



CATOLICA
FACULDADE DE MEDICINA DENTÁRIA

UISEU

CARIOCHECK – UM ÍNDICE MICROBIANO PREDITOR DO RISCO DE CÁRIE?

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

Por:
Mélanie Lopes Ferreira

Viseu, 2024



CATOLICA
FACULDADE DE MEDICINA DENTÁRIA

UISEU

CARIOCHECK – UM ÍNDICE MICROBIANO PREDITOR DO RISCO DE CÁRIE?

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

Por:

Mélanie Lopes Ferreira

Orientadora: Professora Doutora Maria José Correia

Coorientadores: Doutora Ana Peixoto Gomes e Mestre Pedro Campos Lopes

Viseu, 2024

Agradecimentos

À minha orientadora, **Professora Doutora Maria José Correia** pela sua orientação e paciência. Sua expertise foi fundamental para a concretização deste trabalho.

À minha coorientadora, **Professora Doutora Ana Peixoto Gomes** pela disponibilidade, simpatia e apoio constante ao longo deste projeto.

Ao meu coorientador e amigo, **Mestre Pedro Campos Lopes** pela disponibilidade, apoio e amizade que trouxeram um valor inestimável a esta caminhada.

Ao SalivaTec em especial à **Professora Doutora Karina Mendes, à Mónica e à Marla** pelo trabalho laboratorial realizado, ajuda e palavras de incentivo.

À Instituição, Professores e funcionários por terem sido a minha casa durante estes anos e por toda a partilha de conhecimento.

Aos meus pais por todo o apoio e por me permitirem realizar mais um dos meus sonhos. Sem vocês, nada disto seria possível. Sou eternamente grata!

Ao meu binómio, Duarte, pela partilha, amizade e pelo companheirismo.

Aos meus colegas, especialmente à **Beatriz, Carla, Tatiana, José Miguel, Leandro, Carolina, Francisco e André**, com quem criei das amizades mais bonitas, pela boa disposição e pelos bons momentos passados juntos.

À Joana, por ter colaborado comigo na recolha de dados.

Aos meus amigos, especialmente à **Maria e à Andreia** por todo o apoio e amizade.

À minha família, pelo apoio.

A todos os pacientes e participantes que se disponibilizaram para a realização deste estudo e pela confiança no meu trabalho.

Resumo

Introdução: Embora existam índices para cálculo do risco de cárie, como o CAMBRA, estes não são usados rotineiramente pelos dentistas. Estes índices, ao permitir determinar o risco de cárie, possibilitam a personalização do plano de tratamento do paciente e das medidas preventivas a aplicar.

Objetivos: Este estudo visa desenvolver e validar um índice de cálculo do risco de cárie em adultos baseado no CAMBRA, mas com quantificação de bactérias cariogénicas e carioprotetoras. Adicionalmente, procura avaliar se os indicadores microbiológicos, por si só, são suficientes para prever o risco de cárie.

Materiais e métodos: Este é um estudo observacional transversal que contou com o exame de 99 pacientes que frequentaram a Clínica Dentária Universitária da Universidade Católica Portuguesa. Todos os pacientes responderam a um questionário, foram submetidos a uma avaliação intraoral e forneceram uma amostra de saliva. Dezassete pacientes foram reavaliados 6-8 meses depois da primeira observação.

Resultados: A inclusão de parâmetros microbiológicos no índice de risco CAMBRA e a comparação do risco com e sem indicadores microbianos revelou que não há alteração do risco de cárie na maioria dos pacientes. No entanto, ao usar um índice apenas com a quantificação microbiana, os níveis de risco para os mesmos pacientes aumentaram significativamente. Verificou-se ainda que, embora exista uma associação entre as bactérias cariogénicas e o risco de cárie, não foi possível verificar qualquer associação entre as bactérias carioprotetoras analisadas e o risco de cárie.

Conclusão: A inclusão de parâmetros microbiológicos no cálculo de risco usando o CAMBRA não parece acrescentar muito ao cálculo de risco apenas com o CAMBRA. As bactérias cariogénicas quantificadas parecem ser bons indicadores do risco de cárie, mas as bactérias carioprotetoras usadas como indicadores deverão ser reavaliadas em trabalhos futuros.

Palavras-chave: Cárie dentária, Bactérias cariogénicas, Bactérias carioprotetoras, Cálculo de Risco.

Abstract

Introduction: While there are caries risk indices like CAMBRA, they are not routinely used by dentists. These indices, by determining caries risk, allow for the personalization of patient treatment plans and the application of preventive measures.

Objectives: This study aims to develop and validate a caries risk assessment index for adults based on CAMBRA, incorporating the quantification of cariogenic and carioprotective bacteria. Additionally, it seeks to evaluate whether microbiological indicators alone can sufficiently predict caries risk.

Materials and Methods: This cross-sectional observational study involved the examination of 99 patients attending the Dental Clinic of the Universidade Católica Portuguesa. All participants completed a questionnaire, underwent an intraoral examination, and provided a saliva sample. Seventeen patients were re-evaluated 6-8 months after the initial observation.

Results: Incorporating microbiological parameters into the CAMBRA risk index and comparing risk levels with and without microbial indicators revealed that there was no change in caries risk for most patients. However, using an index based solely on microbial quantification significantly increased the risk levels for the same patients. It was also found that while there is an association between cariogenic bacteria and caries risk, no association could be established between the analyzed carioprotective bacteria and caries risk.

Conclusion: The inclusion of microbiological parameters in the CAMBRA risk calculation does not significantly enhance the risk assessment compared to using CAMBRA alone. Cariogenic bacteria appear to be good indicators of caries risk, but the use of carioprotective bacteria as indicators should be re-evaluated in future studies.

Keywords: Dental caries, Cariogenic bacteria, Cario-protective bacteria, Risk calculation

Índice Geral

Agradecimentos	V
Resumo	VII
Abstract	IX
Índice de abreviaturas	XV
Índice de tabelas e figuras	XVI
1. Introdução	1
1.1 Estrutura dentária	4
1.2 Avaliação do risco de cárie dentária em ambiente clínico	5
1.3 Microbioma oral	6
2. Materiais e métodos	13
2.1 Caracterização do estudo	15
2.2 Caracterização da amostra.....	15
2.3 Princípios éticos.....	16
2.4 Treino e calibração	16
2.5 Recolha da amostra	16
2.5.1 O questionário	16
2.5.2 Exame clínico.....	17
2.5.3 Recolha e processamento de saliva.....	18
2.6 Cálculo de risco	18
3. Resultados	21
3.1 Caracterização demográfica da amostra em estudo	23
3.2 Caracterização dos hábitos de higiene oral	24
3.3 Caracterização dos hábitos alimentares	27
3.4 Caracterização de fatores que predispõem a acumulação de placa bacteriana	28
3.5 Caracterização de fatores associados ao fluxo salivar	30
3.6 Caracterização da análise salivar	30
3.7 Caracterização de resultados decorrentes da avaliação oral	31
3.8 Cálculo de risco de desenvolver lesões de cárie	32
3.9 Risco de desenvolver lesões de cárie com a adição de fatores microbianos	33
3.10 Análise dos fatores microbianos	34
3.11 <i>Recalls</i>	35
4. Discussão de resultados	37
4.1 Hábitos de higiene oral	39

4.2 Hábitos alimentares	40
4.3 Fatores que contribuem para a acumulação de placa bacteriana	41
4.4 Fatores que afetam o fluxo salivar	42
4.5 Análise de saliva	43
4.6 Indicadores de doença.....	43
4.7 Cálculo de risco de desenvolver lesões de cárie	44
4.8 <i>Recalls</i>	45
4.9 Considerações finais.....	46
4.10 Limitações e perspectivas futuras	48
5. Conclusões.....	51
6. Referências bibliográficas.....	55
7. Anexos	63
Anexo 1 – Consentimento informado	65
Anexo 2 – Questionário.....	68
Anexo 3 – Sequências de primers.....	86
Anexo 4 – Protocolo laboratorial.....	87
Anexo 5 – Cálculo de risco	91

Índice de abreviaturas

CAMBRA – *Caries Managment by Risk Assessment*

FMD – Faculdade de Medicina Dentária

FMD-UCP – Faculdade de Medicina Dentária da Universidade Católica Portuguesa

ICDAS – *International Caries Detection and Assessment System*

OMS – Organização Mundial de Saúde

Índice de tabelas e figuras

Tabela 1 Definição dos códigos do ICDAS II (tabela adaptada do artigo International Caries Detection and Assessment System (ICDAS): A New Concept (19).....	17
Tabela 2 Intervalos definidos para o risco de cárie quando adicionado com fatores microbianos.	19
Tabela 3 Carga total bacteriana e níveis de bactérias cariogénicas e carioprotetoras em pacientes com risco elevado de cárie.....	34
Figura 1 Anatomia dentária (Imagem adaptada do artigo Inflammatory Response Mechanisms of the Dentine–Pulp Complex and the Periapical Tissues) ((9))....	4
Figura 2 Distribuição da população de acordo com o género.	23
Figura 3 Gráfico representativo da distribuição de idades dos indivíduos da amostra.	24
Figura 4 Distribuição da amostra relativamente ao número de escovagens com uso de pasta dentífrica fluoretada.	24
Figura 5 Relação entre a idade e o número de escovagens diárias.....	25
Figura 6 Distribuição da amostra relativamente ao uso diário de fio dentário.	25
Figura 7 Distribuição da amostra relativamente à utilização diária de colutório de flúor (0,05 NaF).	26
Figura 8 Distribuição da amostra relativamente ao uso de uma pasta fluoretada de 5000ppm.	26
Figura 9 Distribuição da amostra relativamente à aplicação de verniz de flúor por um Médico Dentista.....	27
Figura 10 Distribuição da amostra de acordo com o consumo de açúcar nos lanches entre as refeições principais.	28
Figura 11 Distribuição da amostra de acordo com o número de lanches com consumo de açúcar.	28
Figura 12 Distribuição da amostra relativamente ao uso de aparelho ortodôntico.	29
Figura 13 Distribuição da amostra de acordo com a profundidade de sulcos e fissuras de pré-molares e molares.	29

Figura 14 Distribuição da amostra relativamente à presença de algum fator que pode influenciar o fluxo salivar.	30
Figura 15 Distribuição da amostra relativamente ao pH salivar.....	31
Figura 16 Distribuição da amostra relativamente ao histórico de tratamentos realizados nos últimos 3 anos.	31
Figura 17 Distribuição da amostra relativamente à lesão de cárie avaliada usando a classificação ICDAS II (28).	32
Figura 18 Comparação entre o risco de desenvolver lesões de cárie apenas com o CAMBRA, CAMBRA com adição de carga total, CAMBRA com adição de carga total e bactérias e apenas bactérias.....	33

1. Introdução

A cárie dentária é a doença oral mais prevalente no mundo, tendo até impacto na saúde geral (1). Em 2012, a Organização Mundial de Saúde (OMS) referiu que 60-90% das crianças escolarizadas e quase 100% da população adulta é portadora de cárie dentária (1). Esta doença tem um impacto significativo na qualidade de vida, afetando o bem-estar dos indivíduos e custos associados para cada indivíduo, como para famílias e para a sociedade de modo geral (2). Sabe-se que indivíduos que tenham cuidados de higiene oral e com sua alimentação têm menor probabilidade de desenvolver doenças orais (3). Além de todos os motivos mencionados anteriormente, doenças orais não tratadas podem provocar o aparecimento de doenças sistêmicas (4). É conhecido que a disbiose da microbiota oral é suscetível de desencadear o aparecimento de doenças sistêmicas, tais como doenças gastrointestinais, do sistema nervoso, do sistema endócrino como a diabetes, doenças do sistema imunitário e até no sistema cardiovascular (5).

