proposta de índice	7
Caracterização da amostra	8
Princípios éticos	9
Treino e calibração.....	9
Recolha da amostra	9
Fase 1 – Questionário	10
Fase 2 – Exame clínico.....	10
Fase 3 – Recolha de saliva	11
Fase 4 – Recolha de biofilme	12
Análise estatística.....	13
3. Resultados.....	14
Caracterização demográfica da amostra em estudo	14
Caracterização dos hábitos de higiene oral	15
Caracterização dos hábitos alimentares	20
Caracterização de fatores que predispõem a acumulação de placa bacteriana	21
Caracterização de fatores associados ao fluxo salivar	23
Caracterização da análise salivar	25
Caracterização de resultados decorrentes da inspeção intraoral	26
Risco de desenvolver lesões de cárie.....	33
4. Discussão de resultados	40
Hábitos de higiene oral	41
Hábitos alimentares	43
Fatores que predispõem a acumulação de placa bacteriana	43
Fatores que afetam o fluxo salivar.....	45
Análise da saliva	46

Indicadores de doença	47
Classificação relativamente ao risco de desenvolver lesões de cárie	48
Considerações finais.....	49
Limitações e perspetivas futuras	51
5. Conclusões	52
6. Bibliografia	53
7. Anexos	57
Anexo 1 – Consentimento Informado.....	57
Anexo 2 – Questionário.....	60
Anexo 3 – Cálculo final.....	66
Anexo 4 – Protocolos laboratoriais.....	67

Índice de abreviaturas

CAMBRA- Caries management by risk assessment

ADA- American Dental Association

AAPD- American Academy of Pediatric Dentistry

CRA- Caries risk assessment

ICDAS- International Caries Detection and Assessment System

WHO- World Health Organization

FMD-UCP- Faculdade de Medicina Dentária da Universidade Católica de Viseu

CDU-UCP- Clínica Dentária Universitária da Universidade Católica Portuguesa

Índice de tabelas e figuras

Tabela 1. Tabela de comparação dos índices de cárie	7
Figura 1. Diferentes fatores que influenciam a doença de cárie (Imagem adaptada do Journal of the California Dental Association, de Featherstone et al., 2019).....	2
Figura 2. Definição dos códigos do segundo dígito do ICDAS (Tabela adaptada de Banava et al.,2012).....	10
Figura 3. Profundidade de sulco e fissuras. (Imagem adaptada do artigo Fissure Depth and Caries Incidence in First Permanent Molars: A Five-Year Follow-Up Study)	11
Figura 4. Distribuição da população de acordo com o gênero.	14
Figura 5. Histograma representativo da idade dos sujeitos da amostra.	15
Figura 6. Distribuição da amostra de acordo com os pacientes que utilizavam pasta dentífrica com flúor.	15
Figura 7. Distribuição da amostra de acordo com o número de escovagens com pasta fluoretada.....	16
Figura 8. Distribuição da amostra de acordo com a utilização de fio dentário.	16
Figura 9. Distribuição da amostra de acordo com a utilização de colutório com flúor (0,05% NaF).	17
Figura 10. Relação entre a utilização de fio dentário e a idade.	17
Figura 11. Relação entre a utilização de colutório com flúor e a idade.....	18
Figura 12. Distribuição da amostra relativamente à utilização de verniz de flúor nos últimos 6 meses.....	18
Figura 13. Distribuição da amostra de acordo com a utilização de pasta fluoretada com 5000ppm diariamente	19
Figura 14. Distribuição da amostra relativamente à utilização de flúor em forma de gel nos últimos 6 meses.....	19
Figura 15. Descrição da amostra relativamente à utilização de clorexidina, pelo menos 1 vez por semana, durante os últimos 6 meses.....	20
Figura 16. Distribuição da amostra relativamente à utilização de açúcar nos lanches entre as refeições.	20
Figura 17. Distribuição da amostra relativamente ao número de lanches com açúcar.	21
Figura 18. Distribuição da amostra relativamente à utilização de aparelho ortodôntico. ..	21
Figura 19. Distribuição da amostra relativamente à profundidade de sulcos e fissuras dos molares e pré-molares.	22
Figura 20. Distribuição da amostra relativamente à exposição radicular.	22
Figura 21. Relação entre a presença de exposição radicular e a idade.	23
Figura 22. Distribuição da amostra relativamente à análise do fluxo salivar não estimulado.	23
Figura 23. Distribuição da amostra relativamente à análise do fluxo salivar estimulado. .	24
Figura 24. Distribuição da amostra relativamente à presença de algum fator que pode afetar o fluxo salivar.....	24
Figura 25. Distribuição da amostra relativamente à utilização de drogas recreativas.....	25
Figura 26. Distribuição da amostra relativamente ao pH salivar.	25
Figura 27. Distribuição da amostra relativamente a 16S rRNA qPCR.	26
Figura 28. Distribuição da amostra relativamente ao histórico de tratamentos relacionado a cárie durante os últimos 3 anos (restaurações, tratamento endodôntico radical, extrações).....	27
Figura 29. Relação entre o histórico de tratamentos relacionados com cárie e a idade. ..	27
Figura 30. Distribuição da amostra relativamente à presença de lesões de cárie iniciais (ICDAS 1-2).	28

Figura 31. Distribuição da amostra relativamente à presença de lesões de cárie moderadas (ICDAS 3-4).	28
Figura 32. Distribuição da amostra relativamente à presença de lesões de cárie extensas (ICDAS 5-6).	29
Figura 33. Relação entre a presença de lesões de cárie extensas (ICDAS 5-6) e a idade.	29
Figura 34. Distribuição da amostra relativamente à presença de lesões ativas.....	30
Figura 35. Distribuição da amostra relativamente à experiência de cárie.	30
Figura 36. Relação entre a experiência de cárie e a idade.	31
Figura 37. Relação entre a experiência de cárie e o número de escovagens com pasta dentífrica fluoretada.	32
Figura 38. Relação entre a experiência de cárie e o número de escovagens com pasta dentífrica fluoretada.	32
Figura 39. Relação entre a experiência de cárie e o pH da saliva.	33
Figura 40. Classificação relativamente ao risco de desenvolver lesões de cárie.....	33
Figura 41. Relação entre o risco de desenvolver lesões de cárie e a idade.	34
Figura 42. Relação entre o risco de desenvolver lesões de cárie e o número de escovagens com pasta fluoretada.	35
Figura 43. Relação entre o risco de desenvolver lesões de cárie e o número de escovagens com pasta fluoretada.	35
Figura 44. Relação entre o risco de desenvolver lesões de cárie e utilização de colutório com flúor (0,05% NaF).....	36
Figura 45. Relação entre o risco de desenvolver lesões de cárie e o número de lanches com açúcar.	36
Figura 46. Relação entre o risco de desenvolver lesões de cárie e o fluxo salivar não estimulado.	37
Figura 47. Relação entre o risco de desenvolver lesões de cárie e o histórico de tratamentos decorrentes de lesões de cárie durante os últimos 3 anos.	38
Figura 48. Relação entre o risco de desenvolver lesões de cárie e a presença de lesões de cárie ativa.	38
Figura 49. Relação entre o risco de desenvolver lesões de cárie e a experiência de cárie.	39

1. INTRODUÇÃO

A cárie é a principal doença crónica a afetar o ser humano (1). Visto que as pessoas vivem mais tempo e conservam mais a dentição natural, é primordial identificar os fatores de risco para atuar de forma efetiva no tratamento das lesões de cárie (2). Trata-se de uma doença progressiva, caracterizada pela exposição prolongada a um meio ácido, iniciada por atividade microbiana à superfície, que resulta em perda de minerais das estruturas que constituem o dente (3,4).

A lesão cariosa resulta da interação entre bactérias acidogénicas, biofilme e fatores de risco individuais, diferente da ideia do modelo clássico “*one pathogen-one disease*” onde o objetivo era o tratamento das consequências da patologia, e não da doença em si (3). Atualmente a estratégia de atuação na cárie envolve a análise de todos os fatores de risco para determinar quais potenciam a doença e assim adequar a terapêutica para evitar a sua progressão (5). É importante para a sua gestão, avaliar tanto os parâmetros qualitativos como os quantitativos, mas também as diferentes relações entre os microrganismos e o efeito desse sinergismo (5).

De todas as bactérias com capacidade de colonizar, produzir ácidos e induzir cáries, a *Streptococcus mutans* é o principal agente responsável pelo desenvolvimento da cárie dentária (6). Esta desempenha um papel importante no início das lesões, embora não signifique necessariamente que a sua presença leve ao desenvolvimento de um processo carioso (7).

O eventual desenvolvimento da cárie dentária depende da relação entre a desmineralização e a remineralização na superfície dentária, sendo que quando os fatores patológicos se sobrepõem aos fatores de proteção, inicia-se uma lesão de cárie (8,9). É importante equilibrar os fatores patológicos com os fatores de proteção para impedir a iniciação e progressão destas lesões (9).

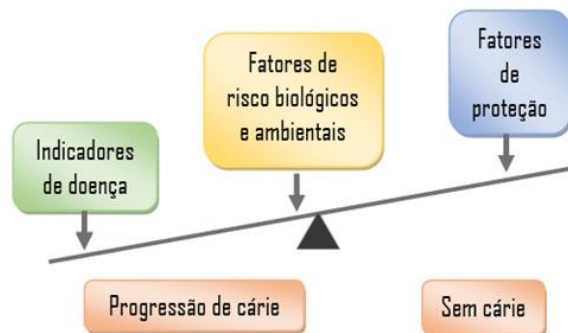


Figura 1. Diferentes fatores que influenciam a doença de cárie (Imagem adaptada do Journal of the California Dental Association, de Featherstone et al., 2019).

O microbioma oral contribui para a saúde do hospedeiro, e previne infecções por microrganismos exógenos potencialmente patogênicos, impossibilitando a sua ligação e, conseqüentemente, impede-os de causarem infecção. Além disso, ajuda na regulação da resposta inflamatória das bactérias comensais na cavidade oral (10).

A relação de sinergismo entre a microbiota e o hospedeiro é um processo dinâmico. Qualquer alteração considerável que ocorra no biofilme oral pode afetar a atividade metabólica dos microrganismos, e levar a um desequilíbrio na microflora, denominado de disbiose, aumentando a suscetibilidade de desenvolver um processo cariioso (7,10).

Não são os microrganismos que levam ao aumento do risco de cárie, mas sim as conseqüências das interações entre eles (7). A relação de antagonismo entre as bactérias comensais e as bactérias cariogênicas é um fator fundamental que afeta a composição e ecologia do biofilme. Algumas bactérias conseguem diminuir a acidificação da placa bacteriana e, conseqüentemente, interferir com o crescimento e virulência dos microrganismos patogênicos (11).

A competição entre os colonizadores iniciais da cavidade oral e a diversidade de espécies cariogênicas é um biomarcador preponderante para determinar o risco de cárie, pois uma maior quantidade de bactérias cariogênicas pode levar à disbiose, potenciando o desenvolvimento destas lesões (12).

Em indivíduos saudáveis, as bactérias que predominam na cavidade oral são as comensais, tais como *S. gordonii*, *S. sanguinis* e *S. parasanguinis*, que apesar de eventualmente poderem causar algum problema em alguma área do corpo, na cavidade oral a elevada proporção das mesmas, está associada à saúde oral. Estas espécies carioprotetoras controlam a população de espécies cariogénicas pela produção de produtos alcalinos, tais como peróxido de hidrogénio e outras substâncias inibitórias (13). Não obstante, em condições de disbiose, a produção de ácido láctico, faz com que ocorra uma competição de espécies bacterianas, diminuindo a quantidade de espécies que não são ácido-tolerantes e favorecendo o crescimento e metabolismo de espécies cariogénicas. Assim, para este desequilíbrio ocorrer, a favor do desenvolvimento das cáries, não é suficiente apenas a presença destas espécies patogénicas, mas também a constante ingestão de açúcares é substancial (12).

Uma dieta rica em açúcares fornece o substrato ideal para as bactérias cariogénicas, influenciando na produção de ácidos, na alteração no tipo e quantidade de biofilme, interferindo na composição microbiana, podendo afetar a qualidade e quantidade da saliva produzida (14).

A saliva tem a capacidade de manter o pH, funcionando como solução tampão e promovendo a remineralização dentária. Para além disso, atua como uma barreira permeável e seletiva que vai diminuir a desmineralização. A saliva tem ainda a capacidade de remoção mecânica de resíduos alimentares (15).

A xerostomia, que é a diminuição do fluxo salivar, pode ocorrer como efeito adverso da exposição à radiação na cabeça e pescoço, bem como efeito adverso a algumas medicações e desordens sistémicas. Um paciente com estas condições, perde a capacidade natural de proteção e remineralização pela falta de iões de cálcio e fosfato na saliva, e para compensar, necessita de medidas adicionais (15).

A exposição ao flúor reduz a incidência de novas lesões de cárie e controla as existentes, através da modificação do metabolismo bacteriano pela inibição de alguns processos enzimáticos (16). Além disso inibe os produtos ácidos pela modificação da

microflora e/ou a atividade metabólica dos microrganismos, diminui a desmineralização pela redução da solubilidade do esmalte e promove a remineralização nos estágios iniciais do processo carioso (17).

Considerando a proporção de lesões de cárie não tratadas e o seu impacto na qualidade de vida, é essencial identificar os pacientes com essas lesões e detetar aqueles com potencial de risco elevado (18). Além da dor e desconforto causado por essas lesões, as cáries dentárias também podem estar associadas a potenciais efeitos sistêmicos (19). Alguns autores concluíram que *Streptococcus mutans* está relacionado com a maioria das endocardites bacterianas (20).

Existe a necessidade de priorizar a prevenção e promoção de saúde oral, de maneira a diminuir a prevalência da cárie dentária e as suas consequências (21). As restaurações dentárias não são permanentes, com o tempo ocorrem infiltrações e, conseqüentemente, precisam de ser substituídas e mais estrutura dentária terá de ser removida. Muitas vezes é necessário tratamento endodôntico que acaba por fragilizar ainda mais o remanescente dentário, o que leva posteriormente a necessidade de uma reabilitação protética, levando no limite à remoção cirúrgica e eventual colocação de implante para restabelecer a estética e a função. É essencial não entrar neste ciclo patológico para preservar ao máximo a estrutura dentária e evitar custos acrescidos (5).

Historicamente, a atuação perante as lesões de cárie iniciais baseava-se na ideia de que o tratamento da cárie é um processo progressivo que acabaria por destruir o dente, a menos que efetuassem o tratamento restaurador. Ainda é comum alguns profissionais atuarem dessa maneira perante estas lesões, apesar das evidências científicas demonstrarem que a remoção destas lesões não alteram o processo da doença (22). Se os fatores que levaram à lesão não forem controlados, o processo carioso vai acabar por voltar (23).

É fundamental efetuar um bom diagnóstico clínico ao nível de progressão das lesões cariosas para intervir de forma conservadora (24). O diagnóstico de lesões incipientes permite-nos reverter ou interromper o processo, através da modificação

dos fatores patológicos ou pela aplicação de medidas preventivas, preservando estrutura dentária (22).

Os indicadores de doença (lesões de mancha branca, alterações da translucidez, cavitações) não indicam o que causou a doença nem como a tratar, apenas permitem avaliar a existência ou não da doença. É o ambiente local que determina como o biofilme se comportará na superfície do dente e se a doença é grave o suficiente para resultar em desmineralização, onde há uma maior perda de minerais em relação aos que se ganham (25).

Atualmente com a facilidade de acesso a cuidados de saúde oral, os indivíduos conservam ao máximo a dentição natural. Com a idade é normal o aparecimento de recessões gengivais. Estas funcionam como áreas retentivas para a retenção de placa, e, conseqüentemente, para a colonização bacteriana, tornando os indivíduos mais suscetíveis ao desenvolvimento de lesões de cárie (16).

Além destes fatores de risco, a morfologia interna dos sulcos dos dentes posteriores, dependendo da profundidade, também influencia nas condições para o crescimento bacteriano (26).

A avaliação do risco de cárie é essencial para encontrar indivíduos mais propensos a desenvolver estas lesões e assim individualizar o plano de tratamento, fornecendo medidas preventivas para evitar o aparecimento ou progressão da doença (26). Além disso, ajuda a preconizar a frequência de consultas e a necessidade ou não de meios complementares de diagnóstico (27).

Hoje em dia, há vários métodos de avaliação do risco de cárie, tais como: Cariogram, CAMBRA, ADA CRAs e AAPD CRAs (9). O protocolo CAMBRA® (Caries Management by Risk Assessment) foi desenvolvido em 2002 na Califórnia, sendo orientado para a prevenção, reversão e intervenção quando necessária (22).

O CAMBRA é uma representação visual da relação entre os fatores de risco, fatores de proteção e indicadores de doença. O equilíbrio ou desequilíbrio entre estes

fatores vai determinar se a doença estabiliza, progride ou é revertida (28,29). Quando os fatores de risco patológicos prevalecem, a probabilidade da doença progredir é elevada, quando os fatores de proteção prevalecem, as lesões de cárie estabilizam ou revertem, dependendo do estágio da lesão (30).

O CAMBRA não indica o número de cáries que podem ocorrer no futuro, mas sim o potencial cenário de risco. Serve de ferramenta para educar os pacientes através da discussão sobre os fatores de risco, mas também para efetuar um plano para promover hábitos protetores e serve de motivação para modificar comportamentos (26,31). Além disso, este plano personalizado, indica a periodicidade de consultas de acordo com o risco de cárie do paciente (32).

Deste modo foi proposto um estudo na Faculdade de Medicina Dentária com os seguintes objetivos:

- Desenvolver um índice de avaliação do risco de cárie com base no CAMBRA, modificado pela adição e/ou modificação dos fatores analisados;
- Aplicar o índice aos pacientes que frequentam a clínica da FMD-UCP durante 2 anos;
- Avaliar os fatores com maior valor preditivo no risco de cárie;
- Desenvolver uma aplicação *chairside* que facilite a avaliação do risco de cárie.

O cumprimento de todos estes objetivos é incompatível com a realização de uma dissertação durante um ano letivo, assim sendo no presente trabalho os objetivos a cumprir são:

- Desenvolver um índice de avaliação do risco de cárie com base no CAMBRA, modificado pela adição e/ou modificação dos fatores analisados;
- Aplicar o índice aos pacientes que frequentam a clínica da FMD-UCP durante março e abril de 2022;
- Identificar necessidades de modificação na recolha de informação para cálculo do índice;
- Verificar a exequibilidade e otimizar a recolha de informação na Clínica Dentária Universitária.

2. Materiais e métodos

Caracterização do estudo

O presente estudo é do tipo observacional transversal, estando incluído num estudo longitudinal, realizado com base na aplicação de um questionário ao paciente, numa avaliação intraoral, e na recolha de amostras de saliva e de biofilme. Com isto, pretende-se desenvolver um índice para avaliar o risco de cárie dentária, baseado no CAMBRA. A amostra consistiu em pacientes que frequentaram a CDU-UCP durante o período de recolha.