A cárie dentária é uma patologia multifatorial. Keyes propôs como fatores principais envolvidos na formação da cárie dentária: o dente, as bactérias e a dieta (6). No entanto vários autores têm proposto a adição de outras dimensões como por exemplo o tempo (7). Mas sem dúvida que os fatores que contribuem para a cárie dentária dependem do hospedeiro, quer das suas características físicas (como a composição do esmalte ou da saliva), quer dos seus hábitos (como a dieta ou a higiene oral). No entanto, estes fatores influenciam em grande medida a composição da microbiota oral e, portanto, a quantidade e tipo de microrganismos que estão presentes no dente, completando assim a tríade de Keyes (6).

A etiologia bacteriana da cárie dentária não está totalmente esclarecida, uma vez que a microbiota oral é complexa, sendo uma das mais diversas do organismo humano (8). Sabemos já que a cárie dentária resulta da interação entre os fatores identificados por Keyes e, por isso, se conseguirmos identificar algum conjunto de espécies bacterianas associadas à cárie dentária, poderemos identificar potenciais biomarcadores que ajudarão na avaliação do risco de cárie dentária, no diagnóstico e, portanto, que permitam escolher os meios de prevenção e tratamento mais eficazes para aquele indivíduo.

1.1 Estrutura dentária

Os dentes são estruturas constituídas por tecidos duros (esmalte, dentina e cimento) e tecidos moles (polpa e ligamento periodontal) (2).

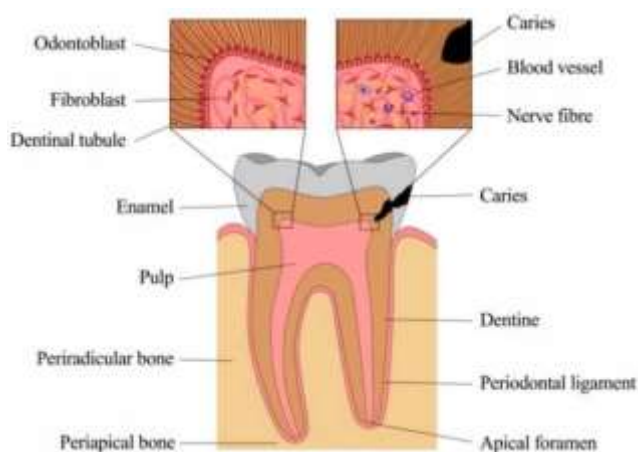


Figura 1 Anatomia dentária (Imagem adaptada do artigo *Inflammatory Response Mechanisms of the Dentine–Pulp Complex and the Periapical Tissues*) ((9)).

Todos os tecidos que constituem os dentes são suscetíveis de sofrer lesões por ação dos microrganismos ou pela infiltração de microrganismos que atingem zonas estéreis provocando infecções (9). Os indivíduos que apresentam sulcos profundos, nomeadamente nos dentes posteriores, estão mais propensos a desenvolver cárie dentária, uma vez que a acumulação de resíduos alimentares e a colonização bacteriana será mais fácil e a higiene um pouco mais difícil (9).

Um fluxo salivar reduzido e a falta de cuidados de higiene oral, como a escovagem diária e utilização de fio dentário, fazem com que bactérias capazes de fermentar açúcares, produzam ácido láctico, desequilibrando o pH e contribuindo para uma alteração na eubiose, levando ao desenvolvimento da cárie dentária (8). Alguns tipos de medicamentos afetam a função das glândulas salivares, e, por consequência, a produção de saliva. Sabe-se que a redução do fluxo salivar aumenta o risco de doenças dentárias, provocando alterações a nível fisiológico, diminuindo a qualidade de vida das pessoas (10). Os fármacos com maior potencial para redução do fluxo salivar são anti-histamínicos, antidepressivos, antieméticos, anti-hipertensivos, antiparkinson,

antispasmódicos e sedativos (11).

Alterações no tipo de dieta do hospedeiro, falta de atividade física, consumo de tabaco e/ou álcool, também afetam esta relação de equilíbrio, que, quando alterada, facilita a progressão das patologias orais (12). A dieta rica em açúcares é o fator mais relevante quando se fala de cárie (13) e é caracterizada pela ingestão frequente de bebidas e alimentos ricos em hidratos de carbono fermentáveis (14). As bactérias presentes à superfície dos dentes metabolizam os açúcares consumidos, resultando em ácido. Se este processo for prolongado, o pH da placa bacteriana diminui e faz com que o esmalte se desmineralize, levando então à formação de cárie (15). Costuma-se encorajar os pacientes a evitar o consumo frequente de bebidas e alimentos açucarados, evitar lanches ricos em açúcar e escovar os dentes rapidamente após o consumo deste tipo de dieta (15). Uma dieta cariogénica, para além de ter repercussões na saúde oral, também tem um efeito prejudicial na saúde geral, levando à obesidade, aparecimento da diabetes e doenças cardiovasculares (16).

1.2 Avaliação do risco de cárie dentária em ambiente clínico

A avaliação do risco de cárie é importante para identificar o risco de desenvolver lesões de cárie, sendo possível individualizar um plano de tratamento que proporcione medidas preventivas que evitem o aparecimento ou a progressão da doença, adaptadas a um paciente específico. Neste sentido, as consultas com regularidade ao médico dentista são importantes, mas a sua frequência deve depender do risco de cárie que o indivíduo apresenta. Um plano de tratamento individualizado servirá como ferramenta de motivação para hábitos de higiene oral no paciente e, obviamente, se um paciente tiver um risco de cárie mais elevado, terá que consultar o seu médico dentista com maior frequência (17).

Vários estudos demonstraram que tanto o CAMBRA (Caries Management by Risk Assessment) como o cariograma (18) são ferramentas com capacidade de avaliar o risco cariogénico e auxiliam na gestão da doença. Para identificar/atingir os fatores de risco, tanto ambientais como biológicos que

contribuem para a progressão desta doença, a avaliação do risco de cárie visa a realização de um plano de tratamento individualizado (19). O plano de tratamento individualizado deve considerar o contexto económico e social do indivíduo. No entanto, visa melhorar o estilo de vida (dieta, menos ingestão de açúcar), mas também o tratamento restaurador (20).

O método CAMBRA baseia-se na pesquisa de fatores que contribuem para a progressão ou reversão da cárie dentária e continua a ser atualizada com base nos resultados clínicos (21). O grau de risco de cárie é determinado pelo médico dentista como baixo, moderado, alto ou muito alto/extremo, ponderando a observação clínica, os fatores preventivos, fatores de risco biológicos e ambientais, mas também o julgamento clínico (19).

O cariograma é uma ferramenta computadorizada onde se introduzem os resultados de um questionário aplicado ao paciente, da avaliação clínica e dos testes de saliva para determinar o perfil de risco de cárie dentária do paciente (18). Além de fornecer o perfil de risco, ainda identifica quais os fatores de risco envolvidos de forma a personalizar o tratamento (22). No entanto, alguns autores referem que o sentido crítico do médico dentista também é importante, porque a previsão do risco não depende apenas do resultado do programa (23).

1.3 Microbioma oral

Como referido anteriormente, um dos fatores a ter em conta em relação à carie dentária são os microrganismos presentes no microbioma oral. O microbioma oral é constituído por uma comunidade microbiana diversificada e complexa, que é responsável pelo equilíbrio entre a saúde e a doença na cavidade oral, devido a mudanças no seu meio ambiente (1). As bactérias envolvidas no desenvolvimento da cárie dentária têm como fatores de virulência principais a capacidade de produzir ácido (acidogénese) e a capacidade de sobreviver em ambientes de baixo pH (acidotolerância ou acidúria) (1). Os ácidos produzidos pela fermentação dos hidratos de carbono presentes na dieta do hospedeiro afetam a desmineralização dos tecidos

dentários. Este processo repetido conseqüentemente leva à destruição da homeostase fazendo com que haja um desequilíbrio na desmineralização-rem mineralização e conseqüente perda mineral dos tecidos duros, resultando assim no desenvolvimento da cárie dentária (15).

Streptococcus mutans (*S. mutans*) é a bactéria que mais tradicionalmente é associada à cárie dentária, pela comunidade científica (12). No entanto, diversos estudos demonstram que não é a única espécie responsável pelo aparecimento de cárie já que, por vezes, esta doença se desenvolve sem a presença desta espécie e várias outras bactérias partilham os fatores de virulência relevantes para a etiologia desta doença (1). Essas espécies são *Streptococcus salivarius* (*S. salivarius*) e *Streptococcus gordonii* (*S. gordonii*), menos tolerantes ao pH ácido e associadas à cárie de esmalte e desempenham um papel importante na fisiologia ácido-base da cavidade oral (24). Estudos recentes mostram que os géneros *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Actinomyces* e *Prevotella* estão associadas a cáries em dentina e por isso sugerem que as bactérias responsáveis pela cárie de esmalte serão diferentes das bactérias envolvidas na cárie dentinária (25).