Proposta de índice

Tabela 1. Tabela de comparação dos índices de cárie.

	CAMBRA	CAMBRA 123	Cariograma	Proposta de índice
Indicadores de doença	Cárie em esmalte	Cárie em esmalte	CPOD	Cáries iniciais (ICDAS 1-2)
	Cárie em dentina	Cárie em dentina		Cáries moderadas (ICDAS 3-4)
	Lesões de mancha branca	Lesões de mancha branca		Cáries extensas (ICDAS 5-6)
	Histórico de restaurações nos últimos 3 anos	Histórico de restaurações nos últimos 3 anos		Histórico de restaurações/TER/extrações nos últimos 3 anos
Dieta - Frequência	Sim	Sim	Sim	Sim
Dieta - Conteúdo	Não	Não	Sim	Sim
Percentagem de placa	Sim (análise clínica)	Sim (análise clínica)	Sim (análise clínica)	Sim (análise microbiológica – Quantificação da carga bacteriana total)
Fatores de proteção	Área com fluoretação das águas	Área com fluoretação das águas	Quantidade de fluor?	Área com fluoretação das águas
	Pasta fluoretada 1x p/dia	Pasta fluoretada 1x p/dia		Pasta fluoretada 1x p/dia
	Pasta fluoretada 2x p/dia	Pasta fluoretada 2x p/dia		Pasta fluoretada 2x p/dia
	Colutório com fluor (0,05% NaF)	Colutório com fluor (0,05% NaF)		Colutório com fluor (0,05% NaF)
	Pasta fluoretada 5000 ppm	Pasta fluoretada 5000 ppm		Pasta fluoretada 5000 ppm
	Verniz de fluor nos últimos 6 meses	Verniz de fluor nos últimos 6 meses		Verniz de fluor nos últimos 6 meses
	Fluor em gel nos últimos 6 meses	Fluor em gel nos últimos 6 meses		Fluor em gel nos últimos 6 meses
	Prescrição de clorhexidina	Prescrição de clorhexidina		Prescrição de clorhexidina
Profundidade de sulcos e fissuras	Sim	Sim	Não	Sim
Exposição radicular	Sim	Sim	Não	Sim
Fatores que podem afetar o fluxo salivar	Sim	Sim	Sim	Sim
Aparelho ortodôntico	Sim	Sim	Não	Sim
Uso de drogas recreativas	Sim	Sim	Não	Sim
Fluxo salivar	Sim	Sim	Sim	Sim
Ph salivar	Não	Não	Sim	Sim
Quantidade de bactérias cariogénicas	Sim. (<i>Streptococcus mutans</i> e <i>Lactobacilos</i>)	Não	Sim. (<i>Streptococcus mutans</i> e <i>Lactobacilos</i>)	Sim. (<i>Streptococcus mutans</i> e <i>Lactobacilos</i>)
Quantidade de bactérias carioprotetoras	Não	Não	Não	Sim. (<i>Streptococcus gordonii</i> e <i>Streptococcus salivarius</i>)
Julgamento clínico	Não	Não	Sim	Não

	Fator analisado nesse índice
	Fator não analisado nesse índice
	Fator adicionado/modificado relativamente ao CAMBRA

A tabela representa os fatores analisados em cada índice. Foi utilizado para comparar a versão original do CAMBRA, a versão CAMBRA 123 e o Cariograma, que são os índices mais utilizados atualmente, pela sua eficácia comprovada (33). Apesar de haver muitos fatores comuns entre as duas propostas do CAMBRA e o Cariograma ainda assim há fatores que não são avaliados por nenhum dos índices, daí a necessidade de adicionar: a avaliação do conteúdo de açúcar na variável que avalia a frequência de lanches, também, a utilização de fio dentário, a avaliação das bactérias carioprotetoras, a quantificação da carga molecular de 16sRNA bacteriano, e o pH salivar.

Após uma revisão de literatura, analisamos os fatores de cada índice e selecionamos aqueles que queríamos manter, remover, modificar ou adicionar, utilizando como base o índice do CAMBRA, pela sua objetividade e eficácia na determinação do risco de cárie (9).

Caracterização da amostra

Este estudo foi realizado tendo por base uma amostra constituída por pacientes que frequentaram a Clínica Dentária da Universidade Católica Portuguesa de Viseu, tendo sido estabelecidos os seguintes critérios de inclusão/exclusão.

Critérios de inclusão: pacientes que frequentaram a clínica dentária durante o período de recolha de dados, com idade igual ou superior a 18 anos e que aceitaram participar voluntariamente no estudo.

Critérios de exclusão: foram considerados excluídos os pacientes que não preencheram o consentimento informado, apresentavam idade inferior a 18 anos, tivessem realizado terapia antibiótica nos últimos 3 meses e que tivessem realizado a higiene oral/ingerido alimentos num espaço de tempo inferior a 1 hora antes da recolha.

Princípios éticos

De acordo com os critérios estabelecidos, os indivíduos que recorreram à clínica da universidade para realizar tratamento dentários, foram convidados a participar e a assinar o consentimento informado (anexo 1). A confidencialidade foi garantida. O uso dos dados recolhidos para o presente estudo é exclusivo para esta investigação e é garantido o anonimato, pelo que, a identificação dos participantes nunca será tornada pública. Os participantes também foram informados que podiam desistir a qualquer momento deste estudo.

Treino e calibração

Como a recolha de dados foi realizada por dois investigadores (pelo autor da monografia e pelo 2º investigador que vai dar continuidade ao estudo), foi efetuada uma calibração intra e inter-examinadores, para utilização do ICDAS II.

A calibração foi dividida em três fases: A) Revisão da literatura e do protocolo proposto pelo comitê do ICDAS II. B) Apresentação de slides exemplificando cada código dos critérios por meio de fotografias de casos clínicos. C) Foram realizadas calibrações em alunos do Mestrado Integrado em Medicina Dentária que se voluntariaram para o efeito.

Durante o mês de fevereiro de 2022, os examinadores participaram também num Workshop de Recolha e Processamento de Saliva (organizado pelo laboratório SalivaTec) onde foram abordados protocolos e boas práticas ao lidar com este tipo de amostras, embora à posteriori tenham sido tratadas e armazenadas pelo SalivaTec.

Recolha da amostra

A recolha de dados foi realizada entre os meses de março e abril na clínica universitária, no início de cada consulta.

Esta recolha foi dividida em quatro fases. Numa primeira fase foi aplicado um questionário do tipo entrevista e registado na plataforma Qualtrics, após o qual foi realizado um exame clínico intraoral. Posteriormente, foi efetuada uma colheita de saliva e determinado o fluxo salivar bem como o pH. Por fim, realizou-se a recolha de biofilme oral.

Fase 1 – Questionário

Foi utilizado um pequeno questionário sobre hábitos nutricionais, saúde geral e hábitos de higiene oral da população em estudo, o que nos permitiu recolher algumas informações importantes sobre o comportamento dos pacientes. Mais tarde, esta informação foi incluída nas variáveis que integram o índice de risco de cárie a ser testado (Anexo 2).

Fase 2 – Exame clínico

A inspeção oral consistiu na avaliação quanto à presença de cáries dentárias e relativamente a profundidade de sulcos e fissuras. As cáries dentárias foram avaliadas através do Sistema Internacional para a Detecção e Avaliação de Cáries (ICDAS II) (34).

Código	Definição
Código 0	Superfície dentária intacta e sem lesões
Código 1	Cavidade incipiente em esmalte
Código 2	Alteração visual em esmalte
Código 3	Cavidade em esmalte, sem dentina envolvida
Código 4	Sombra de lesão sem cavidade
Código 5	Cavidade distinta à volta de uma restauração ou selante, >0,5mm
Código 6	Cavidade muito extensa, com exposição de dentina

Figura 2. Definição dos códigos do segundo dígito do ICDAS (Tabela adaptada de Banava et al., 2012).

Morfologicamente, a superfície oclusal dos molares e pré-molares é caracterizada pela presença de sulcos (35). Dente com sulcos rasos, forma um “ângulo V” maior que 70°, e a ponta da sonda WHO atinge a base do sulco. Dente

com sulcos profundos, forma um “ângulo V” menor que 70°, e a ponta da sonda WHO não penetra na base do sulco.

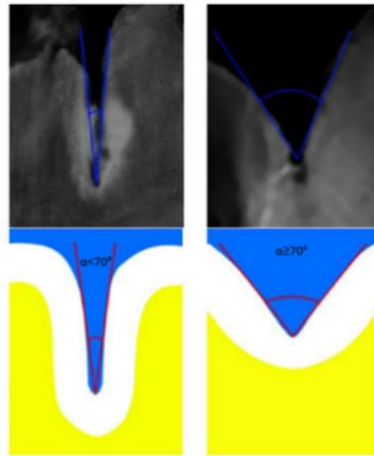


Figura 3. Profundidade de sulco e fissuras. (Imagem adaptada do artigo *Fissure Depth and Caries Incidence in First Permanent Molars: A Five-Year Follow-Up Study*)

Esta observação foi realizada com recurso a espelho intraoral, sonda WHO e material de proteção individual.

Fase 3 – Recolha de saliva

Para que as colheitas decorressem de forma estandardizada foram seleccionados os pacientes que não realizaram a higiene oral nem ingeriram alimentos até 1 hora antes da recolha (critério de exclusão).

Mais tarde, com o paciente sentado numa posição relaxada, foi feita a recolha de saliva não estimulada pelo método de expelição.

Durante a mesma, foi pedido ao paciente para acumular saliva na cavidade oral e para expelir consecutivamente para um tubo graduado, durante 1 minuto. O tempo foi medido com um temporizador digital.

Se o valor do fluxo salivar na ausência de estímulo foi moderado (0,3-0,7ml/min), foi também avaliado o fluxo salivar com estímulo, com recurso a uma pastilha de Parafilm CRT® Buffer, mastigada durante 30s, tendo sido realizada a posterior expelição da saliva para um tubo graduado, durante 1 minuto.

Através da saliva recolhida, foi avaliado o pH, com o auxílio de um eletrodo de medição de pH [Hannah Instruments HI1083] fornecido pelo laboratório da faculdade SalivaTec, que indica com bastante precisão o nível de acidez da saliva. Antes da medição, o eletrodo foi lavado com água Mili-Q (água destilada, filtrada e purificada).

Após estes procedimentos, cada um dos tubos foi fechado, e transportado para o laboratório SalivaTec, onde foi avaliada a composição microbiológica da saliva. As amostras foram pré processadas sendo alíquotadas e conservadas a -80°C. Para este trabalho foi realizado um qRT-PCR com primers universais para bactérias de forma a calcular a carga total bacteriana nas amostras de saliva dos pacientes (anexo 4).

Fase 4 – Recolha de biofilme

A recolha para ser realizada de forma uniformizada foi realizada em locais distintos da cavidade oral, previamente determinados. O primeiro local de recolha é no espaço interincisivo inferior por vestibular e lingual, depois em vestibular dos incisivos superiores, num 1º molar superior por vestibular e num 1º molar inferior por lingual.

No caso de ausência do 1º molar permanente a recolha foi realizada no dente mais posterior.

A recolha foi feita com um palito estéril, que após ser utilizado na raspagem do biofilme foi colocado numa solução salina dentro de um tubo graduado. Posteriormente, todas as amostras foram conservadas a -80° até que a fase laboratorial se iniciasse.

As amostras de biofilme não foram processadas no âmbito deste trabalho pois serão ainda necessárias otimizações da extração do DNA. No entanto foi essencial a recolha destas amostras para possibilitar o estudo longitudinal que se preconiza no ano seguinte.

Análise estatística

Os dados obtidos foram transferidos para uma folha de cálculo do programa Microsoft Office Excel®. Mais tarde, foram introduzidos no programa IBM SPSS Statistics, formando assim a base de dados onde foi realizada toda a análise dos dados.

Obtivemos a análise dos dados utilizando a estatística descritiva adequada a cada variável, através da análise de frequências absolutas e relativas. Para avaliar a associação entre as variáveis recorreu-se ao teste exato de Fisher, no qual utilizamos como nível de significância 0,05 (apenas incluímos nos resultados as variáveis com uma relação estatisticamente significativa).

3. Resultados

Caracterização demográfica da amostra em estudo

A população selecionada para este estudo consistiu numa amostra de conveniência, uma vez que foram eleitos todos os pacientes disponíveis, que frequentaram a Clínica da Universidade Católica de Viseu durante o período de recolha de dados. A amostra deste estudo é constituída por 80 pacientes, que cumpriram os critérios de exclusão/inclusão definidos previamente às recolhas.

Como podemos constatar no gráfico seguinte 37,50% dos pacientes (n=30) são do género masculino e 62,50% (n=50) do género feminino.

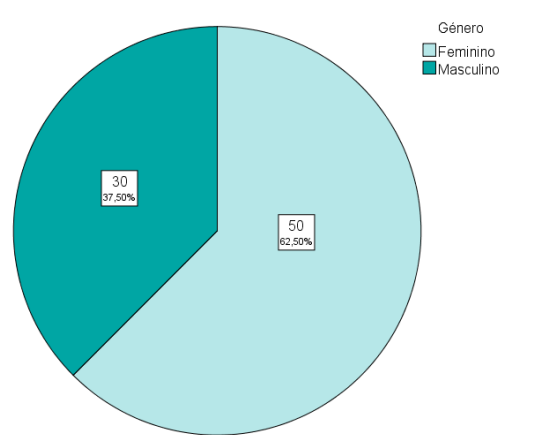


Figura 4. Distribuição da população de acordo com o género.

Relativamente à idade, a recolha incidiu perante uma população adulta, sendo que a média de idades é 36,85 anos, no entanto, tem uma grande variedade de idades na amostra, uma vez que o indivíduo mais novo que participou neste estudo tinha 19 anos e o mais velho 79 anos.

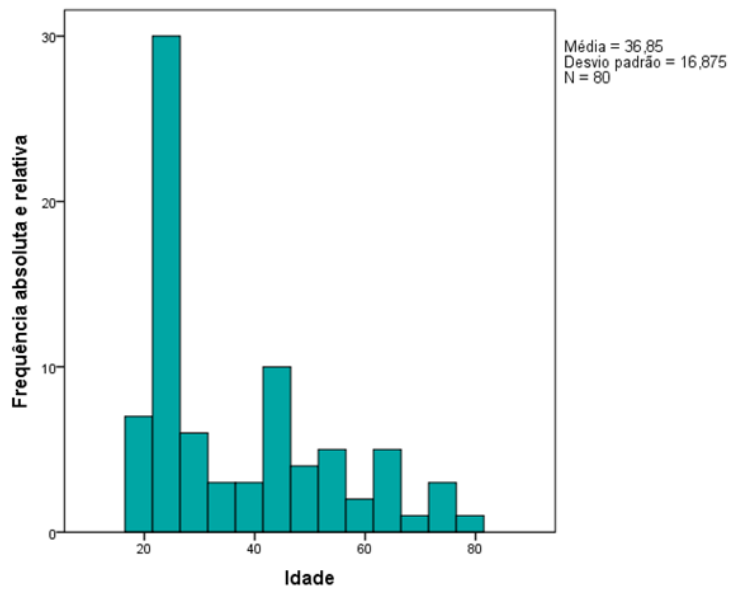


Figura 5. Histograma representativo da idade dos sujeitos da amostra.

Caracterização dos hábitos de higiene oral

Durante a recolha de informação questionou-se os pacientes se estes escovavam ou não os seus dentes com uma pasta fluoretada.

Os resultados obtidos mostram que a maioria dos pacientes escovava os dentes com uma pasta fluoretada (96,25%, n=77) (figura 6).

Em relação ao número de escovagens, desses 77 pacientes que utilizavam pasta fluoretada, 6,49% (n=5) escovavam 1 vez por dia e os restantes 93,51% (n=72) escovavam 2 vezes ou mais por dia (figura 7).

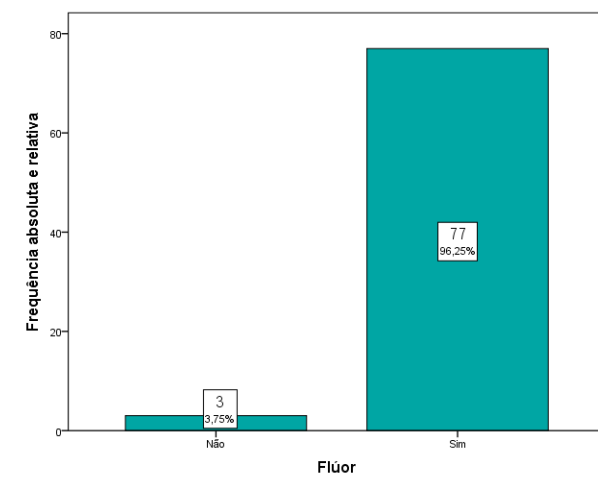


Figura 6. Distribuição da amostra de acordo com os pacientes que utilizavam pasta dentífrica com flúor.

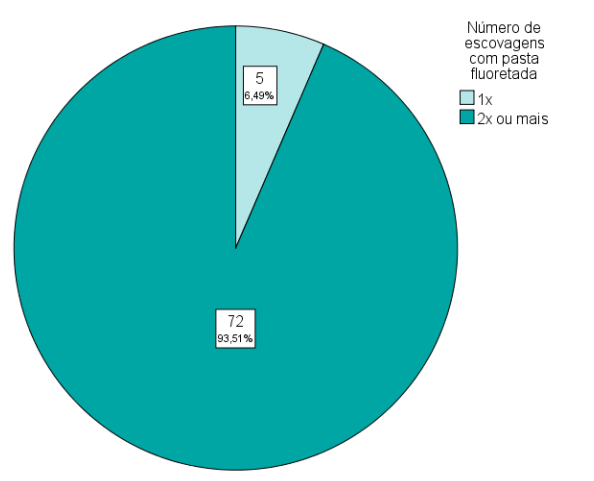


Figura 7. Distribuição da amostra de acordo com o número de escovagens com pasta fluoretada.

De modo a obter informação mais detalhada relativamente aos hábitos de higiene oral, os pacientes foram questionados acerca da utilização diária de fio dentário, bem como a utilização de colutório com flúor.

Como podemos verificar na figura 8, 57,50 % (n=46) utilizava diariamente fio dentário, e 42,50% (n=34) utilizava diariamente colutório com flúor (figura 9).

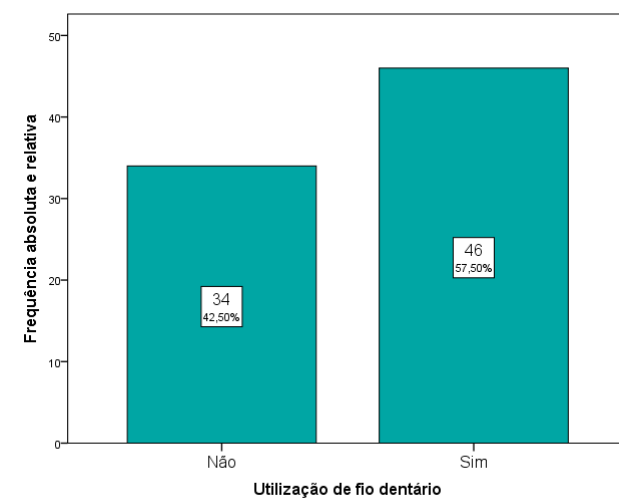


Figura 8. Distribuição da amostra de acordo com a utilização de fio dentário.

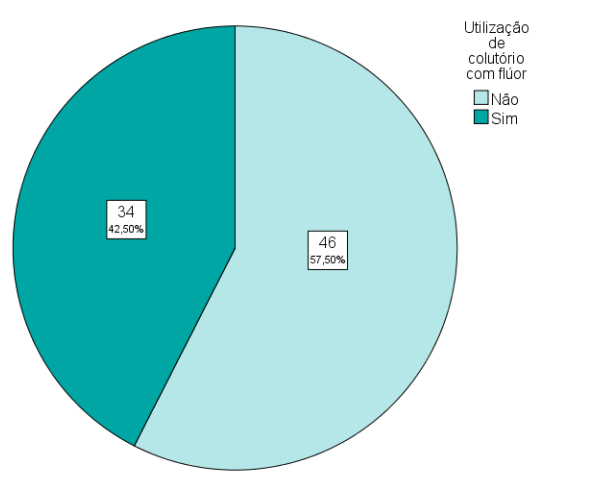


Figura 9. Distribuição da amostra de acordo com a utilização de colutório com flúor (0,05% NaF).

A distribuição da utilização de fio dentário com a idade foi analisada, e para tal, utilizou-se o teste exato de Fisher ($p=0,003$), logo, as variáveis estão significativamente relacionadas, onde a porcentagem de indivíduos que utilizava fio dentário está relacionada com a população mais jovem da amostra, isto também se verifica com a utilização de colutório com flúor ($p=0,013$) (figura 10 e 11).

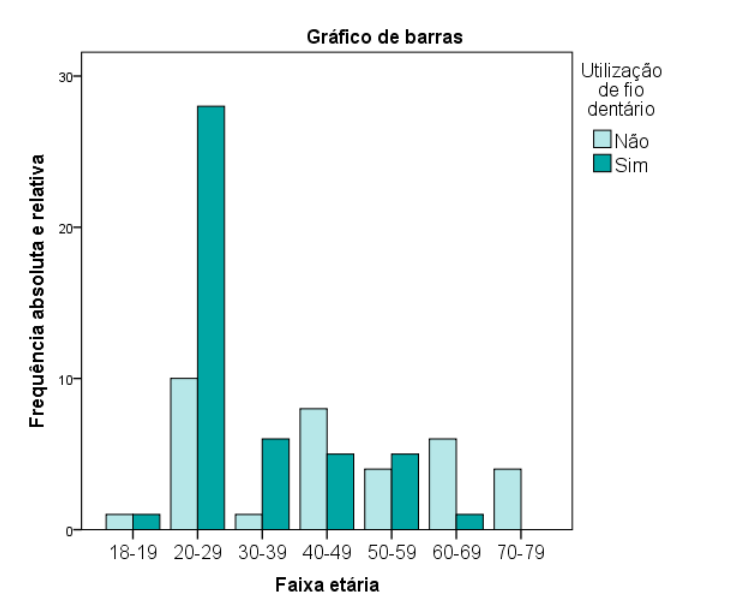


Figura 10. Relação entre a utilização de fio dentário e a idade.

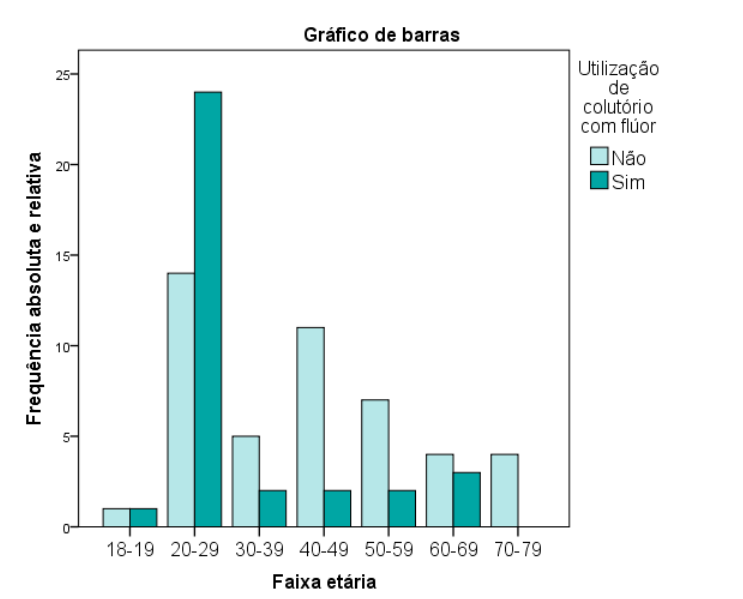


Figura 11. Relação entre a utilização de colutório com flúor e a idade.

Também quando questionados quanto a uma eventual aplicação de verniz de flúor em consultório, durante os últimos 6 meses, bem como o uso de uma pasta fluoretada com 5000ppm, no mesmo período de tempo, verificou-se que apenas uma percentagem muito reduzida (1,25%, n=1) fez essa aplicação, sendo que se tratava do mesmo paciente nas duas situações (figura 12 e 13).

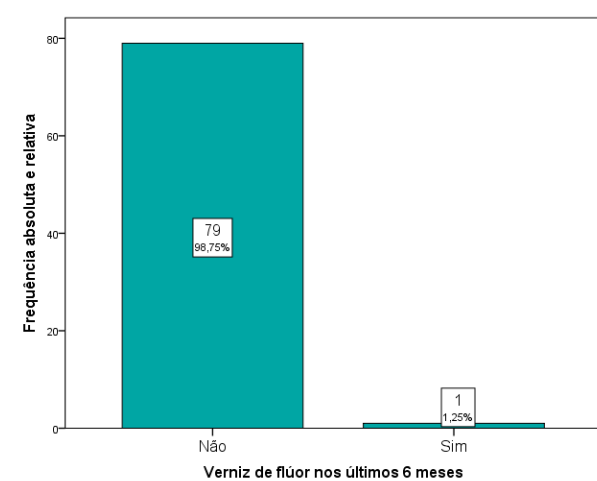


Figura 12. Distribuição da amostra relativamente à utilização de verniz de flúor nos últimos 6 meses.

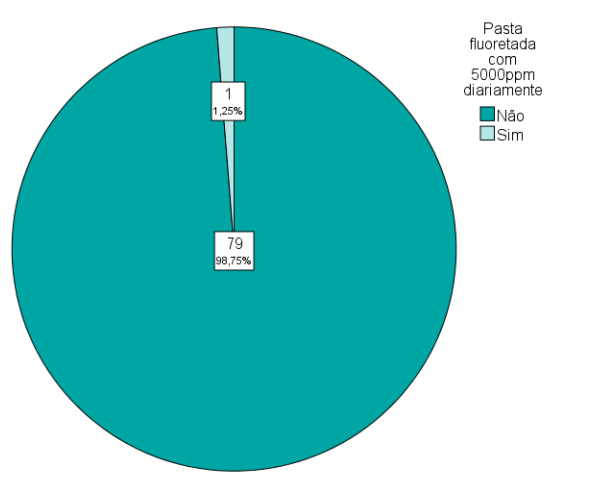


Figura 13. Distribuição da amostra de acordo com a utilização de pasta fluoretada com 5000ppm diariamente

Para além da aplicação de flúor em verniz, foi questionado sobre outro método de aplicação do mesmo. Desta vez, a aplicação de gel em moldeira no consultório durante os últimos 6 meses, sendo que nenhum dos pacientes efetuou (figura 14). No que diz respeito à utilização de clorexidina, também nenhum dos intervenientes no estudo referiu utilizar no período definido (figura 15).

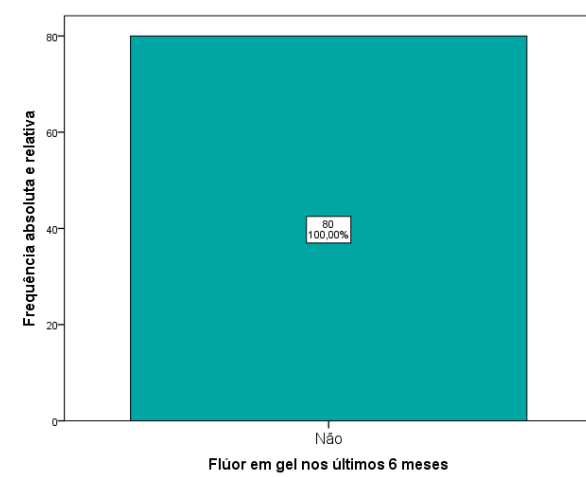


Figura 14. Distribuição da amostra relativamente à utilização de flúor em forma de gel nos últimos 6 meses.

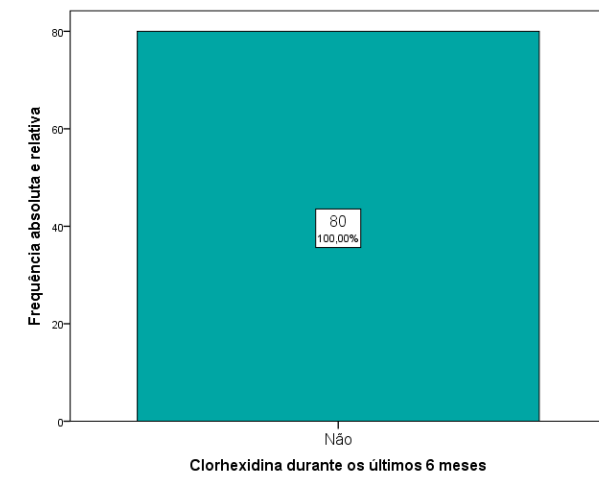


Figura 15. Descrição da amostra relativamente à utilização de clorexidina, pelo menos 1 vez por semana, durante os últimos 6 meses.

Caracterização dos hábitos alimentares

É importante relacionar a frequência de lanches, entre as refeições, com a ingestão de açúcar, para uma melhor avaliação do risco de cárie dentária. Os resultados obtidos mostram que 60% (n=48) utilizava açúcar nos lanches entre as refeições principais (figura 16). Sendo que dos 48 pacientes, 45,83% (n=22) fazia-o 1 vez por dia, 45,83% (n=22) utilizava 2 vezes por dia, 6,25% (n=3) utilizava 3 vezes por dia e 2,08% (n=1) utilizava 4 vezes ou mais (figura 17).

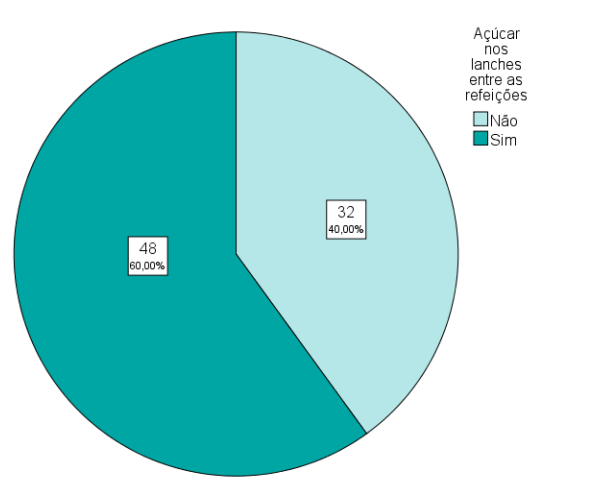


Figura 16. Distribuição da amostra relativamente à utilização de açúcar nos lanches entre as refeições.

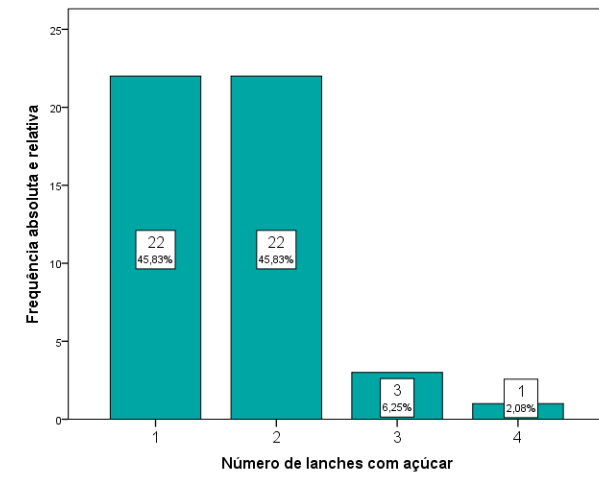


Figura 17. Distribuição da amostra relativamente ao número de lanches com açúcar.

Caracterização de fatores que predispõem a acumulação de placa bacteriana

Uma vez que os pacientes que utilizam aparelho ortodôntico têm maior predisposição à retenção de placa bacteriana, foi essencial avaliar este fator. Assim, dos pacientes que participaram no estudo, 1,25% (n=1) utilizava aparelho ortodôntico (figura 18). Já em relação à profundidade dos sulcos dos molares e pré-molares, fator que pode potenciar a acumulação de placa bacteriana, dos pacientes que participaram no estudo, 93,75% (n= 75) apresentavam sulcos rasos, em oposição 6,25% (n=5) apresentavam sulcos profundos (figura 19).

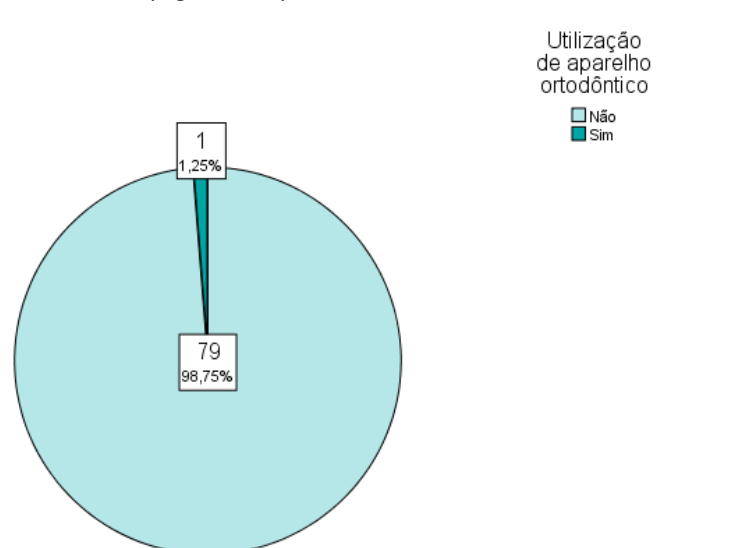


Figura 18. Distribuição da amostra relativamente à utilização de aparelho ortodôntico.

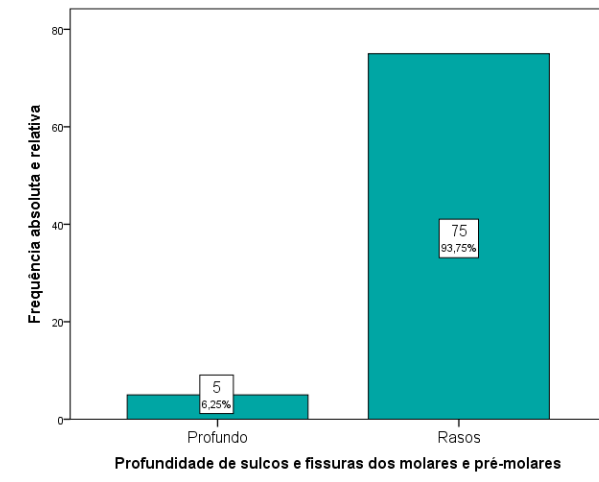


Figura 19. Distribuição da amostra relativamente à profundidade de sulcos e fissuras dos molares e pré-molares.

Outro fator que pode potenciar a acumulação de placa bacteriana é a exposição radicular. Dos 80 participantes, 11,25% (n=9) apresentava exposição radicular (figura 20).

A distribuição da presença de exposição radicular com a idade foi analisada, com recurso ao teste exato de Fisher ($p < 0,001$), logo, as variáveis estão significativamente relacionadas, onde a percentagem de indivíduos com exposição radicular está relacionada com a população com mais idade da amostra (figura 21).

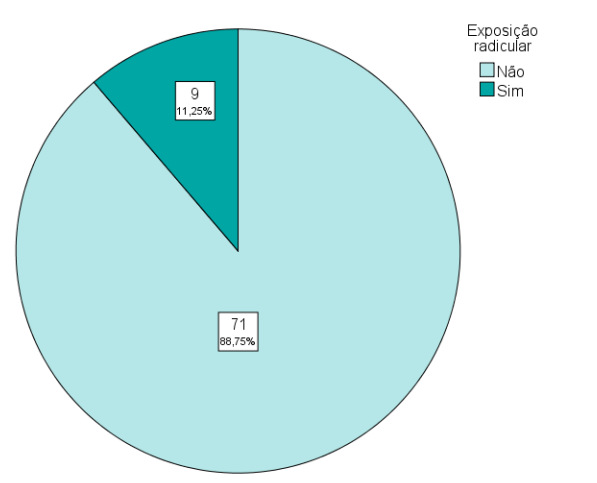


Figura 20. Distribuição da amostra relativamente à exposição radicular.

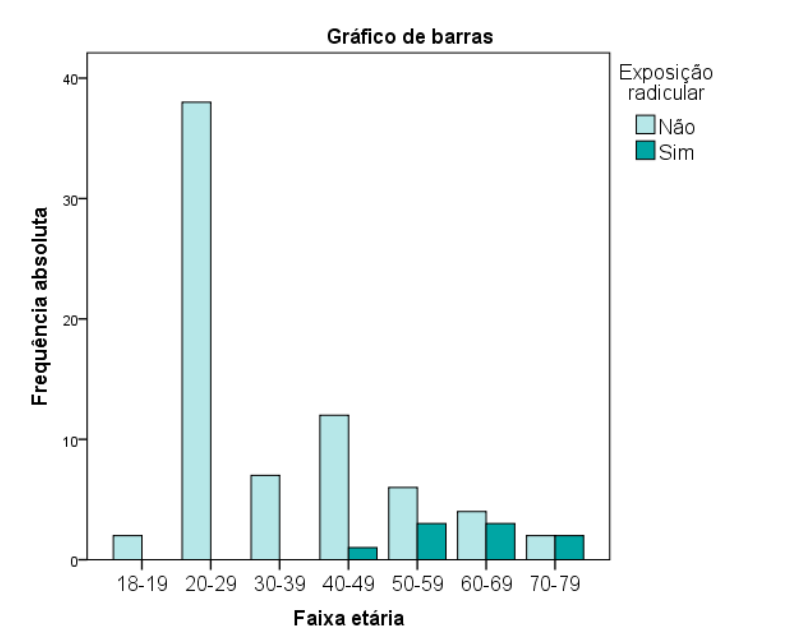


Figura 21. Relação entre a presença de exposição radicular e a idade.