Um estudo de revisão sistemática em preparação, com o objetivo de caracterizar os géneros e espécies encontradas em amostras de saliva e biofilme oral de indivíduos com cárie e sem cárie, mostrou que em indivíduos sem cárie dentária, foram encontrados os géneros *Alloprevotella*, *Fusobacterium*, *Gemella*, *Haemophilus*, *Neisseria*, *Prevotella* e *Veillonella*. No entanto, em indivíduos com cárie foram encontrados os géneros *Fretibacterium*, *Lactobacillus*, *Leptotrichia*, *Rothia*, *Spirochaetes*, *Streptococcus* e *Veillonella*. É possível reparar que apenas a *Veillonella* está incluída nos dois grupos. Com a ajuda deste trabalho de revisão, é possível também associar as espécies *Actinomyces johnsonii*, *Actinomyces naeslundii*, *Actinomyces johnsonii*, *Cardiobacterium hominis*, *Corynebacterium durum*, *Corynebacterium matruchotii*, *Fusobacterium nucleatum*, *Gemella sanguinis*, *Neisseria elongata* e *Rothia dentocariosa* a amostras de saliva e biofilme oral de indivíduos sem cárie. As espécies carioprotetoras têm como função a proteção do dente e,

consequente, diminuição do risco de desenvolvimento de cárie. Assim, o facto de termos espécies cariogénicas elevadas numa amostra, não significa obrigatoriamente que o paciente tenha um alto risco de cárie. As espécies carioprotetoras podem estar também mais aumentadas e neutralizarem a patogenicidade das cariogénicas. Neste estudo foi ainda possível verificar que em indivíduos com cárie é frequente encontrar as espécies *S. mutans*, *Cryptobacterium curtum*, *Prevotella denticola* e *Shuttleworthia satelles* em amostras de biofilme oral e saliva.

A forte associação da composição do microbioma oral, nomeadamente de *S. mutans* à carie dentária, levou ao desenvolvimento de testes que avaliam o risco de cárie através de indicadores microbiológicos. Um deles, o CariScreen *testing* avalia o risco de cárie através da bioluminescência de ATP para identificar a carga bacteriana oral, enquanto o Carie Risk test (CRT) utiliza o meio de cultura seletivo para *S. mutans* e *Lactobacilli* para aceder ao risco de cárie. Para além destes, está disponível no mercado o teste *chairside Saliva Check mutans* que é um teste imunocromatográfico que usa dois anticorpos monoclonais para a deteção de *S. mutans*,

Em 2019, foi publicado um estudo onde foi avaliada a eficiência destes testes na deteção de bactérias cariogénicas, usando amostras de saliva ou biofilme de crianças com cárie moderada e mostrou que estes testes são eficientes na deteção precoce de cárie. Os testes CariScreen CRT mostraram ser altamente eficientes na avaliação do risco de cárie. O resultado demonstrado pelo CariScreen mostrou ser bastante promissor na avaliação do risco de cárie dentária, no entanto, o seu custo é uma grande desvantagem apesar de ser de uso fácil e fornecer um resultado quase imediato (26).

Outro estudo usa um método de deteção por imunoensaio “Saliva-Check Mutans” para a deteção rápida de *S. mutans* na saliva dos pacientes. Este método usa anticorpos monoclonais específicos para *S. mutans* e, passado 15 minutos a reação entre o antígeno e os anticorpos pode ser avaliada. Também refere outro kit “SalivaCheck IgA Mutans” onde partem do princípio de que a Imunoglobulina A (IgA) poderá impedir a colonização de *S. mutans*. Um baixo nível de IgA presente na saliva do paciente pode ser indicador de um alto nível

de *S. mutans*, aumentando assim o risco de cárie dentária. Ambos os kits requerem a recolha de saliva estimulada com pastilha de Parafilm® (27).

Os resultados “analíticos” destes testes foram integrados com dados clínicos no software “Cariogram”. Este software produz um diagrama com o risco de cárie do paciente conjugando os resultados do teste microbiológico e resultados clínicos. Os autores deste estudo concluíram que a combinação dos métodos Saliva-Check Mutans e do Saliva-Check IgA são fiáveis e com elevada especificidade e sensibilidade. Os resultados são considerados próximos de uma previsão ideal do risco de cárie (27).

Da pesquisa efetuada até agora só foram encontrados testes microbiológicos desenvolvidos para a deteção do risco de cárie cujo alvo é apenas *S. mutans*. No entanto, como foi mencionado anteriormente, esta não é a única bactéria responsável pelo desenvolvimento de cárie dentária. A proposta deste trabalho é que sejam incluídos outros microrganismos nos índices de risco de cárie, nomeadamente bactérias carioprotetoras e cariogénicas para melhorar a avaliação de risco de cárie de um indivíduo.

Assim, o presente estudo tem como principais objetivos:

1. Ampliar a quantidade de amostras recolhidas e avaliadas no âmbito do projeto Cariocheck em curso desde 2021/2022, voltando a fazer *recall* dos pacientes ao fim de 6 meses da observação inicial e avaliar a capacidade dos indicadores microbiológicos e bioquímicos serem suficientes para a previsão do risco de cárie.
2. Desenvolver um índice “Cariocheck” que cruze os dados definidos pela observação clínica (ICDAS II) (28) e do microbioma oral específico para cárie dentária (método de identificação laboratorial) que utilizarão novos indicadores microbiológicos como a quantificação de microrganismos cariogénicos e carioprotetores nas amostras recolhidas desde o início do projeto.

Este projeto está associado a um estudo decorrente na Faculdade de Medicina Dentária (FMD) relacionado com o Microbioma Oral, em que é analisado o microbiota associado à cárie. Este estudo decorre na FMD desde 2021 e alguns resultados foram publicados como resultados preliminares por dois alunos da FMD (29, 30).

2. Materiais e métodos

2.1 Caracterização do estudo

O presente estudo caracteriza-se como observacional transversal, incluído num estudo longitudinal. Neste estudo inclui-se a realização de um questionário a cada paciente, que foi previamente ajustado de outros estudos realizados anteriormente, uma avaliação intraoral para verificação da presença de cáries através do Sistema Internacional para a Detecção de Cáries (ICDAS II) (28), a recolha de amostras de saliva estimulada e não estimulada e de biofilme oral. O método usado para avaliar o risco de cárie dentária foi o CAMBRA. A amostra analisada posteriormente foi constituída por pacientes que frequentam a Clínica da FMD-UCP ao longo do ano letivo.

2.2 Caracterização da amostra

A amostra deste estudo foi composta por pacientes que frequentam a Clínica Dentária da Universidade Católica Portuguesa de Viseu (FMD-UCP), sendo por consequente considerada uma amostra de conveniência. Cada paciente participou de forma voluntária e assinou um consentimento informado. A seleção dos participantes foi definida de acordo com 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, apresentaram idade inferior a 18 anos, tivessem realizado terapia antibiótica nos últimos 3 meses e que tivessem realizado a higiene oral ou ingerido alimentos num espaço inferior a 1 hora antes da recolha.

2.3 Princípios éticos

Todos os pacientes que participaram no estudo foram solicitados a ler e assinar o consentimento informado (Anexo 1). A confidencialidade dos dados dos participantes foi assegurada e a utilização dos mesmos foram exclusivamente usados para esta pesquisa.

2.4 Treino e calibração

O presente estudo foi realizado por vários investigadores. Com o objetivo de obter um resultado transversal, realizou-se a calibração prévia de cada operador, com intuito de utilizar o ICDAS II (28). A calibração foi executada com o autor da monografia anterior (VR) (29), o autor da presente monografia (MF) e um colega investigador (JC).

A calibração foi dividida em três etapas:

1. Revisão da literatura e do protocolo proposto pelo Comité do ICDAS II (28)
2. Através de uma apresentação de várias fotografias de casos clínicos, de modo a exemplificar os códigos usados pelo ICDAS II (28)
3. Calibrações entre todos os alunos participantes no estudo.

2.5 Recolha da amostra

A recolha das amostras iniciou-se no mês de outubro, na Clínica Universitária, no início de cada consulta.

2.5.1 O questionário

Foi aplicado um questionário (Anexo 2) a cada participante com questões relacionadas com os seus hábitos de higiene oral, saúde no seu geral e com a avaliação do estado de saúde oral. No seu geral, este questionário permite ter uma visão completa dos comportamentos e hábitos de cada um dos

pacientes estudados. Todas estas informações são variáveis de paciente para paciente.

2.5.2 Exame clínico

A cárie dentária é avaliada através do Sistema Internacional para a Detecção e Avaliação de Cáries (ICDAS II) (28) em todos os dentes da cavidade oral, em qualquer face do dente, desde que haja presença de lesão cariiosa.

Este sistema de avaliação deve ser usado em dentes limpos e secos porque permite a detecção de lesões que não estejam cavitadas. Os códigos variam de 0 a 6 (Tabela 1) dependendo da gravidade da lesão. Isto depende de vários fatores que incluem as características das superfícies, a existência de dentes adjacentes e se a cárie observada está associada a algum tipo de restauração ou selante de fissura (28).

Tabela 1 Definição dos códigos do ICDAS II (tabela adaptada do artigo *International Caries Detection and Assessment System (ICDAS): A New Concept* (19).

Código ICDAS	Descrição
0	Sem evidência de cárie após 5 segundos de secagem
1	Opacidade ou descoloração do esmalte visível após uma secagem prolongada.
2	Alteração em esmalte visível durante a secagem.
3	Cavidade localizada no esmalte, sem exposição de dentina, observado em secagem prolongada.
4	Sombra de lesão com dentina visível.
5	Cavidade em volta de uma restauração ou selante com dentina visível, maior que 0,5mm.
6	Cavidade muito invasiva, com exposição de dentina

Foi igualmente medida a profundidade dos sulcos e fissuras dos dentes, recorrendo à observação clínica e ao uso de uma sonda milimetrada.

2.5.3 Recolha e processamento de saliva

Foram selecionados os pacientes que não realizaram a sua higiene oral nem ingeriram alimentos ou até mesmo água uma hora antes do procedimento de recolha de saliva, para garantir uma uniformidade no método de recolha.

Primeiramente realizou-se a recolha de saliva não estimulada. Com o paciente sentado numa posição confortável e relaxado, foi-lhe pedido para acumular saliva na boca e, de seguida, expelir para um tubo graduado, durante 2 minutos medidos com um temporizador digital (31).

Se o valor do fluxo salivar na ausência de estímulo fosse moderado (0,3-0,7 ml/min), efetuou-se a recolha de saliva estimulada com recurso a uma película de Parafilm CRT® Buffer, mastigada durante 30 segundos, e posterior expelição para um novo tubo graduado, novamente durante 2 minutos (31).

Realizou-se a medição de pH utilizando um medidor de pH digital [Hannah Instruments HI1083] no laboratório SalivaTec. Este instrumento mediu com precisão o nível de acidez da saliva recolhida. Antes de cada utilização, o eléctrodo foi lavado com água Mili-Q (água destilada, filtrada e purificada). Em seguida, passou-se então para o processamento da amostra onde, posteriormente, foi avaliada a composição microbiológica (31).

Relativamente ao processamento das amostras, estas foram alíquotadas em tubos Eppendorf e conservadas numa arca a -80°C (31). Para a análise destas amostras, foi realizado um qRT-PCR usando primers universais para proceder à quantificação da carga bacteriana total (16S) e primers específicos para a quantificação das espécies cariogénicas *S. mutans* e *S. sobrinus* e das espécies carioprotetoras *S. mitis* e *A. johnsonii* (anexo 3). A estimativa do número de cópias presentes em cada amostra foi calculada usando os métodos descritos no Anexo 4.

2.6 Cálculo de risco

O cálculo de risco consiste na adição dos valores atribuídos a cada parâmetro (ver Anexo 5). O valor total foi inserido nos intervalos apresentados no fim do anexo 5.

No entanto, no caso do cálculo final onde estão incluídas as bactérias,

houve necessidade de fazer um ajuste, mudando os intervalos totais para determinação do risco de cárie.

Tabela 2 Intervalos definidos para o risco de cárie quando adicionado com fatores microbianos.

Risco baixo	Abaixo de -15 a -4
Risco moderado	-3 a +4
Risco elevado	+5 a +19
Risco muito elevado	Acima de +20

Sempre que houve necessidade de inserir bactérias no cálculo, foi usada a Tabela 2.

3. Resultados

3.1 Caracterização demográfica da amostra em estudo

Para este estudo, a população selecionada foi obtida por meio de uma amostra de conveniência de pacientes que frequentaram a Clínica da Universidade Católica de Viseu, durante o período de recolha de dados, e que atenderam aos critérios de inclusão/exclusão estabelecidos previamente. A amostra final contabilizou um total de 99 pacientes observados durante o ano letivo 23/24.

Conforme descrito na figura 2, observamos que 29% da amostra total são pacientes do sexo masculino e 71% do sexo feminino.

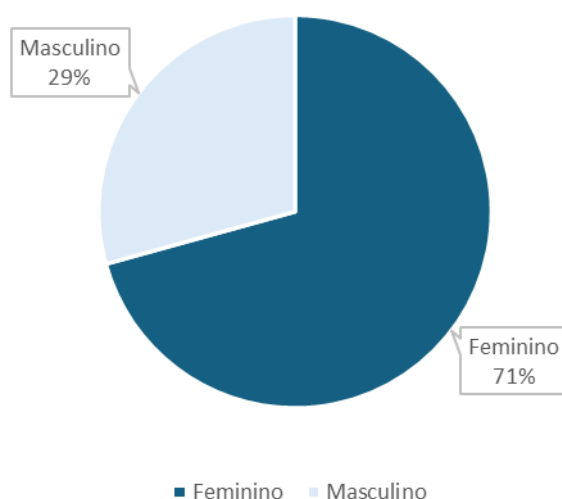


Figura 2 Distribuição da população de acordo com o género.

No que diz respeito à faixa etária, a recolha de dados foi realizada numa população adulta, com uma média de idade de 29 anos. No entanto, a amostra apresenta uma variedade de idades, o paciente mais jovem tinha 21 anos e o mais idoso tinha 64 anos.

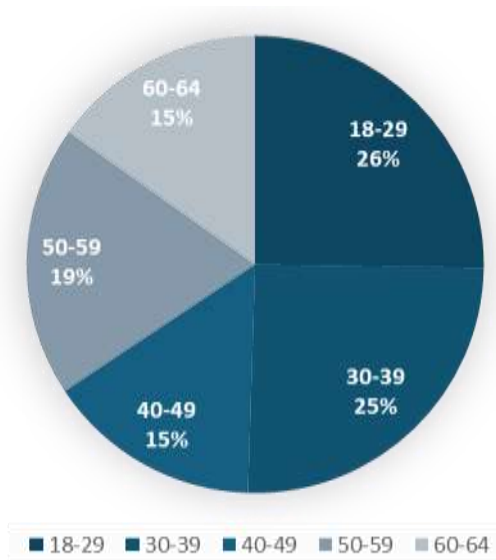


Figura 3 Gráfico representativo da distribuição de idades dos indivíduos da amostra.

3.2 Caracterização dos hábitos de higiene oral

Em relação aos hábitos de higiene oral da população em estudo, verificámos que a grande maioria dos pacientes em estudo escovava os dentes com uma pasta fluoretada (98%) (n=97). Dos 97 pacientes que escovavam os dentes com uma pasta fluoretada, 15% (n=15) escovavam uma vez por dia, 61% (n=59) escovavam duas vezes por dia e 23% (n=23) escovavam três vezes por dia, sendo que ninguém respondeu que escovavam quatro ou mais vezes.

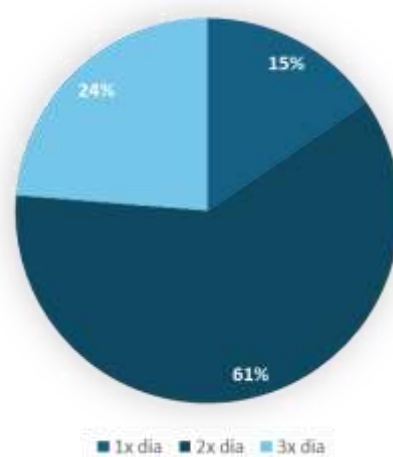


Figura 4 Distribuição da amostra relativamente ao número de escovagens com uso de pasta dentífrica fluoretada.

Adicionalmente, foi realizada uma análise da distribuição do número de escovagens com pasta fluoretada diária de acordo com a idade. Verificou-se que na maioria das faixas etárias, é frequente escovar os dentes duas vezes por dia.

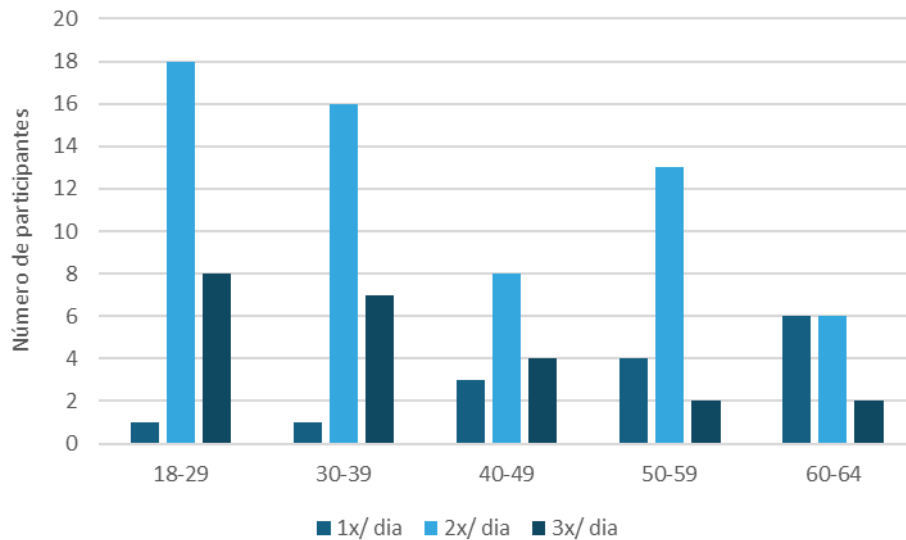


Figura 5 Relação entre a idade e o número de escovagens diárias.

A figura 6 mostra que 68% (n=67) dos pacientes em estudo fazem uso de fio dentário diariamente e apenas 27% (n=27) fazem uso diário de colutório com flúor (figura 7).

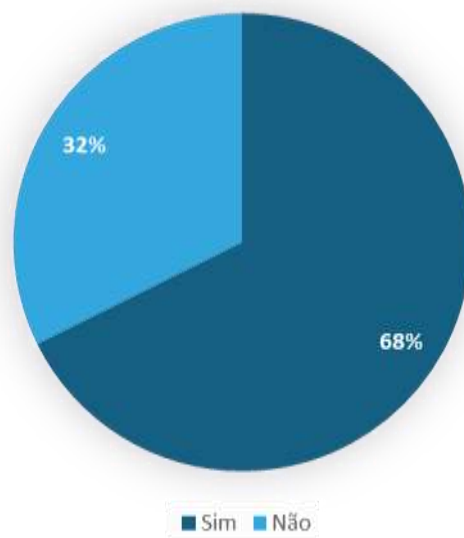


Figura 6 Distribuição da amostra relativamente ao uso diário de fio dentário.

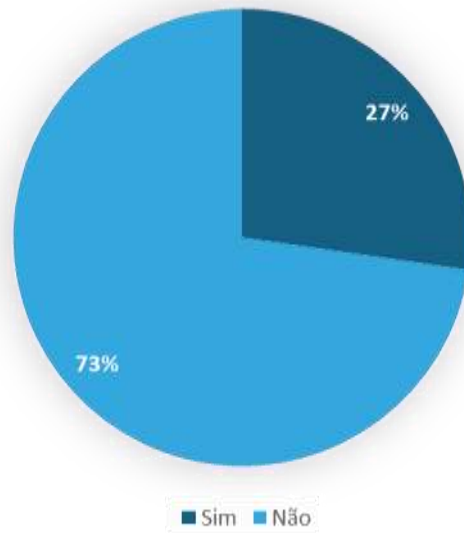


Figura 7 Distribuição da amostra relativamente à utilização diária de colutório de flúor (0,05 NaF).

Quando perguntámos se alguma vez usaram uma pasta fluoretada com 5000ppm de flúor. Apenas 2 pacientes referiram que sim (2%) (n=2) (figura 8).