Caracterização de fatores associados ao fluxo salivar

Durante a recolha de dados, também foi avaliado o fluxo salivar não estimulado pelo método de expelição. Dos 80 pacientes, apenas 3,75% (n=3) tinha hipossalivação (figura 22).

Dos 77 pacientes (96,25%) que apresentavam um fluxo salivar normal, foi também avaliado se produziam saliva suficiente após estimulação. Verificou-se que 98,70% (n=76) produzia mais de 1 ml/min, sendo que apenas 1,30% (n=1) não ultrapassou o valor definido (figura 23).

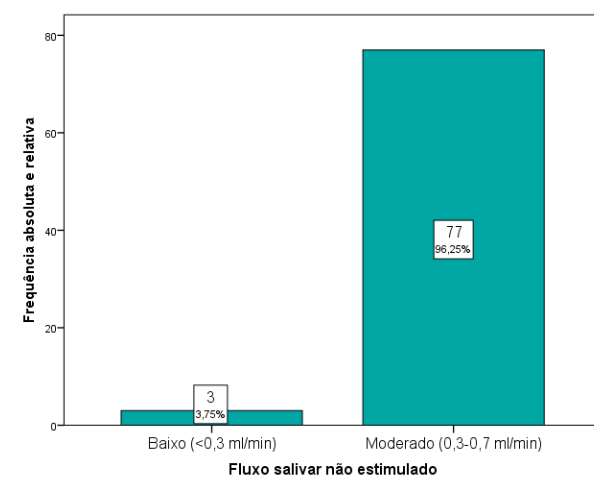


Figura 22. Distribuição da amostra relativamente à análise do fluxo salivar não estimulado.

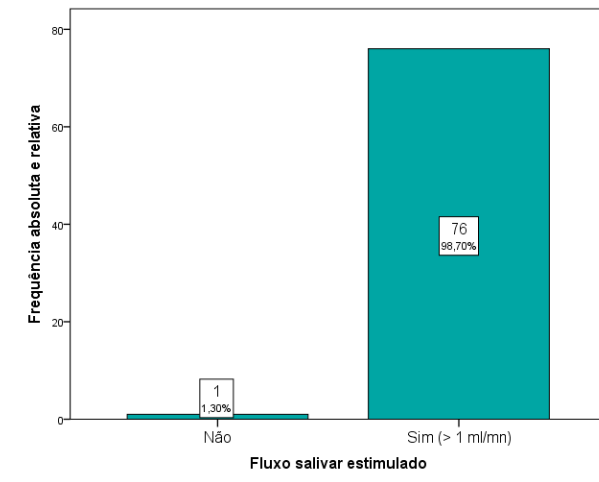


Figura 23. Distribuição da amostra relativamente à análise do fluxo salivar estimulado.

Tal como se pode verificar na figura 24, dos 80 pacientes que participaram no estudo, 12,50% (n=10) tinham algum fator que pode afetar a saliva (medicação, radiação e doenças sistémicas).

Quando questionados quanto à utilização de drogas recreativas verificou-se que nenhum dos pacientes utilizava (figura 25).

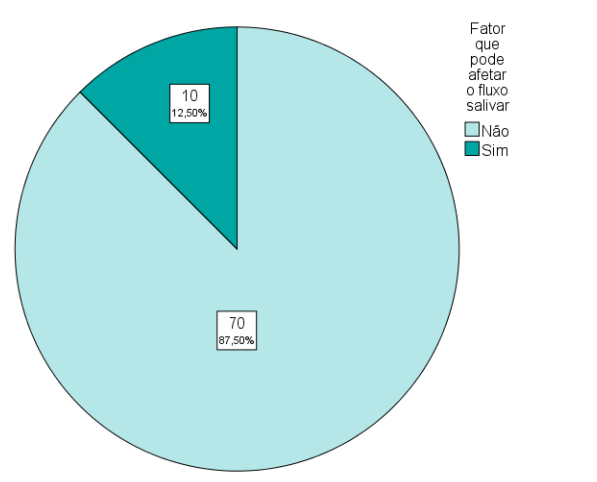


Figura 24. Distribuição da amostra relativamente à presença de algum fator que pode afetar o fluxo salivar.

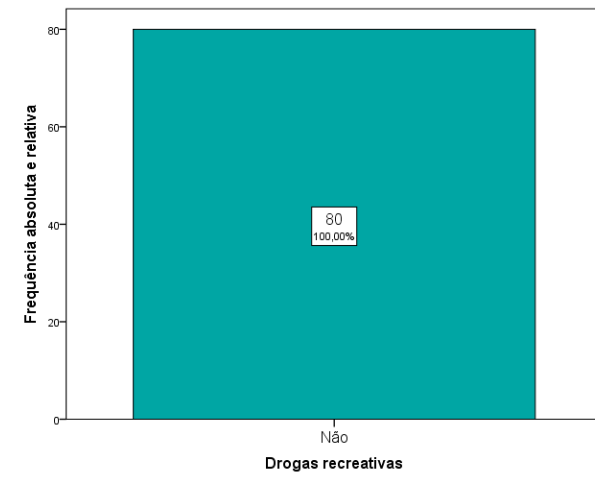


Figura 25. Distribuição da amostra relativamente à utilização de drogas recreativas.

Caracterização da análise salivar

Relativamente ao pH salivar, das 80 amostras de saliva recolhidas, 6,25% (n=5) apresentavam um pH inferior a 6,5.

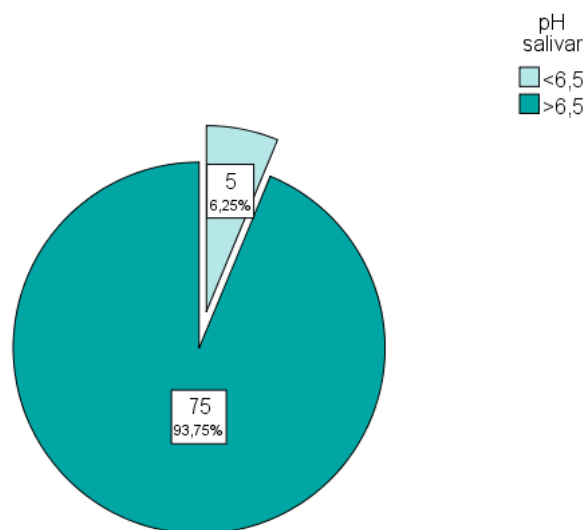


Figura 26. Distribuição da amostra relativamente ao pH salivar.

A distribuição da amostra relativamente à quantificação molecular de 16sRNA bacteriano foi analisada, onde 22,50% (n=18) tinha um valor baixo, 37,50% com valor moderado (n=30) e 40% (n=32) como um valor elevado.

Foi considerado como valor baixo de carga bacteriana valores inferiores a $1,0E+12$ nº de cópias/ μ l amostra, como moderado um valor compreendido entre $1,0E+12$ nº de cópias/ μ l e $1,49E+12$ nº de cópias/ μ l, e como elevado valores superiores a $1,5E+12$ nº de cópias/ μ l. Esta classificação foi arbitrária e baseada na distribuição presente nesta amostra de conveniência uma vez que não há literatura que suporte os pontos de corte.

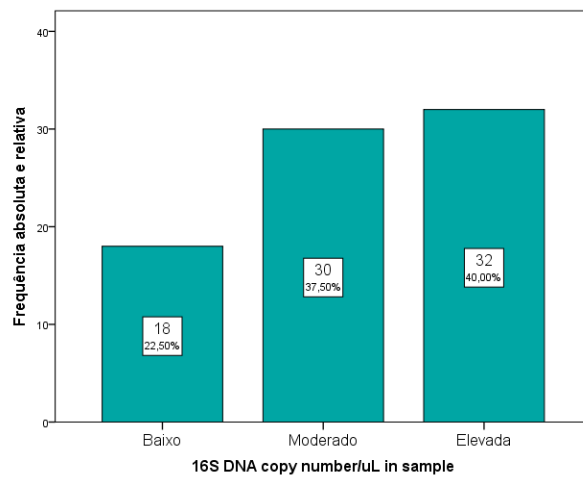


Figura 27, Distribuição da amostra relativamente à quantificação molecular de 16sRNA bacteriano.

Caracterização de resultados decorrentes da inspeção intraoral

No que diz respeito ao histórico de tratamentos realizados nos últimos 3 anos decorrentes de lesões de cárie (restaurações, tratamento endodôntico radical, extrações), os mesmos foram realizados por 51,25% (n=41) da amostra em estudo (figura 28).

A distribuição do histórico de tratamentos decorrentes de lesões de cárie com a idade foi analisada, através do teste exato de Fisher ($p < 0,001$), verificando-se que as variáveis estão significativamente relacionadas, onde a percentagem de indivíduos que realizou mais tratamentos nos últimos 3 anos está relacionada com a população com mais idade da amostra (figura 29).

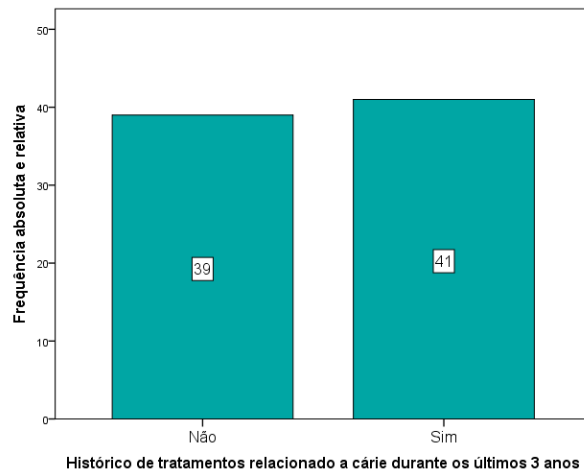


Figura 28. Distribuição da amostra relativamente ao histórico de tratamentos relacionado a cárie durante os últimos 3 anos (restaurações, tratamento endodôntico radical, extrações).

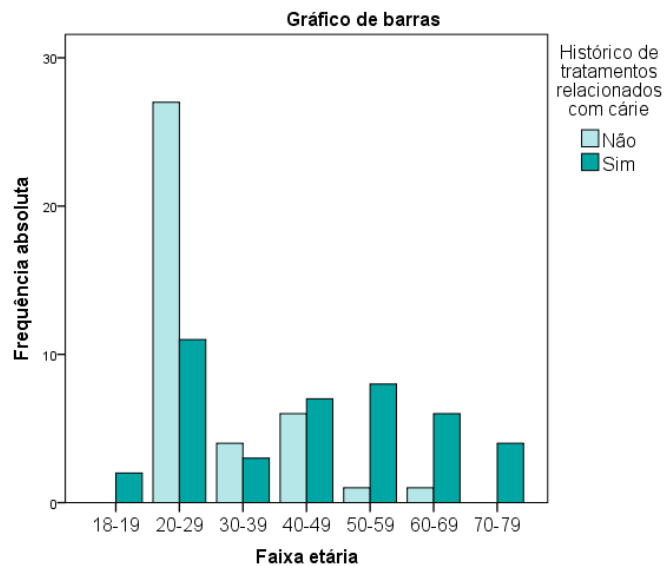


Figura 29. Relação entre o histórico de tratamentos relacionados com cárie e a idade.

Através da observação intraoral, recorreu-se ao ICDAS II para classificar as lesões de cárie dos pacientes. Assim, dos pacientes observados, 31,25% (n=25) apresentava lesões de cárie inicial (ICDAS 1-2) e 38,75% (n=31) apresentava lesões de cárie moderada (ICDAS 3-4) (figura 30 e 31).

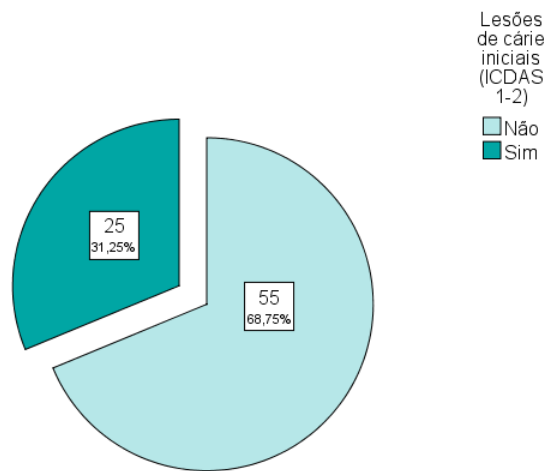


Figura 30. Distribuição da amostra relativamente à presença de lesões de cárie iniciais (ICDAS 1-2).

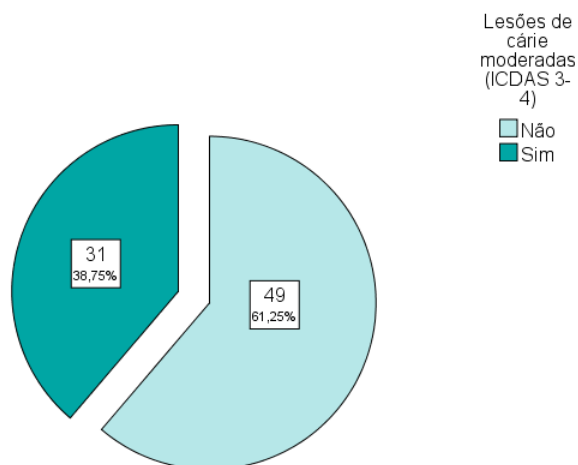


Figura 31. Distribuição da amostra relativamente à presença de lesões de cárie moderadas (ICDAS 3-4).

Dos 80 pacientes que participaram no estudo, 16,25% (n=13) apresentavam lesões de cárie extensas (figura 32).

A distribuição da presença de lesões de cárie extensas (ICDAS 5-6) com a idade foi analisada, e para tal, utilizou-se o teste exato de Fisher ($p=0,002$), logo, as variáveis estão significativamente relacionadas, em que a percentagem de indivíduos que apresentavam estas lesões está relacionada com a população com mais idade da amostra (figura 33).

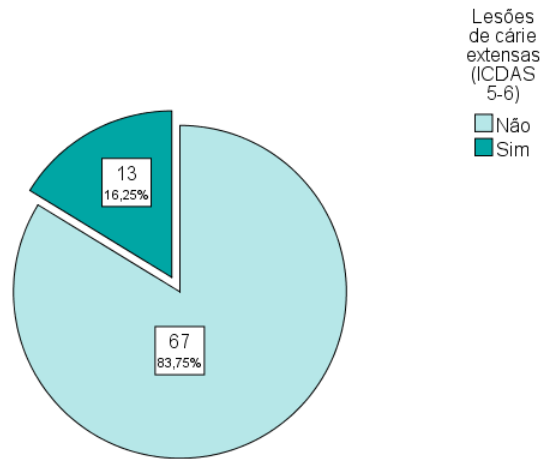


Figura 32. Distribuição da amostra relativamente à presença de lesões de cárie extensas (ICDAS 5-6).

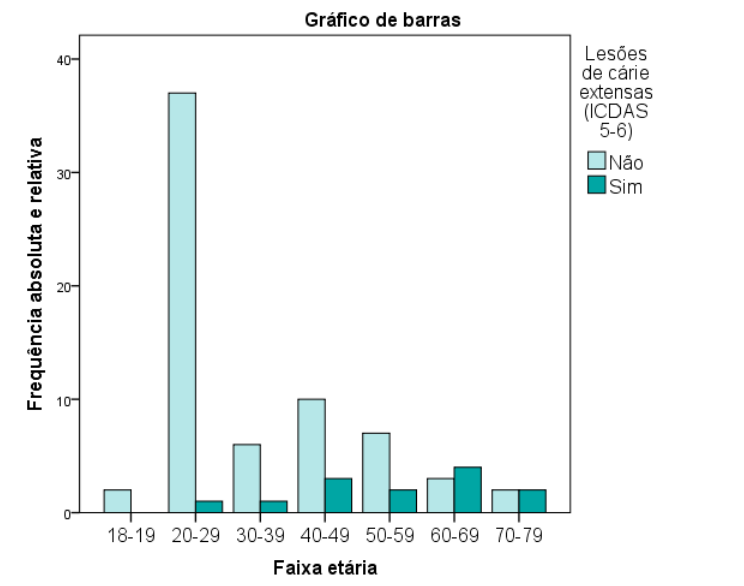


Figura 33. Relação entre a presença de lesões de cárie extensas (ICDAS 5-6) e a idade.

Dos 80 pacientes analisados, 25% (n=20) apresentavam pelo menos uma lesão de cárie ativa.

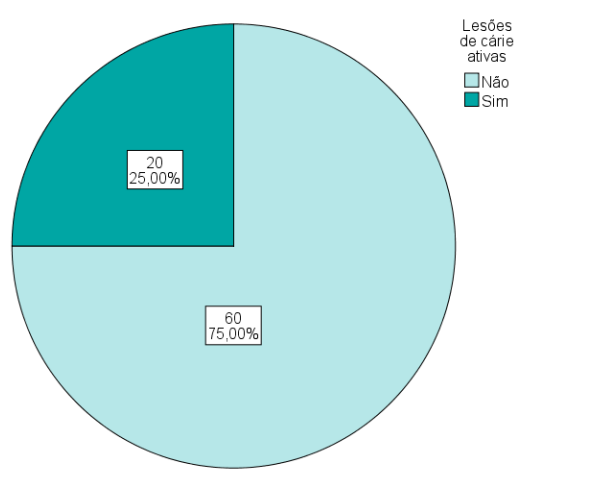


Figura 34. Distribuição da amostra relativamente à presença de lesões ativas.

Definimos como experiência de cárie o número de lesões ativas/inativas detetadas durante o exame clínico intraoral. Sendo assim, relativamente a experiência de cárie 33,75% (n=27) dos pacientes tinha valor 0; 16,25% (n=13) tinha valor 1; 21,25% (n=17) tinha valor 2; 10% (n=8) tinha valor 3; 6,25% (n=5) tinha valor 4, 1,25% (n=1) tinha valor 5; 5% (n=4) tinha valor 6; 1,25% (n=1) tinha valor 8; 2,5% (n=2) tinha valor 10 e 2,5% (n=2) tinha valor 12.

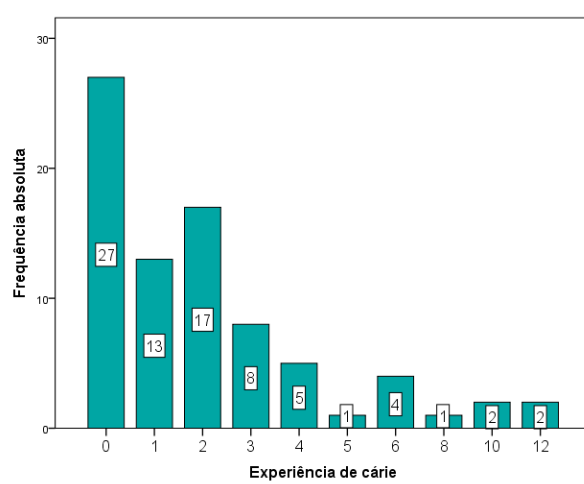


Figura 35. Distribuição da amostra relativamente à experiência de cárie.