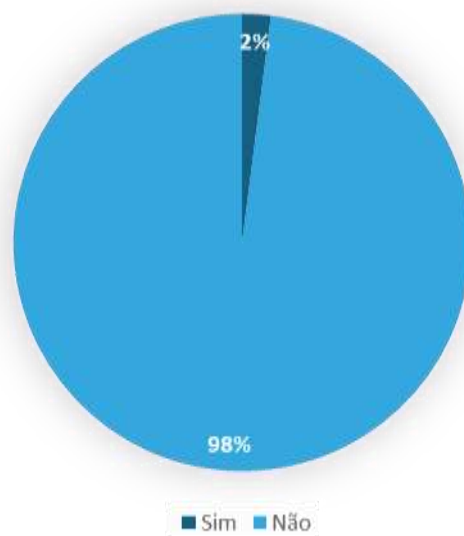


Figura 8 Distribuição da amostra relativamente ao uso de uma pasta fluoretada de 5000ppm.

Quando questionámos os pacientes em estudo sobre o facto de lhes ter sido aplicado um verniz de flúor por um Médico Dentista nos 6 meses antes da recolha, podemos ver, segundo a figura 9, que apenas 12% (n=12) receberam este tratamento.

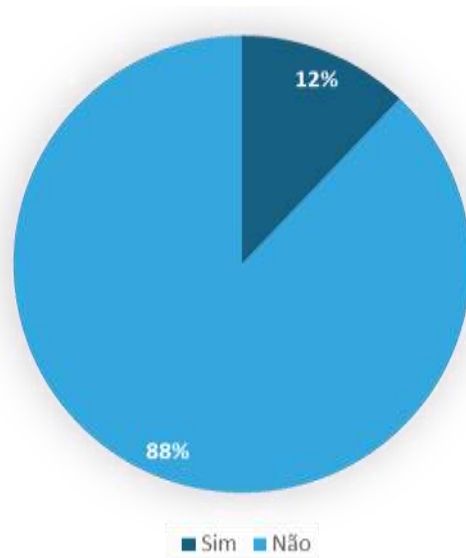


Figura 9 Distribuição da amostra relativamente à aplicação de verniz de flúor por um Médico Dentista.

Em relação à aplicação de flúor em moldeira, também nos últimos 6 meses, verificámos que nenhum dos participantes recebeu esse tratamento. Em relação ao uso de clorhexidina, apenas 3 participantes dos 99 referiu usar durante o período em estudo.

3.3 Caracterização dos hábitos alimentares

Relativamente ao consumo de açúcares nos lanches, entre as refeições principais, constatamos que 66% (n=65) dizem consumir várias vezes ao dia açúcar (figura 10). Destes 66% (n=65), 46% (n=30) pessoas consumiam uma única vez açúcar durante os lanches, 37% (n=24) consumiam duas vezes e 17% (n=11), três vezes (Figura 11).

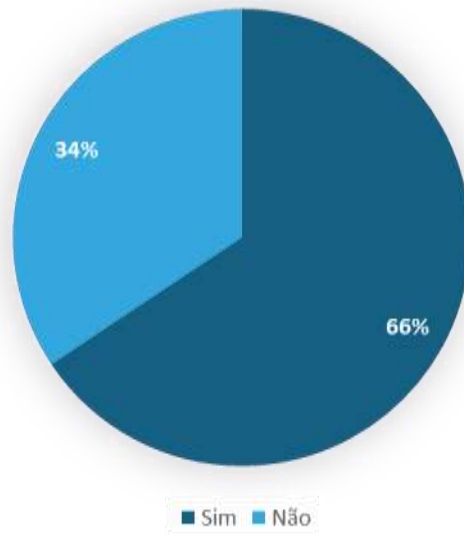


Figura 10 Distribuição da amostra de acordo com o consumo de açúcar nos lanches entre as refeições principais.

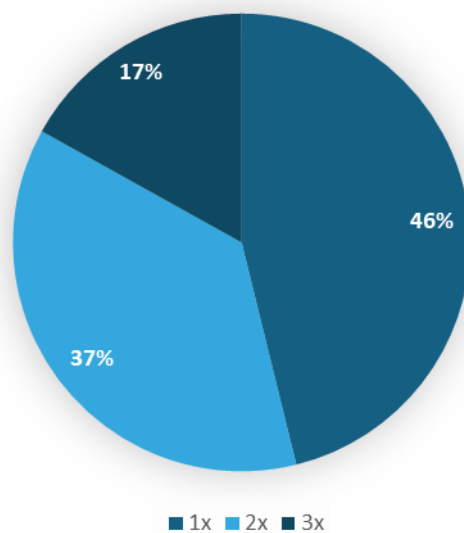


Figura 11 Distribuição da amostra de acordo com o número de lanches com consumo de açúcar.

3.4 Caracterização de fatores que predisõem a acumulação de placa bacteriana

Existem vários fatores predisponentes para a acumulação e retenção de placa bacteriana. Os participantes foram questionados sobre o uso de aparelho ortodôntico e os resultados mostram que apenas 3% (n=3) faziam uso do mesmo (Figura 12).

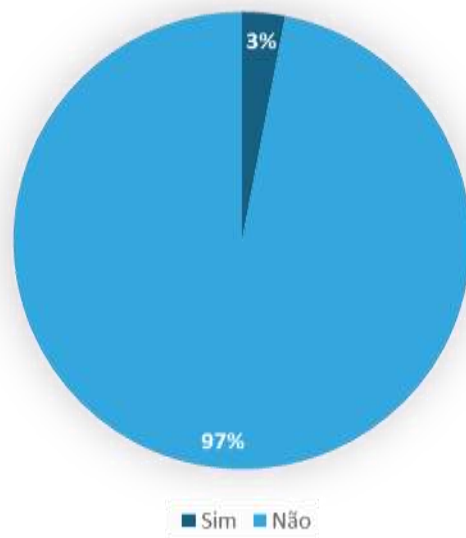


Figura 12 Distribuição da amostra relativamente ao uso de aparelho ortodôntico.

A profundidade de sulcos e fissuras em pré-molares e molares também é um fator predisponente para a acumulação de placa bacteriana. Na figura 13, podemos observar que 75% (n=74) apresentava sulcos rasos e 25% (n=25) apresentavam sulcos profundos.

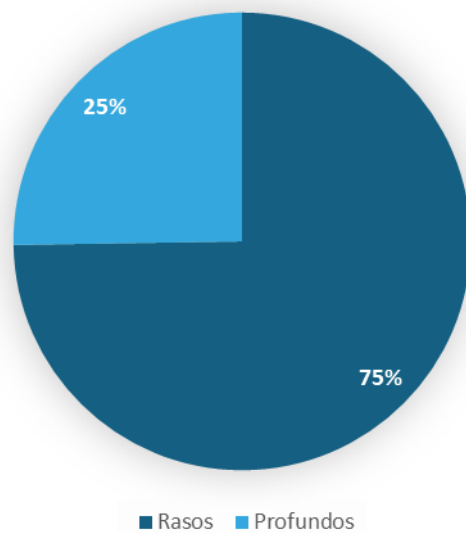


Figura 13 Distribuição da amostra de acordo com a profundidade de sulcos e fissuras de pré-molares e molares.

3.5 Caracterização de fatores associados ao fluxo salivar

Dos 99 pacientes que participaram na recolha de saliva, todos procederam à recolha de saliva não estimulada, no entanto, 44% (n=44) teve de realizar a recolha de saliva estimulada. Cruzando estes dados, em 99 pacientes observados, verificámos que 19 fazem uso diário de medicação que interfere com a produção de saliva (figura 14).

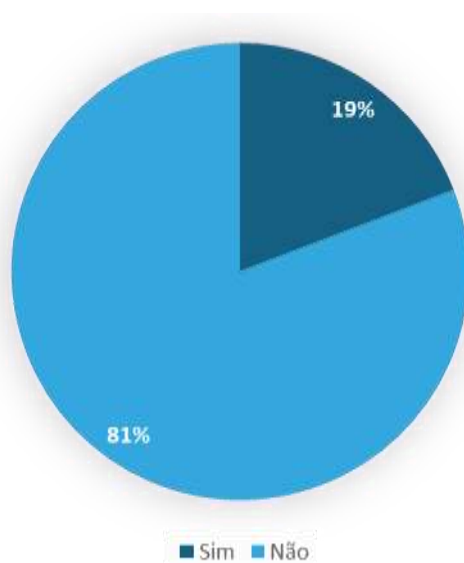


Figura 14 Distribuição da amostra relativamente à presença de algum fator que pode influenciar o fluxo salivar.

Em relação ao uso de drogas recreativas, 2 pacientes referiram o seu uso.

3.6 Caracterização da análise salivar

No que diz respeito ao pH salivar, do total de amostras recolhidas, 84% (n=83) apresentava um pH superior a 6,5 e 16% (n=16) apresentava um pH inferior a 6,5 (Figura 15).

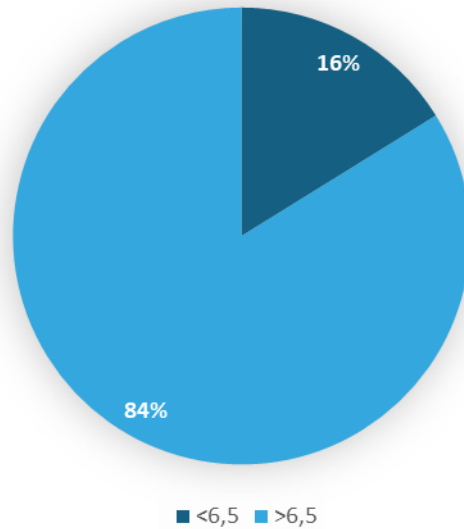


Figura 15 Distribuição da amostra relativamente ao pH salivar.

3.7 Caracterização de resultados decorrentes da avaliação oral

No questionário aplicado, foi perguntado aos participantes se realizaram algum tratamento dentário como restaurações, tratamento endodôntico radical e extrações nos últimos 3 anos e podemos observar na figura 15 que 65% (n=64) realizaram tratamentos dentários.

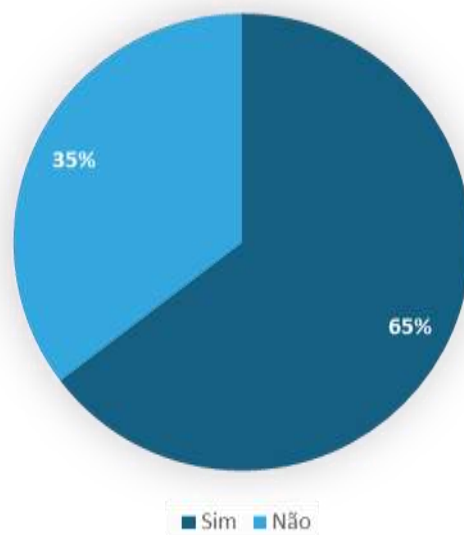


Figura 16 Distribuição da amostra relativamente ao histórico de tratamentos realizados nos últimos 3 anos.