A distribuição da experiência de cárie com a idade foi analisada, através do teste exato de Fisher ($p=0,001$), logo, as variáveis estão significativamente relacionadas, sendo que a população mais jovem da amostra apresentava menor experiência de cárie (figura 36).

Também a distribuição da experiência de cárie com o número de escovagens com pasta dentífrica fluoretada foi analisada através do teste exato de Fisher ($p=0,004$), bem como o uso de fio dentário ($p=0,005$) verificando-se que todos os indivíduos sem experiência de cárie escovavam os dentes com pasta fluoretada no mínimo duas vezes por dia e a maioria desses pacientes também utilizava fio dentário diariamente. Todos os pacientes que não utilizavam pasta fluoretada, tinham pelo menos 1 lesão de cárie ativa/inativa e todos os indivíduos com maior experiência de cárie (8-12) não utilizavam fio dentário (figura 37 e 38).

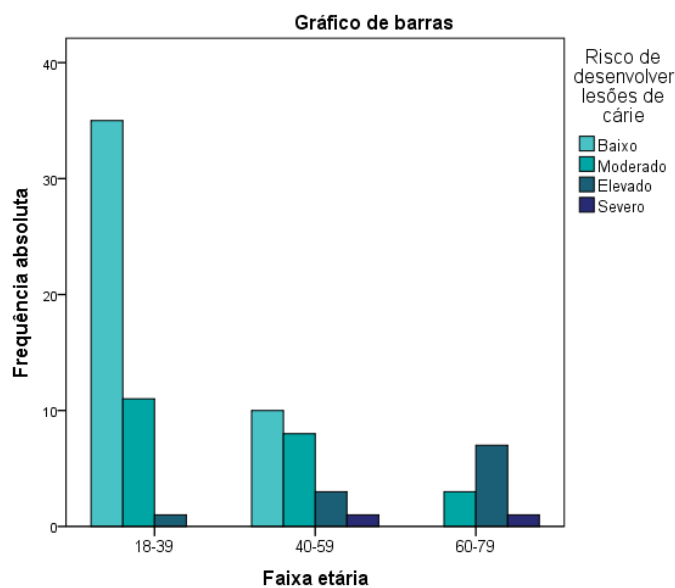


Figura 36. Relação entre a experiência de cárie e a idade.

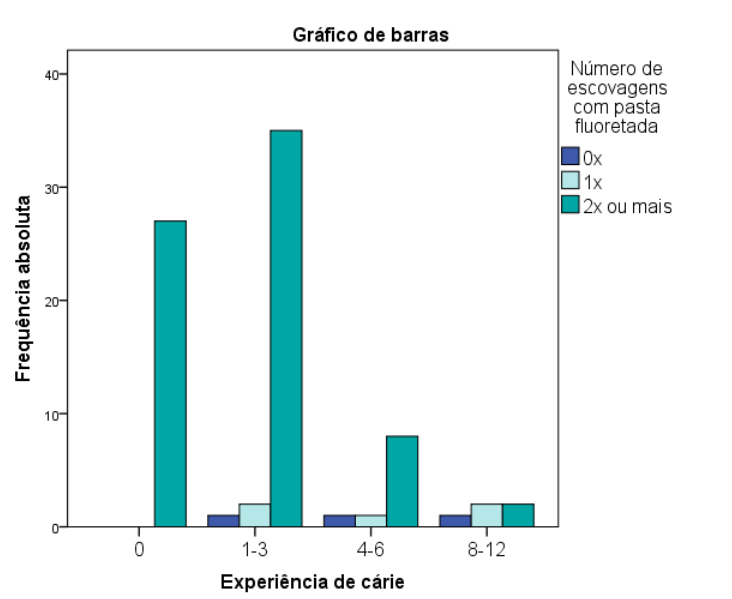


Figura 37. Relação entre a experiência de cárie e o número de escovagens com pasta dentífrica fluoretada.

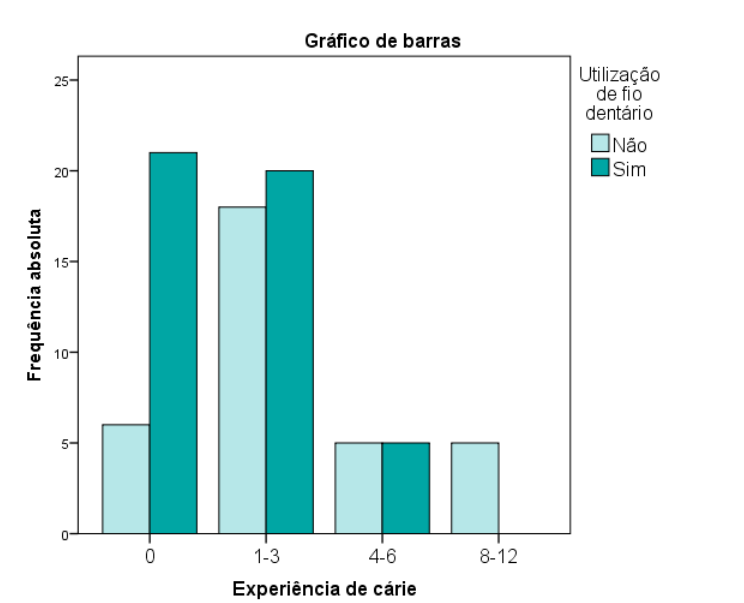


Figura 38. Relação entre a experiência de cárie e o número de escovagens com pasta dentífrica fluoretada.

Quando avaliada a distribuição da experiência de cárie com os valores do pH através do teste exato de Fisher ($p=0,012$), verificou-se que os indivíduos com pH menor que 6,5 tinham pelo menos 1 lesão de cárie.



Figura 39. Relação entre a experiência de cárie e o pH da saliva.

Risco de desenvolver lesões de cárie

Após a recolha de toda a informação, o cálculo final do risco de cárie resulta da quantificação de todos os valores obtidos tendo em conta o respetivo peso de cada variável (anexo 3). Nos 80 pacientes avaliados, classificamos como risco baixo 56,25% (n=45), como risco moderado 27,50% (n=22), risco elevado 13,75% (n=11) e risco severo 2,50% (n=2). Este cálculo final é que vai permitir individualizar o plano de tratamento de acordo com a suscetibilidade dos pacientes desenvolverem a doença.

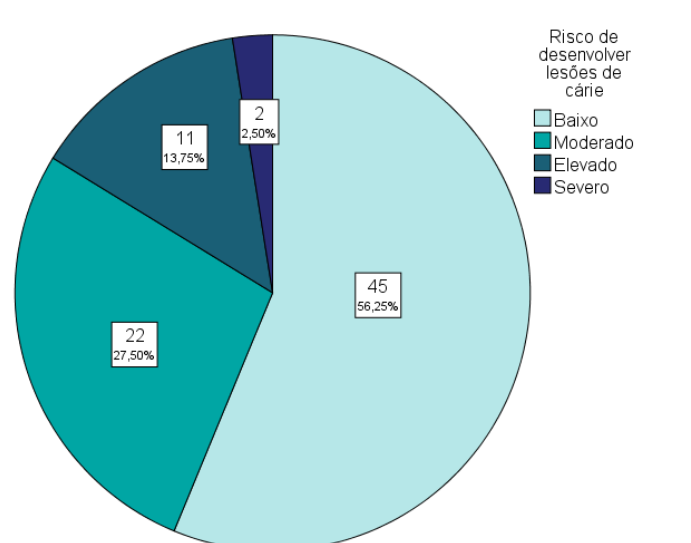


Figura 40. Classificação relativamente ao risco de desenvolver lesões de cárie.

A distribuição do risco de desenvolver lesões de cárie de acordo com a faixa etária foi analisada através do teste exato de Fisher ($p < 0,001$), verificando-se que as variáveis estão significativamente relacionadas, onde a percentagem de indivíduos classificados como baixo risco está associada com a grupo da faixa etária mais jovem.

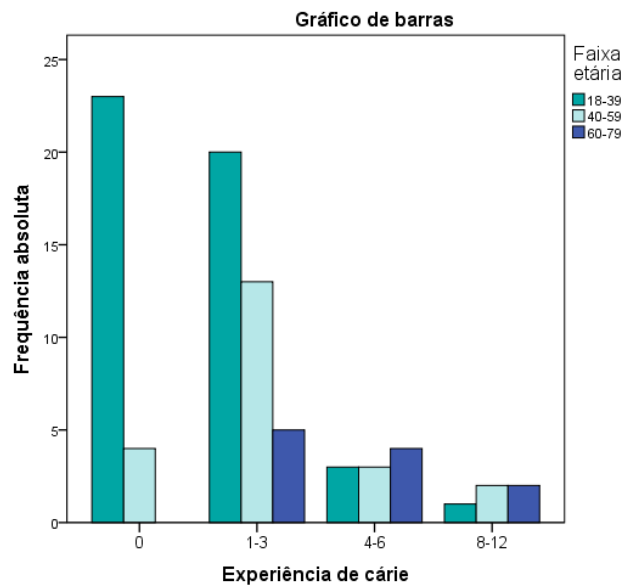


Figura 41. Relação entre o risco de desenvolver lesões de cárie e a idade.

Foi também analisada a distribuição do risco de desenvolver lesões de cárie de acordo com os hábitos de higiene oral utilizando o teste exato de Fisher. Assim, verificamos que pacientes com baixo risco de cárie utilizavam pasta dentífrica no mínimo 2 vezes por dia ($p = 0,003$) e a maioria desses pacientes utilizava fio dentário ($p < 0,001$). Também se verificou que a maioria dos pacientes classificados como risco elevado e severo não utilizavam colutório com flúor ($p = 0,004$) nem fio dentário (figura 42, 43 e 44).

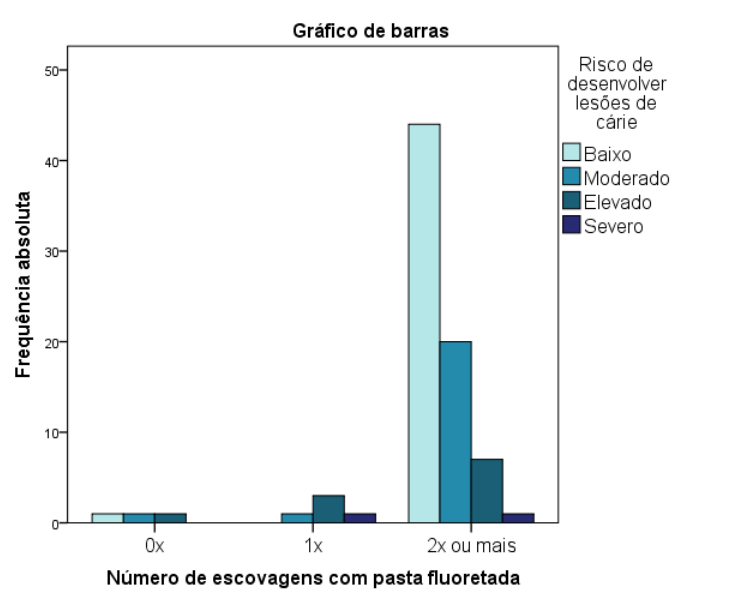


Figura 42. Relação entre o risco de desenvolver lesões de cárie e o número de escovagens com pasta fluoretada.

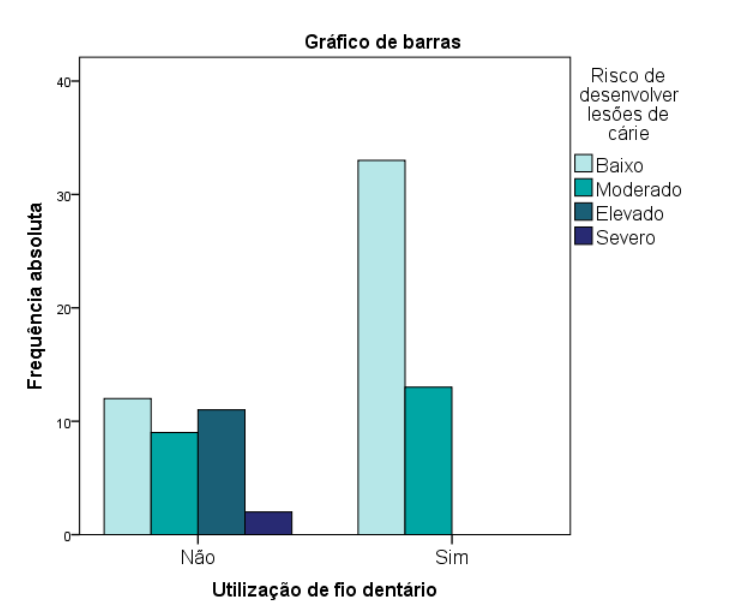


Figura 43. Relação entre o risco de desenvolver lesões de cárie e o número de escovagens com pasta fluoretada.

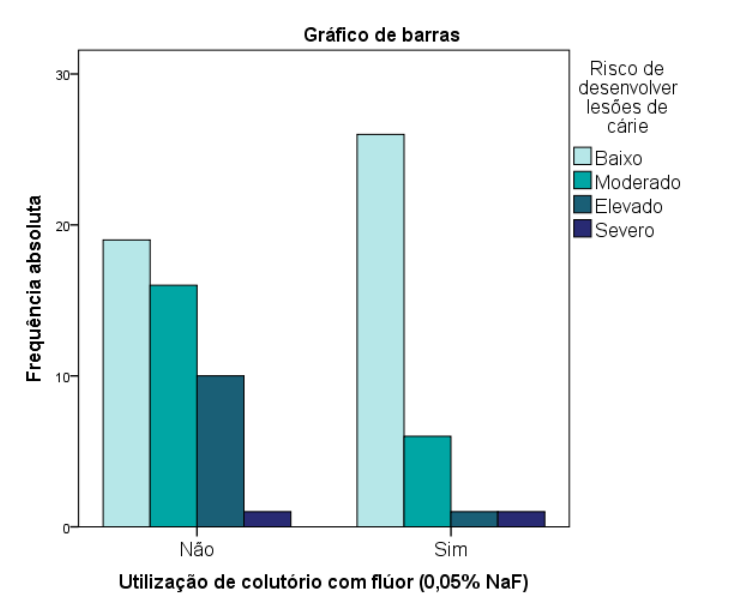


Figura 44. Relação entre o risco de desenvolver lesões de cárie e utilização de colutório com flúor (0,05% NaF).

A distribuição do risco de desenvolver lesões de cárie com o número de lanches com açúcar foi avaliado através do teste exato de Fisher ($p=0,038$), verificando-se que os indivíduos classificados com menor risco de cárie fazem menos lanches com açúcar.



Figura 45. Relação entre o risco de desenvolver lesões de cárie e o número de lanches com açúcar.

Foi ainda avaliada a distribuição do risco de desenvolver lesões de cárie com o fluxo salivar não estimulado através do teste exato de Fisher ($p < 0,001$), verificando-se que todos os pacientes classificados como risco severo de desenvolver cárie apresentavam hipossalivação.

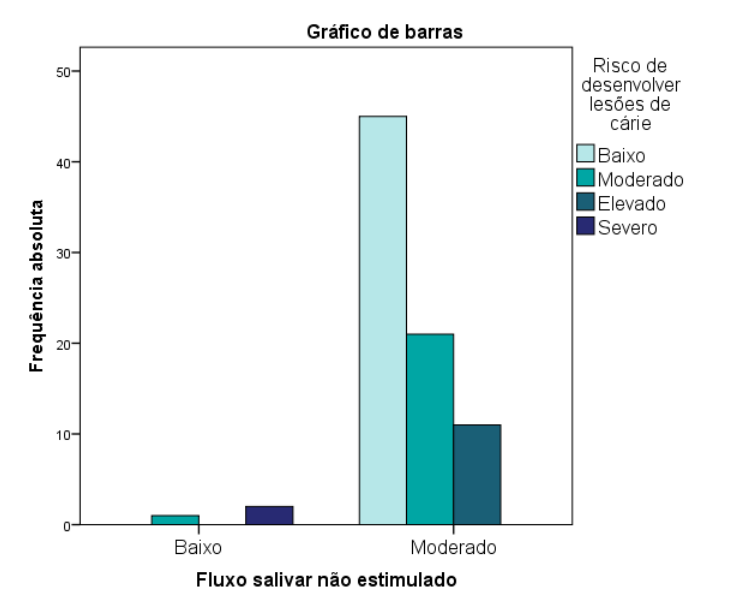


Figura 46. Relação entre o risco de desenvolver lesões de cárie e o fluxo salivar não estimulado.

A distribuição do risco de desenvolver lesões de cárie com o histórico de tratamentos relacionados a cárie foi também analisada através do teste exato de Fisher ($p < 0,001$), verificando-se que a maioria de indivíduos com risco elevado e severo tinham histórico de tratamentos decorrentes de lesões de cárie nos últimos 3 anos.

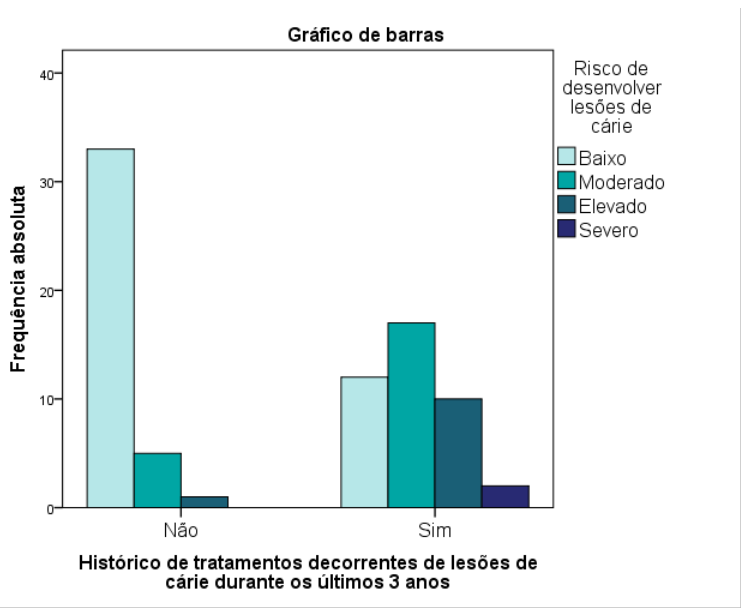


Figura 47. Relação entre o risco de desenvolver lesões de cárie e o histórico de tratamentos decorrentes de lesões de cárie durante os últimos 3 anos.

A distribuição do risco de desenvolver lesões de cárie com a presença de lesões ativas foi analisada através do teste exato de Fisher ($p < 0,001$), bem como a relação com a experiência de cárie ($p < 0,001$) verificando-se que as variáveis estão significativamente relacionadas, onde a maioria dos pacientes sem lesões ativas e sem experiência de cárie foram classificados como baixo risco de desenvolver lesões de cárie (figura 48 e 49).

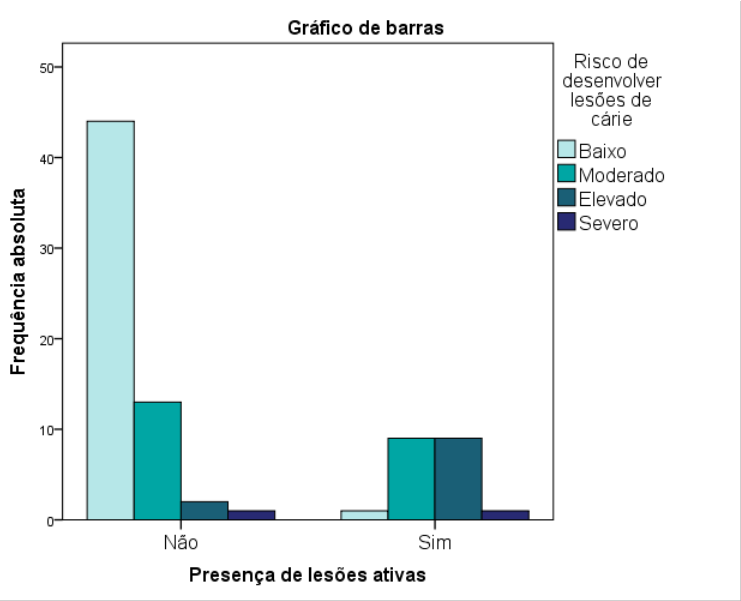


Figura 48. Relação entre o risco de desenvolver lesões de cárie e a presença de lesões de cárie ativa.

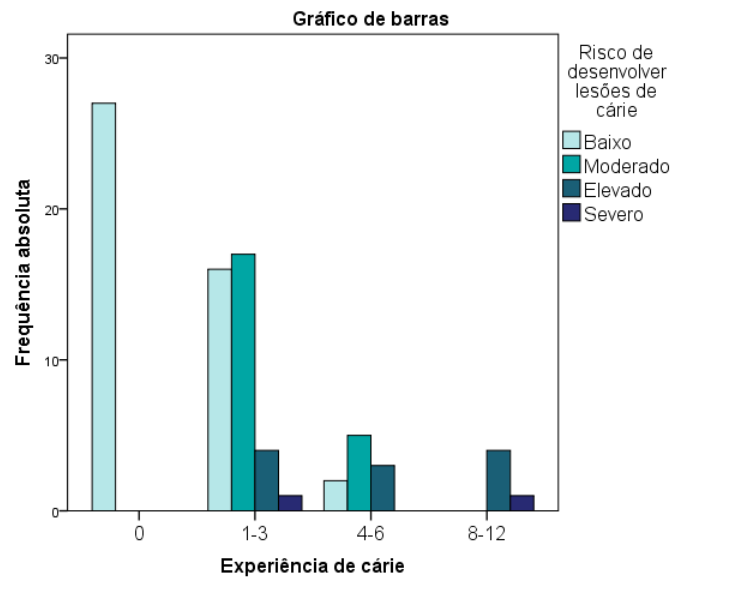


Figura 49. Relação entre o risco de desenvolver lesões de cárie e a experiência de cárie.

4. Discussão de resultados

Dos índices de cárie disponíveis, o CAMBRA é um dos mais utilizados para determinar o risco de cárie, no entanto ele não é utilizado com muita frequência, em alguns casos pela falta de conhecimento, como comprovado no estudo de Carneiro onde se verificou que 56% dos médicos dentistas portugueses não conhecia o índice (36). Além disso, o tempo necessário para preencher o índice faz com que a maioria dos profissionais não equacione a sua implementação na prática clínica, tal como verificado no estudo de Doméjean *et al.* onde 70% relatou que não utiliza qualquer índice para determinar o risco de cárie pela falta de tempo (37).

Este estudo surge para produzir conhecimento que permita colmatar algumas das lacunas que impedem que o índice seja de fácil aplicação e que tenha o seu potencial preditivo do risco de cárie avaliado.

A existência de um índice de fácil aplicação e com elevado valor preditivo virá reforçar a importância de utilizar estes métodos, ao diagnosticar e direcionar o tratamento de forma mais fundamentada face as necessidades do paciente.

Aplicar este índice em contexto universitário visa incutir no processo de aprendizagem uma forma abrangente de pensar e atuar nas lesões de cárie priorizando sempre o tratamento mais conservador. Também, objetiva aumentar a precisão de diagnóstico e ao mesmo tempo simplificar o índice para ser mais fácil de aplicar, e desenvolver métodos *chairside* que permitam integrar este índice na prática clínica, de modo simples, sem tirar muito tempo de consulta.

Desta forma, o projeto em que este trabalho se insere visa encontrar uma ferramenta de diagnóstico de cárie que seja reproduzível, preditiva e precisa, mas de aplicação fácil e rápida para que possa ser largamente utilizada.

Hábitos de higiene oral

No que diz respeito à utilização de flúor sabemos que ajuda a reduzir a probabilidade de desenvolver lesões de cárie. Hoje em dia há várias formas de aplicar na nossa rotina diária. Neste estudo, o método de aplicação de flúor mais utilizado pelos pacientes foi a pasta dentífrica com flúor (96,25%, n=77). Além de ser o mais utilizado, a pasta dentífrica com flúor é o que mais contribui para a diminuição do aparecimento de cáries (38). Apesar da generalidade dos pacientes do estudo seguir as recomendações da literatura, ao referir que escovavam duas vezes por dia, devemos sempre equacionar a existência de uma viés de resposta, onde muitos pacientes são influenciados a responder de acordo com o que consideram mais adequado (39,40). Comparando estes resultados com o último Barómetro Nacional de Saúde oral (2021), em que evidenciaram que 76,2% escovava os dentes pelo menos duas vezes ao dia, o nosso estudo está em conformidade com os resultados encontrados, no entanto esta pequena discrepância positiva pode estar associada à diferença de médias de idade (41).

Outra forma de aplicação de flúor utilizado pela amostra em estudo era através de colutórios, sendo utilizado por 42,50% (n=34) da amostra. Assim estes resultados vão ao encontro de estudos realizados a nível nacional, onde os autores constataram que 33,29% dos pacientes utilizava colutório, na maioria das vezes, pelo menos 1 vez por dia, sendo que estas pequenas diferenças de resultados podem ser justificadas novamente pela diferença de médias de idades. (41).

Relativamente a outras formas de utilização de flúor tais como pasta fluoretada com 5000ppm, verniz de flúor e flúor tópico em gel, a grande maioria dos pacientes não utilizava estas medidas preventivas, embora vários pacientes tivessem indicação, apenas um utilizou duas dessas medidas durante esse período, o que revela a ausência de integração destes pacientes em programas preventivos.

Outra forma de consumo de flúor é pela fluoretação das águas, no entanto, em Portugal as concentrações de flúor nas águas são baixas (exceto nos Açores e na

Madeira) e não existe fluoretação artificial, logo não contabilizamos esse fator no índice porque não vai ter caráter diferenciador (42).

A acumulação de biofilme é um passo fundamental para se iniciar a formação de lesões de cárie, no entanto a presença de biofilme na superfície dentária não significa que a lesão está presente. Sabemos que a utilização da escova dentária auxilia na remoção de biofilme nas superfícies livres do dente, no entanto, é o fio dentário que auxilia na remoção de biofilme nas superfícies dentárias interproximais, por isso é recomendada a sua utilização diária em adição à escovagem (43).

O estudo conduzido por Gerald et al. mostrou uma redução da prevalência de cáries nas áreas interproximais através da utilização frequente de fio dentário (44). Analisando os pacientes que utilizavam fio dentário, a maioria dos pacientes (57,5%, n=46) utilizava diariamente, contudo, este valor continua a estar aquém do recomendável, é necessário instruir/motivar todos os pacientes a utilizar diariamente, até porque devido à anatomia interdentária essas são áreas de difícil higienização (45).

Stewart & Wolfe também verificaram que os pacientes que participaram em sessões de instruções de hábitos de higiene, após algumas semanas diminuíram o índice de placa, porém, após 1 ano voltaram ao estado inicial, o que revela a importância de manter os pacientes motivados. Além disso, isto só é possível se for realizada a monitorização frequente do paciente, o que enaltece a importância da integração em programas preventivos uma vez que permite fazer um acompanhamento direcionado (46).

Nos pacientes com elevada quantidade de placa bacteriana, por vezes é necessário utilizar clorexidina. Além das suas propriedades antimicrobianas, continua a ser o *gold standard* para controlar *Streptococcus mutans* (47). O presente estudo exibiu os mesmos valores que o estudo realizado por Freitas *et al.*, onde nenhum dos pacientes utilizou clorexidina nos últimos 6 meses (30).

Hábitos alimentares

A quantidade de açúcar nos lanches entre as refeições principais é um fator de risco para desenvolver cáries. Na caracterização dos hábitos alimentares da amostra recolhida, 60% dos pacientes utilizava açúcar entre as refeições. Alguns estudos, concluíram que a ingestão de alimentos entre as refeições apresenta maior relação com a prevalência de cárie do que a ingestão dos mesmos nas refeições principais (48). Além disso, para tornar mais preditivo este indicador, relaciona-se a frequência de lanches com a ingestão de açúcar, sendo que dos 48 pacientes (60%) que utilizavam açúcar nos lanches entre as refeições, a maioria dos pacientes fazia-o 1 ou 2 vezes por dia, sendo que o número de lanches com açúcar aumenta de forma significativa o risco de desenvolver lesões de cárie (49).

Muitos pacientes não têm a percepção que ingerem com frequência açúcar na sua alimentação, uma vez que a maioria dos produtos industrializados consumidos têm potencial cariogénico, e os pacientes acabam por fazer com frequência pela simplicidade, baixo custo e pelos sabores prazerosos (50). O nosso papel como médicos dentistas também passa por consciencializar e educar os pacientes a adequar a alimentação de forma a minimizar problemas relacionados com a saúde oral, assim como a nível sistémico (51).

Fatores que predispõem a acumulação de placa bacteriana

Os aparelhos ortodônticos fixos apresentam na sua constituição brackets, arcos ortodônticos e bandas. Todos estes componentes funcionam como áreas retentivas para a retenção de placa, e conseqüentemente para a colonização bacteriana, através das forças eletrostáticas, provocando alterações no microbioma oral devido à redução do pH (52,53). Assim, pacientes com aparelho ortodôntico apresentam um fator de risco associado. O sucesso do tratamento ortodôntico não se limita apenas à necessidade estética e funcional. O tratamento só pode ser justificado e garantido o sucesso se gerirem os possíveis efeitos secundários relacionados à colocação do aparelho ortodôntico, tais como as lesões de cárie. É fundamental a

avaliação de risco do paciente previamente a colocação do aparelho ortodôntico assim como no acompanhamento, para assim adotar medidas preventivas nestes pacientes, educá-los relativamente aos hábitos de higiene e dieta, e se não interferir no plano de tratamento reduzir ao máximo os componentes suscetíveis de retenção de placa bacteriana (54). Nos pacientes analisados, apenas 1 paciente (1,25%) tinha aparelho ortodôntico.

A morfologia dentária dos sulcos dos dentes posteriores, dependendo da profundidade, pode interferir também na retenção de placa bacteriana, sendo que os indivíduos com sulcos profundos nos pré-molares e molares são mais suscetíveis (35). Nos 80 pacientes avaliados, a maioria dos pacientes (93,75%, n=75) apresentava sulcos rasos, no entanto, 6,25% dos pacientes apresentava sulcos profundos, o que obriga a cuidados reforçados, ou em alguns casos dependendo da suscetibilidade geral do paciente para desenvolver cárie, a indicação para colocação de selantes de fissuras. Os selantes servem de barreira física para evitar a acumulação de alimentos, tornando um sulco profundo numa superfície lisa, e conseqüente evitam o crescimento bacteriano, podendo também ser utilizados em lesões cariosas não cavidadas, permitindo controlar o desenvolvimento e progressão das lesões em mais de 50% dos casos (55,56). Num estudo de Pérez *et al.* realizado em crianças, apenas 14% dos pacientes tinham sulcos profundos, havendo uma ligeira similaridade com os resultados encontrados (35).

Outro fator anatómico suscetível de aumentar a retenção de placa bacteriana é a exposição radicular. Dos pacientes analisados 11,25% (n=9) apresentava exposição radicular. Este resultado é similar ao estudo conduzido por Iqbal *et al.* onde encontraram 18,8% de pacientes com esse fator de risco (57). A recessão gengival pode estar associada com cáries radiculares, no entanto, a existência de recessão não é fator de risco suficiente para desenvolver lesões cariosas. Não obstante, quando acoplado a outros fatores de risco a probabilidade de desenvolver estas lesões aumenta (58). Há também uma relação significativa entre a exposição radicular e a idade, uma vez que os pacientes com mais idade apresentam prevalência de exposição radicular. Estes resultados vão ao encontro do observado na literatura, que

relata que a maioria dos pacientes com idade superior a 35 anos apresentam exposição radicular (32).

Fatores que afetam o fluxo salivar

A saliva tem um papel importante na saúde oral. Dos 80 pacientes que participaram no estudo, 12,50% (n=10) tinha algum fator passível de afetar o fluxo salivar, o que implica uma atenção especial aos possíveis efeitos secundários. Há medicações que podem afetar o fluxo salivar, também algumas doenças sistêmicas podem causar uma destruição progressiva das glândulas salivares, assim como a exposição a radiação pode causar danos irreversíveis nas mesmas (59). Pacientes com este fator de risco devem ser controlados, pois a saliva tem um papel importante na proteção contra as cáries, pelo que a confirmar-se a diminuição do fluxo salivar é necessário tentar aumentar o fluxo salivar residual ou até em último recurso utilizar substitutos salivares (60,61).

Quando o fluxo salivar está diminuído aumenta a suscetibilidade para desenvolver lesões de cárie (62). Sendo assim, foi avaliado o fluxo salivar não estimulado pelo método de expelição. Este permite avaliar a quantidade de saliva que é constantemente libertada na cavidade oral. Dos 80 pacientes, 3,75% (n=3) tinha hipossalivação, sendo um fator de risco para o desenvolvimento de cáries. Dos pacientes com fluxo salivar normal, a maioria (98,80%, n=76) produzia saliva suficiente, o que é fundamental para auxiliar a neutralizar os ácidos, atuar como efeito tampão, reforçar a estrutura dentária, auxiliar na limpeza da superfície dentária e modificar a composição da placa bacteriana, logo atua como efeito protetor (63).

A utilização de drogas recreativas serve de alerta, uma vez que muitas destas drogas apresentam como efeitos adversos a hipossalivação, além disso, estão associadas com cáries rampantes pela destruição rápida das estruturas que constituem o dente (64). Relativamente às drogas recreativas nenhum paciente utilizou, logo não foi contabilizado como fator de risco.

Análise da saliva

Após a ingestão de alimentos, independentemente da quantidade de açúcar, ocorre um decréscimo do pH nos 2 a 5 minutos após o consumo, e só regressa aos níveis normais decorridos 15 a 40 minutos. Por este motivo, apenas foram realizadas recolhas de saliva aos pacientes que não tinham ingerido alimentos ou escovado os dentes 1 hora antes da recolha (65). O pH crítico é quando há dissolução dos tecidos dentários. Como a concentração de cálcio e fosfato tem um carácter individual o valor do pH crítico acaba por não ser constante. Assim, em pessoas com baixa concentração de cálcio e fosfato considera-se o pH de 6,5 enquanto que em pessoas com alta concentração de cálcio e fosfato o pH crítico considerado é 5,5 (66). Na nossa amostra, definimos como fator de risco todos os pacientes que apresentavam um pH inferior a 6,5. Nos pacientes analisados apenas 6,25% (n=5) apresentava um pH dentro desse valor. Isso reforça a importância de diminuir a frequência de lanches, pois está diretamente relacionado com o aumento do número de períodos de alteração do pH, e também aumentar a ingestão de flúor, pois este acelera o processo de remineralização (67) .

Um parâmetro normalmente incluído nos índices de risco de cárie avalia a carga microbiana de forma indireta por análise do índice de placa. Este índice é avaliado visualmente pelo médico dentista e, portanto, depende muito do observador. Assim, e porque molecularmente é possível quantificar a carga microbiana medida de forma mais precisa e objetiva, uma das alterações propostas neste índice é a substituição do índice de placa pela quantificação molecular de 16sRNA bacteriano.

Contudo, e como foi indicado na introdução é desejável ter uma ideia da proporção de espécies cariogénicas (acidogénicas) versus carioprotetoras (alcalinogénicas). Neste trabalho havia esse objetivo inicial que, no entanto, não foi possível cumprir atempadamente. Assim, apesar de no futuro este dado integrar na análise dos resultados da aplicação do índice à população que frequenta a CDU-UCP, nos cálculos de risco apresentados neste trabalho estes 2 fatores não são considerados e os pontos de corte foram adaptados em conformidade.

Indicadores de doença

O histórico de cárie, é um fator importante, não por contribuir para a doença, mas sim porque são sinais clínicos/manifestações da doença (32). Os sinais clínicos da doença são a melhor indicação das consequências do sinergismo entre os fatores de risco (68).

O ICDAS é uma ferramenta que auxilia na detecção das lesões de cárie, pois através dele conseguimos classificar a severidade e incidência destas lesões (69). Sendo que dos pacientes observados, 31,25% (n=25) apresentavam lesões de cárie iniciais (ICDAS 1-2). Este registo é fundamental, uma vez que estes estágios iniciais de cárie quando detetados precocemente, permitem integrar estes pacientes em programas preventivos e evitar a progressão da doença sem intervir de forma radical. Em alguns destes pacientes, se não for aplicado um plano preventivo, estas lesões vão progredir, atingindo um certo grau de irreversibilidade (70). O diagnóstico da atividade destas lesões nestes estágios iniciais ainda hoje é um problema, pois a variabilidade no diagnóstico dificulta a decisão de tratamento. Esses erros de diagnóstico podem conduzir o profissional a intervir através de técnicas mais invasivas, colocando o paciente num ciclo restaurador de forma iatrogénica (71).

A quantidade de pacientes com pelo menos uma lesão em estágios severos (ICDAS 5-6) era de 16,25% (n=13). A relação entre estas lesões está significativamente relacionada com a idade, uma vez que são os indivíduos com mais idade a apresentar proporcionalmente maior número destas lesões, muitos pela falta de acompanhamento associado com o maior número de fatores de risco que advém da idade (72). São pacientes que devido a falta de acompanhamento deixam negligentemente que estas lesões evoluam até atingir este grau, sendo o tratamento inevitavelmente radical. Por isso é fundamental a monitorização dos pacientes para detetar e intervir de forma conservadora nas lesões em estágios iniciais e não quando atingem este certo grau de irreversibilidade (73).