Durante a observação intraoral, foi usado a classificação ICDAS II para a avaliação das lesões de cárie nos pacientes participantes do estudo. Acerca das lesões de cáries iniciais (ICDAS 1-2), podemos constatar que apenas 11% (n=11) apresentava esse tipo de lesão cariosa (Figura 17). Verificou-se que 28% (n=28) dos indivíduos em estudo apresentavam lesões de cárie moderadas (ICDAS 3-4) e que 17% (n=17) da população estudada apresentava lesões de cárie extensas (ICDAS 5-6).

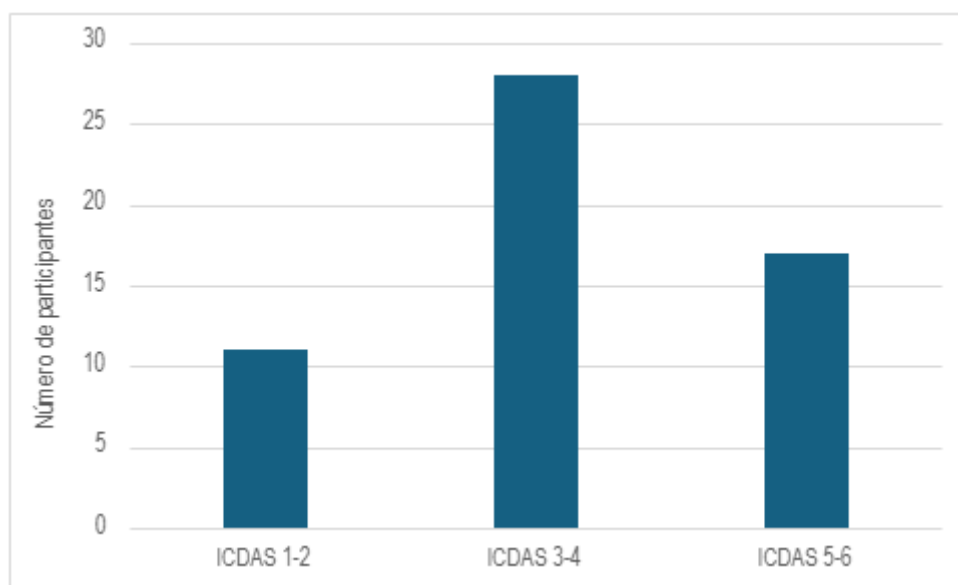


Figura 17 Distribuição da amostra relativamente à lesão de cárie avaliada usando a classificação ICDAS II (28).

3.8 Cálculo de risco de desenvolver lesões de cárie

O cálculo de risco de cárie foi desenvolvido a partir da análise de todos os dados obtidos através do questionário aplicado, quantificação microbiana e inspeção intra-oral. Todas as variáveis foram estudadas e foi-lhes atribuído um peso, considerando o seu potencial protetor ou de risco (ver Anexo 5). O resultado deste cálculo é a soma de todos os parâmetros e permite a identificação do risco de cárie de um paciente num determinado momento.

3.9 Risco de desenvolver lesões de cárie com a adição de fatores microbianos

O risco de desenvolver lesões de cárie foi calculado através do peso atribuído a cada variável (ver Anexo 5), de 4 formas diferentes: i) usando o questionário CAMBRA tal como preconizado pelos autores; ii) usando o questionário CAMBRA com a adição do fator carga total microbiana; iii) usando o questionário CAMBRA com carga bacteriana e com a quantificação da bactérias cariogénicas e carioprotetoras e , finalmente iv) um índice composto apenas pela quantificação de espécies cariogénicas e carioprotetoras. Os resultados obtidos deste cálculo são apresentados na Figura 18.

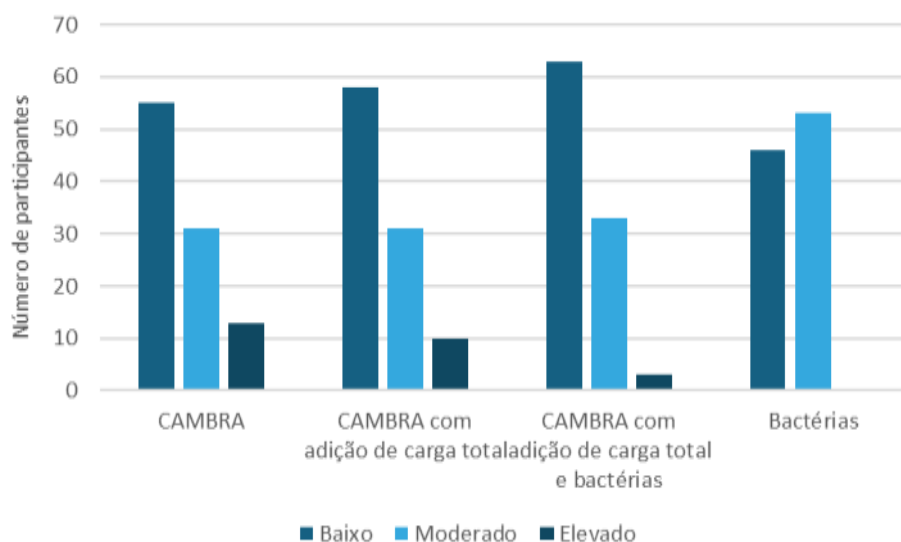


Figura 18 Comparação entre o risco de desenvolver lesões de cárie apenas com o CAMBRA, CAMBRA com adição de carga total, CAMBRA com adição de carga total e bactérias e apenas bactérias.

Como bactérias consideradas carioprotetoras e associadas a saúde foram selecionadas a *A. johnsonii* e *S. mitis* e como bactérias cariogénicas foram selecionadas a *S. mutans* e *S. sobrinus*.

Verifica-se da análise comparativa na Figura 18 que a adição de fatores microbianos tende a diminuir a atribuição de risco médio e elevado e a aumentar o risco baixo. No entanto os padrões de atribuição de risco são semelhantes o que significa que, na amostra presente não conseguimos atribuir significância aos fatores microbianos. Usando o índice mais completo, ou seja, o CAMBRA

com todos os fatores microbianos analisados, observa-se que dos 99 pacientes avaliados, 64% (n=63) foram classificados como tendo risco baixo de desenvolver lesões de cárie, 33% (n=33) como risco moderado, 5% (n=5) como risco elevado e 3% (n=3) apresentou risco muito elevado.

Relativamente ao índice composto apenas por bactérias o que se verifica é que há mais pacientes com atribuição do nível de moderado que de nível baixo e que não constam nenhum paciente com elevado nível de risco de cárie.

3.10 Análise dos fatores microbianos

Na tabela 3, estão caracterizados os parâmetros microbianos relativos aos 3 pacientes que apresentaram risco elevado de desenvolver lesões de cárie.

Tabela 3 Carga total bacteriana e níveis de bactérias cariogénicas e carioprotetoras em pacientes com risco elevado de cárie.

<i>Pacientes com risco elevado</i>	Nível de bactérias cariogénicas	Nível de bactérias carioprotetoras	Carga total bacteriana.
1	Elevado	Médio	Médio
2	Elevado	Médio	Médio
3	Baixo	Não encontrado	Médio

Verifica-se que 2 destes pacientes apresentavam um nível elevado de bactérias cariogénicas o que pode justificar a atribuição do elevado risco de cárie, 1 dos pacientes que, apesar de ter baixo nível de bactérias cariogénicas, apresenta um elevado risco de cárie, num dos casos talvez justificável pela ausência de bactérias carioprotetoras (paciente nº3), o que faz com que se possa especular se haverá outras bactérias cariogénicas a contribuir para este risco.

3.11 *Recalls*

Relativamente aos *recalls*, os resultados apresentados na tabela 4 mostram que 17 pacientes foram analisados de acordo com o risco de cárie total, incluindo a quantificação bacteriana. O primeiro estudo foi realizado no ano letivo 22/23 e os seus respetivos *recall* no ano letivo de 23/24. Importa ainda referir que os índices de risco de cárie apresentados foram todos calculados com os mesmos parâmetros e incluíam a carga total bacteriana e a quantificação das 4 bactérias analisadas neste estudo.

Tabela 1 Comparação entre o risco apresentado na primeira avaliação e o risco apresentado no *recall*.

	Primeira vez	Recall	Significado
1	Baixo	Baixo	Igual
2	Moderado	Moderado	Igual
3	Moderado	Moderado	Igual
4	Moderado	Moderado	Igual
5	Moderado	Baixo	Melhoria
6	Moderado	Baixo	Melhoria
7	Moderado	Baixo	Melhoria
8	Moderado	Baixo	Melhoria
9	Moderado	Baixo	Melhoria
10	Moderado	Baixo	Melhoria
11	Moderado	Baixo	Melhoria
12	Moderado	Baixo	Melhoria
13	Moderado	Baixo	Melhoria
14	Moderado	Baixo	Melhoria
15	Moderado	Baixo	Melhoria
16	Elevado	Moderado	Melhoria
17	Elevado	Moderado	Melhoria

Dos 17 pacientes analisados, é possível verificar que 4 pacientes mantiveram o risco igual (baixo e moderado). Dos outros 13 pacientes, todos alteraram o seu risco de desenvolver cárie, sendo que todos melhoraram o risco de cárie, passando de elevado a moderado ou baixo ou de moderado para baixo.

4. Discussão de resultados

4.1 Hábitos de higiene oral

Uma higiene oral adequada é fundamental para controlar a placa bacteriana que leva ao aparecimento de cárie dentária (32). A prática regular da escovagem dos dentes é fundamental na prevenção da doença. Estudos destacam que a técnica de escovagem é um dos métodos mais eficazes na prevenção da cárie dentária, especialmente quando efetuada com uma pasta de dentes fluoretada (33). Um estudo realizado na China demonstrou que pacientes que escovavam os dentes duas vezes por dia com uma pasta de dentes fluoretada tinham uma menor incidência de cáries em comparação com aqueles que escovavam menos vezes (34). Outro estudo, desta vez realizado na Austrália, refere que mais de metade dos participantes tem por hábito escovar os dentes duas vezes por dia e relatam que existiram melhorias na saúde oral dos mesmos (35). Neste estudo também foi possível constatar que 62% (n=61) dos pacientes participantes referiam escovar os dentes duas vezes por dia. Destes 61 pacientes, apenas 25 apresentavam lesões de cárie. Portanto, os resultados obtidos neste estudo estão de acordo com o que é aceite na comunidade científica verificando-se a correlação entre o número de escovagens e as lesões de cárie (35).