No que diz respeito à atividade das lesões de cárie presentes, 25% (n=20) apresentava pelo menos uma lesão de cárie ativa. O diagnóstico da atividade das lesões de cárie é um fator decisivo a nível do tratamento. Na maioria das situações,

são utilizados os critérios clínicos para diagnóstico da atividade da lesão, mas ainda hoje é questionado a sua eficácia. A subjetividade do diagnóstico, baseado apenas nestes critérios, leva a uma sobrevalorização das lesões de cárie, resultando num tratamento ineficaz com influência direta na saúde oral dos pacientes (74).

A experiência de cárie serve apenas como referência e não como fator determinante no risco de cárie. Ela pode ser consequência de hábitos anteriores incorretos, e pode não corresponder à realidade atual, motivo pelo qual a determinação do risco vai ser consequência da análise de todos os outros fatores. Uma relação positiva foi encontrada entre os pacientes sem experiência de cárie e a utilização de pasta dentífrica com flúor. Todos estes pacientes escovavam os dentes com pasta dentífrica com flúor pelo menos duas vezes por dia, além disso a maioria também utilizava fio dentário. Estes resultados vão ao encontro do estudo realizado por Veiga *et al.*, reforçando ainda mais a importância de implementar estes hábitos na nossa rotina diária (75). Também foi verificado que todos os pacientes que tinham um pH inferior a 6,5 apresentavam experiência de cárie. Estes resultados são semelhantes ao estudo realizado por Muro, onde concluiu que 95,8% dos pacientes com um pH ácido apresentava lesões de cárie (76).

Classificação relativamente ao risco de desenvolver lesões de cárie

Após a recolha de toda a informação, esta foi analisada e calculado o risco de acordo com um algoritmo pré-definido que faz o balanço entre todos os fatores analisados (fatores de proteção, fatores de risco e indicadores de doença) (anexo 3). Num estudo realizado por Iqbal na Arábia Saudita, os resultados são bastante distintos, onde 85% dos pacientes tinham risco elevado, e 15% foram classificados como risco moderado, enquanto que os nossos resultados são substancialmente mais favoráveis, pois 58,25% dos pacientes foram classificados com baixo risco de cárie, 22,5% como risco moderado, 13,76% como risco elevado e 2,5% como risco severo. Estas diferenças significativas entre os estudos podem ser justificadas pela diferença de médias de idade, diferenças culturais e pelo facto de alguns dos pacientes analisados já estarem a ser acompanhados na clínica há algum tempo, apesar de não

estarem integrados em programas preventivos. No estudo de Iqbal os pacientes que participaram no estudo vinham direcionados por um problema oral o que pode justificar a diferença de resultados entre os estudos (57).

Considerações finais

Com este trabalho foi possível verificar a exequibilidade da aplicação das alterações propostas ao índice de risco de cárie. Com efeito a avaliação inicial de 80 pacientes permitiu enquadrá-los de forma provisória num nível de risco de cárie. Esta classificação é provisória na medida em que a avaliação deverá ser repetida ao fim de um ano. Independentemente do índice de risco utilizado, a classificação inicial do risco tem maior probabilidade de falhar do que em longevidade. Após 1 ano de *follow-up*, ver que hábitos os pacientes conseguiram aplicar/corrigir após as instruções desta primeira consulta, e ver se novas lesões surgiram, diferente da avaliação inicial onde a falta de especificidade na discriminação clínica das lesões ativas e inativas presentes pode resultar num grande número de falsos positivos, uma vez que apenas são considerados como fator de risco as lesões que estão ativas (74).

O índice proposto implica uma visão holística da saúde oral e essa visão deve ser passada para o paciente, para entender o que deve modificar no comportamento diário para evitar estas lesões. Explicar aos pacientes a importância da monitorização ajuda na motivação para que sejam realizados controlos periódicos. Integrar estes programas preventivos implica um compromisso por parte dos pacientes, uma vez que se faltarem aos controlos numa diferença maior que 1 ano faz com que qualquer avaliação realizada vai ser igual a um paciente novo.

Perspetiva-se que este índice seja uma ferramenta fundamental na medicina dentária preventiva, ao incentivar o uso de técnicas minimamente invasivas, instruir os pacientes a modificar comportamentos e educá-los para a importância do acompanhamento. O facto de a longevidade das pessoas aumentar, faz com que a medicina dentária tenha um papel importante de acompanhamento, devendo incidir

em programas preventivos. Quanto mais medidas preventivas forem integradas, menos tratamentos dentários operatórios necessitam de ser realizados (77). Visto isso, estes programas têm de ser precisos e constantemente refinados conforme a necessidade e as novas descobertas da literatura, além disso, precisam de ser simplificados através de métodos *chairside* para ser mais facilmente integrado na prática clínica.

Limitações e perspectivas futuras

Após a realização deste estudo e dos objetivos cumpridos, podemos identificar como principais **limitações**:

- Não foi possível testar a importância da distinção entre espécies cariogénicas e carioprotetoras na definição do nível de risco;
- Uma vez que as recolhas não eram realizadas em consultas específicas, a sua integração era realizada antes dos procedimentos, que dependendo do mesmo, poderia trazer transtorno em relação ao tempo exigido.

Com estas limitações e depois de analisados os procedimentos, dados e resultados são feitas as seguintes **sugestões** para a continuação do trabalho:

- Aumentar a quantidade de examinadores calibrados para aumentar o número de pessoas disponíveis para fazer as recolhas;
- Integrar todos os novos pacientes que frequentam a Clínica Universitária neste estudo;
- Criação de métodos chairside, que permitam integrar os biomarcadores salivares com mais facilidade na prática clínica, uma vez que os métodos existentes são morosos e dispendiosos;
- Criar umas *guidelines* que permitam padronizar o plano de tratamento de acordo com o risco de cárie para ser utilizado na CDU-UCP.

5. Conclusões

Neste trabalho cumpriram-se os objetivos específicos de:

- Verificar a exequibilidade de aplicação do índice proposto, bem como de avaliar as alterações necessárias para aplicar o índice de forma mais generalizada na Clínica Dentária Universitária, nomeadamente em todas as primeiras consultas;
- Justificar a necessidade de investir em métodos chairside;
- Classificação de 80 pacientes de forma provisória num risco de cárie, para que no futuro possam avaliar se estes pacientes desenvolveram ou não novas lesões;
- Promover a utilização de técnicas minimamente invasivas;
- Educação dos pacientes, visto que o acompanhamento dos pacientes se torna mais preciso e personalizado. Também, permitiu a futuros médicos dentistas treinarem neste tipo de avaliação que podem depois levar para a sua prática clínica pós-graduada.

6. Bibliografia

1. Ozdemir D. Dental Caries : The Most Common Disease Worldwide and Preventive Strategies. *Int J Biol.* 2013;5:55–61.
2. Alian AY, McNally ME, Fure S, Birkhed D. Assessment of caries risk in elderly patients using the Cariogram model. *J Can Dent Assoc.* 2006 Jun;72(5):459–63.
3. Marsh PD. Dental plaque as a biofilm: the significance of pH in health and caries. *Compend Contin Educ Dent.* 2009;30(2):76—8, 80, 83—7; quiz 88, 90.
4. Silverstone LM. *Dental caries : aetiology, pathology and prevention.* London: Macmillan; 1981. 1–18 p.
5. Grigalauskiene R, Slabšinskiene E, Vasiliauskiene I. Biological approach of dental caries management. 2015;17(4):107–12.
6. Pereira AG, Neves AM, Trindade AC. Immunology of dental caries. *Acta Med Port.* 2010;23(4):663–8.
7. Chen X, Daliri EB-M, Tyagi A, Oh D-H. Cariogenic Biofilm: Pathology-Related Phenotypes and Targeted Therapy. *Microorganisms.* 2021 Jun;9(6):1311.
8. Struzycka I. The oral microbiome in dental caries. *Polish J Microbiol.* 2014;63(2):127–35.
9. Featherstone JDB, Crystal YO, Alston P, Chaffee BW, Doméjean S, Rechmann P, et al. A Comparison of Four Caries Risk Assessment Methods. 2021;2(April):1–13.
10. Belibasakis GN, Bostanci N, Marsh PD, Zaura E. Applications of the oral microbiome in personalized dentistry. *Arch Oral Biol.* 2019 Aug;104:7–12.
11. Huang X, Browngardt CM, Jiang M, Ahn S-J, Burne RA, Nascimento MM. Diversity in Antagonistic Interactions between Commensal Oral Streptococci and *Streptococcus mutans*. *Caries Res.* 2018;52(1–2):88–101.
12. Baker JL, Edlund A. Exploiting the Oral Microbiome to Prevent Tooth Decay: Has Evolution Already Provided the Best Tools? *Front Microbiol.* 2018;9:3323.
13. Abranches J, Zeng L, Kajfasz JK, Palmer SR, Chakraborty B, Wen ZT, et al. Biology of Oral Streptococci. *Microbiol Spectr.* 2018 Oct;6(5).
14. Borges T, Cardoso M, Fortuna M, Reuter C, Imperatore S, Franke S, et al. Oral hygiene, dietary habits and prevalence of dental caries in adolescents from rural and urban areas in Rio Grande do Sul, Brazil. *RGO - Rev Gaúcha Odontol [online].* 2017;65(2):139–47.
15. Su N, Marek CL, Ching V, Grushka M. Caries prevention for patients with dry mouth. *J Can Dent Assoc.* 2011;77(b85):1–8.
16. Ribeiro APD, Meyer S, Nascimento MM, Soto A. Assessment of Risk and Protective Factors for Root Caries in Older Adults. *J Dent Oral Heal.* 7:1–7.
17. Khoroushi M, Kachuie M. Prevention and Treatment of White Spot Lesions in Orthodontic Patients. *Contemp Clin Dent.* 2017;8(1):11–9.
18. Corrêa-Faria P, Paixão-Gonçalves S, Paiva SM, Pordeus IA. Incidence of dental caries in primary dentition and risk factors: a longitudinal study. *Braz Oral Res.* 2016 May;30(1):1–8.
19. Silva MP, Vettore MV, Rebelo MAB, Rebelo Vieira JM, Herkrath APC de Q, Queiroz AC de, et al. Clinical Consequences of Untreated Dental Caries, Individual Characteristics, and Environmental Factors on Self-Reported Oral Health Measures in Adolescents: A Follow-Up Prevalence Study. *Caries Res.* 2020;54(2):176–84.
20. Nakano K, Nemoto H, Nomura R, Inaba H, Yoshioka H, Taniguchi K, et al. Detection of oral bacteria in cardiovascular specimens. *Oral Microbiol Immunol.* 2009 Feb;24(1):64–8.

21. Garcia L, Uchida T, Lima J, Terada R, Pascotto R, Fujimaki M. Práticas de educação em saúde para a prevenção da cárie dentária: um estudo qualitativo com cirurgiões-dentistas. *Rev da ABENO*. 2018 Aug 7;18:62–74.
22. Gannam C V, Chin KL, Gandhi RP. Caries risk assessment. *Gen Dent*. 2018;66(6):12–7.
23. Fontana M, González-Cabezas C. Secondary caries and restoration replacement: an unresolved problem. *Compend Contin Educ Dent*. 2000 Jan;21(1):15–8, 21–4, 26.
24. Pitts NB, Zero DT, Marsh PD, Ekstrand K, Weintraub JA, Ramos-Gomez F, et al. Dental caries. *Nat Rev Dis Prim*. 2017 May;3(1):1–16.
25. Young DA, Featherstone JDB. Caries management by risk assessment. *Community Dent Oral Epidemiol*. 2013 Feb;41(1):53–63.
26. Karabekiroğlu S, Ünlü N. Effectiveness of Different Preventive Programs in Cariogram Parameters of Young Adults at High Caries Risk. Deng DM, editor. *Int J Dent*. 2017;2017:1–10.
27. Wardani R, Zubaedah C, Setiawan A. Occlusal caries risk assessment using Cariogram analysis in student aged 11-12 years. *Padjadjaran J Dent*. 2017 Mar 31;29(1):13–20.
28. Sudhir KM, Kanupuru KK, Fareed N, Mahesh P, Vandana K, Chaitra NT. CAMBRA as a Tool for Caries Risk Prediction Among 12- to 13-year-old Institutionalised Children - A Longitudinal Follow-up Study. *Oral Health Prev Dent*. 2016;14(4):355–62.
29. Francisco EM, Johnson TL, Freudenthal JJ, Louis G. Dental hygienists' knowledge, attitudes and practice behaviors regarding caries risk assessment and management. *J Dent Hyg JDH*. 2013 Dec;87(6):353–61.
30. Freitas LA, Guaré RO, Diniz MB. Caries Risk Assessment by CAMBRA in Children Attending a Basic Health Unit. 2016;16(1):195–205.
31. Kriegler K, Blue CM. Caries Management by Risk Assessment vs. Traditional Preventive Strategies: Effect on Oral Health Behaviors and Caries Diagnoses: A Retrospective Case-Control Observational Design. *Clin case reports*. 2021 Sep 13;9(e04751):1–7.
32. Featherstone JDB, Crystal YO, Alston P, Chaffee BW, Doméjean S, Rechmann P, et al. Evidence-Based Caries Management for All Ages-Practical Guidelines. Vol. 2, *Frontiers in Oral Health*. 2021. p. 1–19.
33. Featherstone J, Crystal Y, Alston P, Chaffee B, Doméjean S, Rechmann P, et al. A comparison of four caries risk assessment methods (in FRONT DENT). 2021 Apr 28;
34. Banava S, Fattah M, Kharrazifard M javad, Safaie T, Askarzadeh S, Safaie Yazdi M, et al. Clinical Comparison of Dental Caries by DMFT and ICDAS Systems TT -. *JIDA*. 2012 Jul 1;24(3):146–51.
35. Sánchez-Pérez L, Irigoyen-Camacho ME, Molina-Frechero N, Zepeda-Zepeda M. Fissure Depth and Caries Incidence in First Permanent Molars: A Five-Year Follow-Up Study in Schoolchildren. *Int J Environ Res Public Health*. 2019 Sep;16(3550):1–10.
36. Carneiro S. Aplicação do protocolo de CAMBRA® pelos médicos dentistas no atendimento clínico de pacientes infantis. [Mestrado]. 2020.
37. Doméjean S, Léger S, Simon A, Boucharel N, Holmgren C. Knowledge, opinions and practices of French general practitioners in the assessment of caries risk: results of a national survey. *Clin Oral Investig*. 2017 Mar;21(2):653–63.
38. ten Cate JM. Contemporary perspective on the use of fluoride products in caries prevention. *Br Dent J*. 2013 Feb;214(4):161–7.
39. Attin T, Hornecker E. Tooth brushing and oral health: how frequently and when should tooth brushing be performed? *Oral Health Prev Dent*. 2005;3(3):135–40.
40. Almiro P. Uma nota sobre a deseabilidade social e o enviesamento de respostas [Editorial]. *Avaliação Psicológica*, 16(3). 2017 Jul 1;16.
41. Ordem dos Médicos Dentistas. *Barómetro de Saude Oral*. 6ª edição. 2021;1–52.

42. DGS. Programa Nacional de Promoção de Saúde Oral - Circular Normativa nº01/DSE. Direção geral de saúde. 2005;
43. Mayumi F, Kubo M, Mialhe FL. Fio dental : da dificuldade ao êxito na remoção do biofilme interproximal Dental floss : from difficulty to success in the removal of interproximal biofilms. 2011;47(1):51–5.
44. Wright GZ, Banting DW, Feasby WH. Effect of interdental flossing on the incidence of proximal caries in children. *J Dent Res.* 1977 Jun;56(6):574–8.
45. Pereira C, Amaral M, Veiga N, J. P. Comportamentos de saúde oral em adolescentes portugueses. *Rev Port Saude Publica.* 2013 Jan 1;31:158–65.
46. Stewart JE, Wolfe GR. The retention of newly-acquired brushing and flossing skills. *J Clin Periodontol.* 1989 May;16(5):331–2.
47. Autio-gold JT, Tomar SL. Dental Students' Opinions and Knowledge About Caries Management and Prevention. 72(1):26–32.
48. Faria J, Figueiredo M, Simões B, Mundstock K. Análise do consumo de sacarose na dieta dos pacientes em tratamento na Clínica da Faculdade de Odontologia da Ufrgs. *Rev da Fac Odontol - UPF.* 2016 Oct 18;21.
49. Mestaghanmi H, Labriji A, M'touguy I, Kehailou FZ, Idhammou S, Kobb N, et al. Impact of Eating Habits and Lifestyle on the Oral Health Status of a Casablanca's Academic Population. *OALib.* 2018 Jan 1;05:1–16.
50. Mundstock KS. Análise do consumo de sacarose na dieta dos pacientes em tratamento na Clínica da Faculdade de Odontologia da Ufrgs. 2016;43–8.
51. Dalmolin V, Peres P, Noguera J. AÇUCAR E EDUCAÇÃO ALIMENTAR: PODE O JOVEM INFLUENCIAR ESSA RELAÇÃO? *Rev Monogr Ambient.* 2013 Jan 14;10.
52. Mitchell L. Decalcification during orthodontic treatment with fixed appliances--an overview. *Br J Orthod.* 1992 Aug;19(3):199–205.
53. Metin-Gürsoy G, Uzuner FD. The Relationship between Orthodontic Treatment and Dental Caries. In: Akarslan Z, editor. *Dental Caries.* Rijeka: IntechOpen; 2018.
54. Opsahl Vital S, Haignere-Rubinstein C, Lasfargues J-J, Chaussain C. Caries risk and orthodontic treatment. *Int Orthod.* 2010;8(1):28–45.
55. Frencken JE, Peters MC, Manton DJ, Leal SC, Gordan V V, Eden E. Minimal intervention dentistry for managing dental caries - a review: report of a FDI task group. *Int Dent J.* 2012 Oct;62(5):223–43.
56. Ripa LW, Leske GS, Varma AO. Longitudinal study of the caries susceptibility of occlusal and proximal surfaces of first permanent molars. *J Public Health Dent.* 1988;48(1):8–13.
57. Iqbal A, Khattak O, Chaudhary FA, Onazi MA Al, Algarni HA, AlSharari T, et al. Caries Risk Assessment Using the Caries Management by Risk Assessment (CAMBRA) Protocol among the General Population of Sakaka, Saudi Arabia-A Cross-Sectional Study. *Int J Environ Res Public Health.* 2022 Jan;19(3).
58. Heasman PA, Ritchie M, Asuni A, Gavillet E, Simonsen JL, Nyvad B. Gingival recession and root caries in the ageing population: a critical evaluation of treatments. *J Clin Periodontol.* 2017 Mar;44 Suppl 18:S178–93.
59. Llana-Puy C. The rôle of saliva in maintaining oral health and as an aid to diagnosis. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* 2006 Aug;11(5):E449-55.
60. Deng J, Jackson L, Epstein JB, Migliorati CA, Murphy BA. Dental demineralization and caries in patients with head and neck cancer. *Oral Oncol.* 2015 Sep;51(9):824–31.
61. Wolff A, Fox PC, Porter S, Konttinen YT. Established and novel approaches for the management of hyposalivation and xerostomia. *Curr Pharm Des.* 2012;18(34):5515–21.
62. Su N, Marek CL, Ching V, Grushka M. Caries Prevention for Patients with Dry Mouth. 2011;
63. Alves KT, Severi LSP. Componentes salivares associados à prevenção da cárie

- dental – revisão de literatura. In 2016.
64. Shekarchizadeh H, Khami MR, Mohebbi SZ, Ekhtiari H, Virtanen JI. Oral Health of Drug Abusers: A Review of Health Effects and Care. *Iran J Public Health*. 2013 Sep;42(9):929–40.
 65. Cevallos Zumarán JF, Aguirre Aguilar AA. Método pronóstico de valoración de riesgo para caries dental por consumo de chocolate. *Rev Odontológica Mex*. 2015;19(1):27–32.
 66. Dawes C. What is the critical Ph and Why does a tooth dissolve in acid? *J Can Dent Assoc*. 2004 Jan 1;69:722–4.
 67. Epple M, Enax J, Meyer F. Prevention of Caries and Dental Erosion by Fluorides-A Critical Discussion Based on Physico-Chemical Data and Principles. *Dent J*. 2022 Jan;10(1).
 68. Chaffee BW, Featherstone JDB, Gansky SA, Cheng J, Zhan L. Caries Risk Assessment Item Importance: Risk Designation and Caries Status in Children under Age 6. *JDR Clin Transl Res*. 2016 Jul;1(2):131–42.
 69. Adiningrat A, Kusmaharani H, Utami S, Astuti N. Evaluation of International Caries Detection and Assessment System (ICDAS)-related Caries Severity among Caries Risk Groups in Pendul District: An Observational Study. *J Int Soc Prev Community Dent*. 2020 Aug 6;10:498.
 70. Castelo Branco CMC, Cabral GMP, Castro AMGS, Ferreira ACFM, Bonacina CF, Lussi A, et al. Caries prevalence using ICDAS visual criteria and risk assessment in children and adolescents with cerebral palsy: A comparative study. *Spec care Dent Off Publ Am Assoc Hosp Dent Acad Dent Handicap Am Soc Geriatr Dent*. 2021 Nov;41(6):688–99.
 71. Gomes C, Lopes B, Maranhão V, Botelho K, Heimer M, Junior V. Decision-making for the treatment of occlusal caries in the Brazilian public health system. *Rev Cubana Estomatol*. 2019 Jun 1;56.
 72. Paris S, Banerjee A, Bottenberg P, Breschi L, Campus G, Doméjean S, et al. How to Intervene in the Caries Process in Older Adults: A Joint ORCA and EFCD Expert Delphi Consensus Statement. Vol. 54, *Caries research*. Switzerland; 2020. p. 1–7.
 73. Featherstone JDB, Chaffee BW. The Evidence for Caries Management by Risk Assessment (CAMBRA®). *Adv Dent Res*. 2018 Feb;29(1):9–14.
 74. Oliveira RS, Zenkner JEA, Maltz M, Rodrigues JA. Association between two visual criteria in assessing non-cavitated caries lesion activity on occlusal surfaces of permanent molars. *Clin Oral Investig*. 2015 Mar;19(2):565–8.
 75. Veiga NJ, Pereira CE, Amaral O. Prevalence and determinants of dental caries in a sample of schoolchildren of Sátão, Portugal. *Rev Port Estomatol Med Dentária e Cir Maxilofac*. 2014;55:214–9.
 76. Muro C. RELACIÓN ENTRE EL PH SALIVAL Y LA PREVALENCIA DE CARIES DENTAL EN ESCOLARES DE 6 A 12 AÑOS DE LA INSTITUCIÓN EDUCATIVA SAN GABRIEL , VILLA MARÍA DEL TRIUNFO , 2017. 2019;7(2):23–32.
 77. Hung M, Licari FW, Lipsky MS, Moffat R, Cheever VJ, Mohajeri A, et al. Early Preventive Dental Visits: Do They Reduce Future Operative Treatments? *Dent J*. 2022 Mar;10(4).

7. Anexos

Anexo 1 – 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: Microbioma Oral Humano

Objetivo: Estudar os microrganismos da cavidade oral dos utentes da Clínica Dentária Universitária através da recolha de saliva e de biofilme oral. Relacionar a presença de grupos de microrganismos com fatores demográficos e condições clínicas dos utentes.

Descrição do Estudo: Os microrganismos são parte integrante do nosso corpo. Na cavidade oral esses microrganismos formam a placa dentária que apesar de existir em simbiose connosco, pode nalgumas circunstâncias estar associada a patologias orais como cárie dentária, doença periodontal e até de perdas total de dentes.

O estudo proposto é composto por três momentos distintos. Numa primeira fase será realizado um questionário para recolha de alguns dados demográficos e clínicos incluindo a experiência de cárie pelo índice ICDAS (este exame tem a duração aproximadamente de 15 minutos). Seguidamente proceder-se-á à recolha das amostras de saliva e biofilme oral. Este procedimento demora apenas cerca de 5 minutos e é absolutamente indolor e não apresenta nenhum desconforto para o dador, nem interferem com a consulta. As amostras, depois de totalmente anonimizadas serão tratadas por técnicas de metagenómica.

Vantagens e riscos na participação solicitada: Este estudo não envolve procedimentos que não se enquadrem na prática clínica normal nem pretende testar novos produtos ou medicamentos. A participação neste estudo é totalmente voluntária e anónima, não acarretando quaisquer custos. É fundamental que perceba que pode retirar o seu consentimento em qualquer etapa do estudo. Não precisa para tal de apresentar explicações aos responsáveis pela investigação, nem terá qualquer prejuízo, assistenciais ou outros, caso não queira participar. Ao decidir participar pode colocar todas as questões que considerar necessárias para o seu esclarecimento. Mesmo depois de assinado o documento de consentimento esclarecido e informado, pode em qualquer altura solicitar a sua exclusão do estudo. Para tal basta contactar o investigador principal cuja identificação está no fim deste formulário. A sua contribuição com dados e amostras para este estudo permitirá conhecer melhor a relação entre os microrganismos da cavidade oral e a saúde dos indivíduos. Este estudo não é financiado e a participação não implica qualquer remuneração ou encargo económico para o participante. Os participantes colaboram de forma voluntária, livre e esclarecida.

Medidas de Mitigação dos Riscos Reais ou Potenciais: Uma vez que neste estudo não existem riscos para o paciente não estão previstas medidas de mitigação. Ainda assim é importante referir que os investigadores responsáveis garantem 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.

Confidencialidade e anonimato: Os investigadores garantem o anonimato e a confidencialidade dos dados recolhidos. A informação é recolhida apenas pelo Investigador 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 do Investigador, 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.

Medidas de Partilha de Benefícios:

Os resultados deste estudo serão partilhados com a comunidade científica através de publicações em revistas com revisão por pares e constituirão parte do corpo de informação e conhecimento científico que permite desenvolver novas formas de diagnóstico precoce e monitorização da saúde com a utilização de amostras não invasivas.

Recolha de Dados:

Os dados a recolher neste estudo são de duas naturezas: dados da sua história clínica que serão recolhidos do seu processo clínico confirmados por entrevista e amostras biológicas de saliva e biofilme oral (placa dentária). As recolhas das amostras biológicas são não invasivas e totalmente indolores.

Os dados recolhidos são totalmente anonimizados e os investigadores (para além do investigador principal) terão apenas acesso à informação codificada não sendo possível identificar a que indivíduo pertence.

Os dados e as amostras serão preservados durante 5 anos, período após o qual serão destruídas.

Responsável pela Investigação:

Maria José Serol de Brito Correia

Tlm: 919871348

Email: mcorreia@ucp.pt

Agradecemos o seu contributo para o desenvolvimento científico da Medicina Dentária da Universidade 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 pelo Investigador 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 nº: _____

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

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

Maria José Serol de Brito Correia

Tlm: 919871348

Email: mcorreia@ucp.pt

Anexo 2 – Questionário

Avaliação de um índice de risco de cárie numa população adulta

Start of Block: Informações pessoais

Q1 Idade do paciente

Q2 Sexo do paciente

- Male (1)
- Female (2)
- Non-binary / third gender (3)
- Prefer not to say (4)

Q3 N° do processo clínico

End of Block: Informações pessoais

Start of Block: Grupo A

Q42 Utiliza fio dentário?

- Sim (1)
- Não (2)

Q23 Escova os dentes com uma pasta fluoretada?

- Sim (1)
- Não (2)

Skip To: Q24 If Escova os dentes com uma pasta fluoretada? = Não

Q35 Quantas vezes por dia?

- 1x (1)
 - 2x ou mais (9)
-

Page Break

Q24 Utiliza um colutório com flúor (0,05% NaF) diariamente?

- Sim (1)
 - Não (2)
-

Q25 Utiliza uma pasta fluoretada 5000 ppm diariamente?

- Sim (1)
 - Não (2)
-

Q26 Alguma vez lhe foi aplicado por um profissional de saúde verniz de flúor em consultório nos últimos 6 meses?

- Sim (1)
 - Não (2)
-

Q27 Alguma vez lhe foi aplicado flúor tópico em forma de gel em consultório nos últimos 6 meses?

Sim (1)

Não (2)

Q28 Durante os últimos 6 meses utilizou clorhexidina uma vez por semana?

Sim (1)

Não (2)

Q15 Utiliza açúcar nos lanches entre as refeições?

Sim (1)

Não (2)

Skip To: Q21 If Utiliza açúcar nos lanches entre as refeições? = Não

Q36 Número de lanches com açúcar entre as refeições

1 (7)

2 (8)

3 (9)

≥ 4 (6)

Q21 Utiliza aparelho ortodôntico?

Sim (1)

Não (2)

Q17 Uso de drogas recreativas?

- Sim (1)
- Não (2)
-

Q19 Fatores que podem afetar a saliva (medicação, radiação, doenças sistêmicas)

- Sim (1)
- Não (2)
-

Q39 Fez algum destes tratamentos nos últimos 3 anos? (restaurações, TER, extrações)

- Sim (1)
- Não (2)

End of Block: Grupo A

Start of Block: Grupo B

Q7 Lesões de cárie inicial (ICDAS 1-2)?

- Sim (1)
- Não (2)

Skip To: Q5 If Lesões de cárie inicial (ICDAS 1-2)? = Não

Q6 Odontograma

Q5 Lesões de cárie moderada (ICDAS 3-4)?

- Sim (1)
- Não (2)

Skip To: Q9 If Lesões de cárie moderada (ICDAS 3-4)? = Não

Q33 Odontograma

Q9 Lesões de cáries extensas (ICDAS 5-6)?

- Sim (1)
- Não (2)

Skip To: Q16 If Lesões de cáries extensas (ICDAS 5-6)? = Não

Q34 Odontograma

Q16 Profundidade de sulcos e fissuras?

- Rasos (1)
- Profundos (2)

Q20 Exposição radicular

- Sim (1)
- Não (2)

End of Block: Grupo B

Start of Block: Grupo C

Q18 Fluxo salivar

- Baixo (1)
- Moderado (0,3-0,7ml/min) (2)

Skip To: Q40 If Fluxo salivar = Baixo (

Q31 Possui um adequado fluxo de saliva (estimulada)?

- Sim (> 1ml/min estimulada) (1)
- Não (2)

Q40 pH

Q41 Carga bacteriana total (μg) DNA.

Q13 Quantidade de bactérias cariogénicas (μg) DNA.

Q38 Bacterias com efeito protetor contra a cárie (μg) DNA.

End of Block: Grupo C

Anexo 3 – Cálculo final

	Indicadores de doenças	Fatores de risco	Fatores de proteção	Peso no cálculo final
Lesões de cárie iniciais (ativas)				+3
Lesões de cárie moderadas (ativas)				+3
Lesões de cárie extensas (ativas)				+3
Histórico de tratamentos associado a cárie nos últimos 3 anos				+2
Profundidade de sulcos e fissuras				+2
Exposição radicular				+2
Utilização de aparelho ortodôntico				+2
Frequência de lanches com açúcar				+2
Uso de drogas recreativas				+2
Fluxo salivar não estimulado <0,3ml p/min				+2
Ph salivar				+2
Carga bacteriana total				+1
Quantidade de bactérias cariogénicas				+2
Uso de fio dentário				-1
Uso de pasta fluoretada 1x p/ dia				-1
Uso de pasta fluoretada 2x p/dia				-1
Uso de colutório com fluor				-1
Pasta fluoretada 5000 ppm				-1
Verniz de fluor nos últimos 6 meses				-1
Fluor em gel nos últimos 6 meses				-1
Prescrição de clorhexidina				-1
Quantidade de bactérias carioprotetoras				-1
Fluxo salivar estimulado >1ml p/min				-1
Total				

Risco baixo	-10 a -2
Risco moderado	-1 a +2
Risco elevado	+3 a +17
Risco severo	+18 a +28

Anexo 4 – Protocolos laboratoriais

QPCR protocol for absolute quantification

Quantification of total bacterial load:

Standard Curve:

Plasmid DNA containing cloned target sequences is widely used as standards in quantitative PCR.

For the 16S rRNA gene a standard curve was obtained from *Staphylococcus Capitis*;

Plasmid DNA concentration:

16S rRNA gene construct: 516,1 ng/μL

NZYSpeedy qPCR Green Master Mix (2x) (MB22402)

NZYSpeedy qPCR Green Master Mix (2x) is ready-to-use and only requires primers and template addition. It is optimized for intercalating green dye detection on different instruments.

16S rRNA gene: annealing temperature 61.5 °C

10 μL final reaction mix:

NZYSpeedy qPCR Green Master Mix (2x): 5 μL

10 μM forward primer: 0.4 μL, final concentration: 0,4 μM

10 μM reverse primer: 0.4 μL, final concentration: 0,4 μM

DNA: 1 ng per PCR reaction

Nuclease-free water up to 10 μL

		16S rRNA gene	
95 °C 40	Forward Primer	926F AAACTCAAAGGAATTGACGG	Cycle PCR: for 2 min cycles:
	Reverse Primer	1062R CTCACRRCACGAGCTGAC	

95 °C for 5 sec

61.5 °C for 20 sec

PCR was performed using the CFX Connect Real-time PCR system, BioRad. For data analysis the formula below was used.

DNA Copy Number determination:

Number of copies = (DNA concentration (ng/μl) x [6.022 x 10²³]) / (length of template (bp) x [1x10⁹] x 650)

Preparation of standard curve

✓ gDNA extraction

For the 16S rRNA gene a standard curve was obtained from *Staphylococcus Capitis*;

- 1- Isolate genomic DNA from the cultures of *S. capitis* using the NZY Microbial gDNA Isolation kit (MB21702) according to the manufacturer's instructions.
- 2- DNA amplification by PCR according with the following protocol:

Primers (5' to 3')

	16S rRNA gene
Forward	926F AAACTCAAAGGAATTGACGG
Reverse	1062R CTCACRRCACGAGCTGAC

Optimized annealing temperature

16S rRNA gene: Ta 50 °C

NZYTaq II 2x Green Master Mix 0.2 U/μL (MB358)

Resulting PCR products have an A-overhang and are suitable for cloning with NZYTech's NZY-A PCR cloning kit (MB053);

Prepare a master mix (MM) to a final volume = 10 μL

5 μL MM

0,25 μL Primer F (10 μM), final concentration: 0,25 μM

0,25 μL Primer R (10 μM), final concentration: 0,25 μM

x μL DNA

x μL H₂O

Negative control: x μL MM + x μL H₂O

Cycle PCR:

95 °C for 15 min

35 cycles:

94 °C for 30 sec

50 °C/45 °C for 30 sec

72 °C for 20 sec

72 °C for 10 min

4 °C infinite

Confirm PCR product size on Agarose Gel (1 %):

0,6 g agarose + 60 mL TAE 1x + 2 µL GreenSafe (NZYtech)

Load in the gel: 10 µL from each sample and 3 µL ladder I (NZYtech)

Expected product size:

16S rRNA gene: 178 bp

NZY Gelpure (MB011) to purify DNA from agarose gel:

NZYGelpure kit is designed for the purification of DNA from TAE/TBE agarose gels and for direct purification of PCR products.

After purification DNA was eluted in 30 µL of EB;

Purified DNA concentration (NanoDrop):

	Conc. (ng/µL)	A260/230	A260/280
DNA 16S	22.688	0.34	1.71

PCR product cloning into the NZY-A PCR cloning kit (MB05301, including competent cells)

NZY-A PCR cloning kit was designed to allow the direct cloning of PCR products with 3'-A overhangs, which result from amplifications using non-proofreading DNA polymerases. The cloning vector was prepared by cutting NZYTech's pNZY28 with EcoRV and adding a 3' terminal thymidine at both ends.

Cloning and transformation are performed according to the manufacturer's instructions.

Insert preparation:

We recommend using a 1:3 molar ratio of vector:insert and starting with 50 ng of pNZY28-A vector. To calculate the optimal amount of PCR product required, use the following equation:

$$\frac{\text{ng of vector} \times \text{kb size of insert} \times \text{molar ratio of insert}}{\text{kb size of vector}} = \text{ng of insert vector}$$

16S rRNA gene: 7,3 ng DNA (insert size 0,14 kb)

Vector size: 2,88 kb

Vector concentration: 50 ng/µL

Components	16S rRNA gene	Control reaction (NZY-A positive control insert)
NZY-A buffer	5 μ L	5 μ L
pNZY28-A vector	1 μ L	1 μ L
PCR fragment	0,32 μ L	3 μ L
T4 DNA Ligase	1 μ L	1 μ L
Nuclease-free water	2,68 μ L	-

Note: Final volume: 10 μ L

Transformation:

Prepare LB agar plates containing 100 μ g/mL ampicillin, 15 μ g/mL tetracycline, 100 μ g/mL X-gal and 0.5 mM IPTG;

SOC medium (S1797 - 10x5ML, Sigma) is necessary for the transformation protocol;

Plasmid DNA isolation (NZYMiniprep, MB01001)

Pick a single colony from a freshly streaked selective plate and inoculate a culture of 1–5 mL LB medium containing the appropriate selective antibiotic. Incubate for 12–16 h at 37 °C with vigorous shaking.

Isolate plasmid DNA according to the manufacturer's instructions.

Screening for recombinants:

Cut pNZY28 vector with EcoR I or BamH I to excise the cloned insert or send samples to sanger sequencing.

Plasmid DNA isolation (NZYMidiprep, MB05004)

After screening for recombinants and check the correct insert insertion, prepare highly pure plasmid DNA (typically 100 μ g) to use in quantitative real-time PCR experiments.