O uso do fio dentário desempenha um papel significativo na prevenção da cárie dentária, especialmente nas áreas interproximais, onde apenas a escovagem sozinha não é suficiente para remover completamente a placa bacteriana (36). Em associação à escovagem e ao uso de fio dentário, o uso de colutórios orais, formam uma abordagem integral para manter a saúde bucal e prevenir a cárie dentária (34). Os colutórios com flúor são usados devido à capacidade de reforçar o esmalte dos dentes e promover a remineralização (34).

Um ensaio clínico randomizado avaliou a eficácia do uso de fio dentário e de elixires orais na redução de placa bacteriana e os resultados demonstraram que os pacientes que fazem uso de fio dentário apresentaram uma redução significativa no aparecimento de placa bacteriana, diminuindo assim a probabilidade de desenvolver lesões de cárie (37).

A comparação entre os resultados do presente estudo e a literatura científica (38) confirma a eficácia do uso de fio dentário na prevenção do desenvolvimento de lesões de cárie dentária. Existe uma alta taxa (68%) de pacientes que fazem uso diário de fio dentário o que está de acordo com as evidências científicas. No entanto, o facto de haver uma baixa população a usar colutórios com flúor (27%) sugere que deva ser um parâmetro a ser melhorado pelos pacientes.

A aplicação de um verniz de flúor em consultório é extremamente recomendada para a prevenção do aparecimento de lesões de cárie, principalmente em indivíduos com um risco mais elevado (32). Neste estudo, podemos observar que, dos 99 participantes, foi aplicado verniz de flúor a apenas 12% (n=12). Esta baixa adesão à aplicação de verniz de flúor pode estar relacionada com o facto de existirem 28% de pacientes com lesões de cárie moderadas e 17% com lesões de cárie extensas. Considerando que 65% dos pacientes em estudo recorreu a tratamentos médico-dentários nos últimos 3 anos, uma aplicação mais recorrente de verniz de flúor poderia, potencialmente, reduzir a necessidade de tratamentos invasivos relativamente às lesões de cárie, mas também como forma de prevenção.

4.2 Hábitos alimentares

No presente estudou-se verificou-se que 66% da população em estudo tem uma dieta açucarada entre as suas refeições principais, sendo que destes 66%, 46% consumia uma vez açúcar por dia e 36% duas vezes por dia. É possível notar que destes 66%, existem 5% destes pacientes que apresentam um risco de cárie elevado.

Os resultados do presente estudo estão de acordo com o que a literatura diz, indicando que a dieta, neste caso açucarada, é um fator crucial na etiologia da cárie dentária. Existe correlação entre a alta prevalência da dieta rica em açúcares dos participantes com o risco elevado de desenvolver lesões de cárie dentária (38), realçando que existe a necessidade de reforçar estratégias de prevenção e alertar para a necessidade de mudanças comportamentais.

Tendo em conta que na amostra em estudo ainda existem pacientes que continuam a não adotar os hábitos tanto de higiene como alimentares que previnam o aparecimento de cáries, é o papel do Médico Dentista. Em todas as consultas deve ser avaliada a higiene oral do paciente e reforçar que o consumo de açúcares deve ser associado a uma boa higiene oral, escovagem regular e uso de fio dentário para remover os detritos à superfície dos dentes, de forma a diminuir a prevalência de cárie dentária.

4.3 Fatores que contribuem para a acumulação de placa bacteriana

O uso de aparelhos ortodônticos, principalmente os fixos como *brackets* dificulta os procedimentos de higiene oral habituais dos pacientes, provocando alterações na microflora oral, redução do pH salivar e, conseqüente, acumulação de placa bacteriana (39).

Mais recentemente, o tratamento ortodôntico com recurso a alinhadores tem vindo a tornar-se cada vez mais popular pela sua aparência estética. No entanto, ainda não existem estudos suficientes que comprovem que o uso dos mesmos diminui a acumulação de placa bacteriana (40).

Sabe-se que o uso de aparelho ortodôntico fixo, leva a um aumento do risco para a cárie dentária. É importante fazer uma avaliação do risco de cárie antes do início de um tratamento destes e incentivar o paciente a adotar uma boa higiene oral. Caso contrário, poderá comprometer todo o tratamento a efetuar (41).

A morfologia dos dentes é um fator altamente predisponente para o aparecimento de lesões de cárie. Os sulcos e fissuras presentes à superfície dos dentes criam ambientes favoráveis para a retenção de placa bacteriana e restos alimentares dificultando a limpeza dos mesmos (42). Além da higiene oral, outra técnica que diminui o risco de cárie neste tipo de morfologia dentária, é a aplicação de selantes de fissuras na superfície oclusal dos pré-molares e molares (43).

Neste estudo, a maioria dos pacientes apresentavam sulcos rasos (75%), no entanto, ainda 25% apresentavam sulcos profundos, que requerem cuidados

adicionais. Curiosamente, é possível verificar neste estudo que a maioria das pacientes com sulcos profundos têm um risco de cárie baixo e uma alta prevalência de bactérias carioprotetoras. Isto pode ser devido ao facto de terem uma boa higiene oral ou até mesmo a presença de selantes de fissuras que diminui o risco de aparecimento de lesões de cárie.

4.4 Fatores que afetam o fluxo salivar

É conhecido que medicamentos como: anti-histamínicos, antidepressivos, antieméticos, anti-hipertensivos, antiparkinson, antispasmódicos e sedativos estejam associados à diminuição da produção de saliva (11), bem como fatores como radiação e doenças sistémicas. Esta redução do fluxo salivar também é chamada de hipossalivação e é um potencial fator de desenvolvimento de cárie. A análise do histórico do paciente é importante nesse sentido.

Dos 99 participantes do estudo, 19% (n=19) afirmou tomar medicação que estejam associados à diminuição do fluxo salivar. Destes 19 pacientes, 15 apenas tiveram de proceder à recolha de saliva não estimulada. Ou seja, tinham um fluxo salivar relativamente baixo.

É possível confirmar que existe uma correlação entre a toma de medicação que altera o fluxo salivar com a diminuição do mesmo, tendo em conta que dos resultados obtidos, apenas 5 pacientes dos 19 tiveram de proceder à recolha de saliva estimulada.

É fundamental implementar estratégias preventivas em paciente com hipossalivação. Existem substitutos salivares e estimuladores de saliva que permitem aumentar o fluxo de saliva destes pacientes (44). Os substitutos salivares imitam a composição as funções da saliva. Estes incluem produtos como sprays, géis, elixires e pastas que ajudam a lubrificar a boca (45). Os estimuladores de saliva, como pastilhas sem açúcares ou até mesmo medicamentos têm como objetivo aumentar a produção de saliva (45).

4.5 Análise de saliva

A correlação entre a o pH da saliva e a incidência de cáries dentárias é bem conhecida (46). Para além do efeito tampão que a saliva exerce na boca, a capacidade de inibir a adesão de microrganismos ao esmalte é também um aspeto importante. Um menor fluxo salivar corresponde, portanto, a uma diminuição da proteção salivar levando à redução do pH e desmineralização do esmalte, promovendo o início do processo de aparecimento da cárie (46).

No que diz respeito ao pH salivar, do total de amostras recolhidas, 84% (n=83) apresentava um pH superior a 6,5 e, portanto, têm menor probabilidade de desenvolver lesões de cárie, tendo em conta que o pH salivar destes pacientes proporciona uma boa proteção contra a desmineralização do esmalte. Relativamente aos outros 16% (n=16) dos participantes, necessitam de estratégias preventivas que reduzam a incidência de cárie dentária tendo em conta que destes 16 pacientes, 5 deles apresentavam lesões de cárie.

4.6 Indicadores de doença

Neste estudo foi usado o ICDAS II como Sistema de Detecção de Cáries (28) para avaliar a gravidade e extensão das lesões de cárie presentes na boca dos pacientes em estudo.

Os resultados mostram que a maioria dos pacientes que possuíam lesões de cárie, 28% (n=28) apresentaram lesões de cárie moderadas (ICDAS 3-4), 11% (n=11) apresentavam lesões de cárie iniciais (ICDAS 1-2) e 17% (n=17) apresentaram lesões de cárie extensas (ICDAS 5-6). Estes dados evidenciam as necessidades de tratamento existentes na população observada. É importante ainda salientar que no caso dos pacientes com lesões de cáries iniciais (ICDAS 1-2), pode não haver indicação para tratamento invasivo, mas é importante parar o avanço da cárie quer com o reforço de medidas comportamentais, quer com tratamentos não invasivos. Se o paciente que apresenta este tipo de lesões evidenciar um elevado risco de cárie é ainda mais importante a monitorização. Os pacientes com lesões de cárie classificadas como ICDAS acima de 2

necessitam de um cuidado mais próximo para evitar a progressão da doença, de tratamentos restauradores mais invasivos e uma melhor instrução à higiene oral. Em todos os pacientes é fundamental reforçar a importância das medidas preventivas para evitar que as lesões se tornem irreversíveis, ou que apareçam novas lesões (47).

4.7 Cálculo de risco de desenvolver lesões de cárie

O cálculo do risco de cárie de forma simples e eficaz é um dos objetivos deste estudo. Nesse sentido, como apresentado na Figura 18, foi calculado o risco de cárie dos mesmos pacientes utilizando índices diferentes de forma a comparar os diferentes resultados pela inserção de fatores microbianos.

Verifica-se que ao adicionar os fatores microbianos há uma tendência para que haja uma diminuição do risco para alguns pacientes. Quando comparados os níveis de risco dos pacientes usando o índice CAMBRA com o índice incluindo apenas a carga total ou a carga total mais a quantificação de bactérias cariogênicas e carioprotetoras, verifica-se que há um aumento dos pacientes com risco baixo e uma diminuição dos pacientes com risco elevado e com risco médio. Isto significa que a inclusão de fatores microbianos no cálculo do risco de cárie tende a avaliar como menor o risco do desenvolvimento de cárie. Os dados dos cerca de 100 pacientes, disponíveis até ao momento não permitem ainda uma análise estatística mais detalhada que mostre quais são os fatores que contribuem de forma mais significativa para o nível de risco atribuído ao paciente e, portanto, neste momento estes resultados mostram apenas uma tendência. O projeto terá continuidade e com o aumento do número de amostras recolhidas e processadas será possível fazer essa avaliação.

Foi também neste trabalho avaliada a possibilidade de utilizar um índice de risco apenas microbiano (Figura 18). A aplicação dessa forma de cálculo de risco aos mesmos pacientes revelou-se mais conservadora, sendo que a maioria dos pacientes se inclui no risco médio de cárie e há uma grande diminuição dos pacientes com um risco de cárie baixo. O significado deste padrão diferente relativamente aos índices de risco com a utilização de uma base de questionário como o CAMBRA não é possível identificar. Para tal ser possível seria necessário ter uma avaliação da experiência de cárie do paciente. Nesse sentido

estão incluídos neste estudo e no projeto maior em curso na FMD, a observação dos mesmos pacientes ao fim de 6-8 meses (*recalls*).

É conhecido que *S. mutans* e *S. sobrinus* são comumente associadas ao desenvolvimento da cárie dentária por terem a capacidade de aderir à superfície dos dentes e formarem biofilmes. Como mencionado anteriormente, estas bactérias produzem ácido durante a metabolização de açúcares que levam à desmineralização do esmalte e, conseqüentemente, à formação de cárie dentária (45). Em contrapartida, *S. mitis* e *A. johnsonii* são associadas à manutenção da saúde oral. Ambas fazem parte da flora oral, mas não têm poder patogénico.

Neste estudo, a presença elevada de *S. mitis* e *A. johnsonii* pode explicar o facto de 71% dos pacientes terem um risco baixo de desenvolver cárie dentária, enquanto a presença elevada de *S. sobrinus* e *S. mutans* (ver Tabela 3) seja um elemento fundamental nos riscos moderado e elevado.

Outra forma pela qual tentámos avaliar o impacto dos fatores microbianos no cálculo do risco de cárie foi verificar nos pacientes que tinham elevado risco de cárie (determinado pelo cálculo usando o CAMBRA com fatores microbianos incluídos) qual era a carga bacteriana e a quantificação de bactérias cariogénicas e carioprotetoras presentes. Havia apenas 3 pacientes em que o risco de cárie foi considerado elevado o que é um número muito pequeno para tirar conclusões. No entanto, como apresentado nos resultados, destes 3 pacientes 2 tinham níveis elevados de bactérias cariogénicas e apenas um dos pacientes não apresentava bactérias carioprotetoras e um nível baixo de bactérias cariogénicas. Este último poderá ter atribuído um risco de cárie elevado devido a outros fatores que não microbianos. Mais uma vez será importante ter um maior número de amostras para realizar testes estatísticos que determinem a significância destes resultados.

4.8 Recalls

Dos 17 pacientes analisados pela segunda vez, 13 alteraram o risco de desenvolver lesões de cárie, melhorando o seu risco de cárie, passando de elevado para moderado ou baixo ou de moderado para baixo.

Comparando as respostas dadas nas duas observações foi possível verificar que, para cada paciente há pelo menos duas razões pelas quais pode ter havido diminuição do risco. As razões verificadas na maioria dos pacientes são a diminuição do consumo de alimentos açucarados (8 pacientes), de seguida o aumento das escovagens diárias, o tratamento das cáries existentes e a presença de bactérias carioprotetoras foram elementos que podem justificar a diminuição de risco em (7 pacientes). Em situações pontuais a utilização de colutório (3 pacientes), a aplicação de verniz e a remoção de aparelhos ortodônticos (2 pacientes) e a paragem de medicação (1 paciente) são fatores que podem explicar a diminuição do risco.

Resumidamente, todos os pacientes que diminuíram o risco de desenvolver lesões de cárie entre a primeira consulta e o seu respetivo *recall*, alteraram os seus comportamentos de higiene oral e procederam ao tratamento das lesões existentes o que permite propor que as estratégias de motivação para a higiene oral na primeira consulta tiveram impacto na saúde oral do paciente.

4.9 Considerações finais

Através deste estudo foi possível reforçar a capacidade do laboratório SalivaTec dar uma resposta eficaz na quantificação de bactérias a partir de amostras de saliva. Apesar disso, e devido à baixa correspondência entre o índice de risco de cárie aqui calculado e o teor das bactérias carioprotetoras, é possível que as bactérias que estejam a ser quantificadas não sejam as mais representativas para a estratificação do risco, sendo necessário aumentar o portfolio de bactérias protetoras e incluí-las neste cálculo. Os testes bacterianos atualmente existentes no mercado focam-se apenas na identificação de bactérias cariogénicas e, como foi mostrado com estes resultados, a quantificação de bactérias carioprotetoras poderá ser revelante para o cálculo de um índice de risco de cárie.

Uma das grandes dificuldades deste estudo, como mencionado, é o facto de ser difícil associar a cada paciente um risco que seja o “correto” uma vez que este cálculo é baseado no autorrepare e reflete o momento que pode ter condicionantes específicos e diferentes daqueles que o paciente experiencia

durante a maior parte do tempo. Neste contexto os *recalls* são fundamentais para verificar o aparecimento ou não de novas lesões de cárie, ou agravamento das lesões iniciais (ICDAS 1-2). Assim é fundamental continuar a aumentar o número de *recalls* que no número de indivíduos observados pela primeira vez quer pelo aumento do número de observações do mesmo indivíduo. Os *recalls* são também o momento de avaliar o impacto das intervenções anteriores junto do paciente e como apresentado anteriormente neste estudo a grande maioria dos pacientes diminuiu o seu risco de desenvolver cárie dentária.

Relativamente à inserção de indicadores microbianos no cálculo do risco de cárie, os resultados sugerem que não há grande variação nos resultados do risco de cáries obtidos. Isto não significa que não haja impacto na realidade, ele pode existir, mas ser de uma magnitude não detetável pelo número de amostras analisadas que condicionam a forma de análise. Mais uma vez será necessário avaliar mais pacientes para poder aplicar métodos estatísticos e de Inteligência artificial que permitam avaliar a significância das diferenças observadas e desenvolver índices com melhor valor preditivo.

4.10 Limitações e perspectivas futuras

Após a elaboração desta investigação, é importante realçar as **limitações** encontradas: a existência de apenas duas examinadoras limitou a quantidade de pacientes observados e amostras recolhidas, o autorreporte nas respostas ao questionário CAMBRA nem sempre são fidedignas, o risco de cárie no mesmo indivíduo pode variar frequentemente e, portanto, há sempre alguma incerteza da representatividade do risco calculado na saúde oral do paciente.

Considerando as limitações referidas, são apresentadas algumas **sugestões** para dar continuidade ao estudo: aumentar o número de examinadores para aumentar a amostra; incluir todos os novos pacientes da Clínica Dentária Universitária no estudo; melhorar a adesão dos pacientes aos *recalls*.

5. Conclusões

Este estudo permitiu evidenciar que práticas de higiene oral inadequadas e hábitos alimentares ricos em açúcares têm grande impacto no risco de desenvolver cárie dentária. É importante alertar os pacientes para estratégias preventivas para promover a saúde oral e, conseqüentemente, reduzir a incidência de cárie dentária na população. Verificou-se que quando estas medidas são aplicadas e há o tratamento de lesões ativas a maioria dos pacientes diminui o seu risco de cárie.

Relativamente à inclusão de novos fatores microbianos no cálculo de risco, a principal conclusão é que apesar de alterarem o índice de risco calculado com o questionário CAMBRA não o alteram de uma forma significativa. Relativamente à proposta de um índice apenas microbiano conclui-se que a associação das lesões e da sua gravidade à quantificação de bactérias cariogénicas se verifica, mas no que se refere às bactérias carioprotetoras não foi possível encontrar uma associação. O desenvolvimento de um índice puramente microbiano poderá passar por quantificar mais bactérias de modo a refletir de forma mais completa a comunidade microbiana com impacto na cárie e/ou quantificar outras bactérias principalmente as carioprotetoras.

6. Referências bibliográficas

1. Sampaio-Maia B, Caldas IM, Pereira ML, Pérez-Mongiovi D, Araujo R. The Oral Microbiome in Health and Its Implication in Oral and Systemic Diseases. Em: *Advances in Applied Microbiology* [Internet]. Elsevier; 2016 [citado 9 de novembro de 2023]. p. 171–210. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0065216416301095>
2. Zhang W, Yelick PC. Tooth Repair and Regeneration: Potential of Dental Stem Cells. *Trends in Molecular Medicine*. maio de 2021;27(5):501–11.
3. Peres MA, Macpherson LMD, Weyant RJ, Daly B, Venturelli R, Mathur MR, et al. Oral diseases: a global public health challenge. *The Lancet*. julho de 2019;394(10194):249–60.
4. Fiorillo L. Oral Health: The First Step to Well-Being. *Medicina*. 7 de outubro de 2019;55(10):676.
5. Gao L, Xu T, Huang G, Jiang S, Gu Y, Chen F. Oral microbiomes: more and more importance in oral cavity and whole body. *Protein Cell*. maio de 2018;9(5):488–500.
6. Irvine J, Holve S, Krol D, Schroth R. La carie de la petite enfance dans les communautés autochtones. 2011;16(6).
7. Dds AMA. Role of Fluoride in Dental Caries and Risk Management.
8. Takahashi N, Nyvad B. Ecological Hypothesis of Dentin and Root Caries. *Caries Res*. 2016;50(4):422–31.
9. 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. *IJERPH*. 23 de setembro de 2019;16(19):3550.
10. Sabharwal A, Stellrecht E, Scannapieco FA. Associations between dental caries and systemic diseases: a scoping review. *BMC Oral Health*. 25 de setembro de 2021;21(1):472.
11. Arany S, Kopycka-Kedzierawski DT, Caprio TV, Watson GE. Anticholinergic medication: Related dry mouth and effects on the salivary glands. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology and Oral Radiology*. dezembro de 2021;132(6):662–70.
12. Pitts NB, Twetman S, Fisher J, Marsh PD. Understanding dental caries as a non-communicable disease. *Br Dent J*. 17 de dezembro de 2021;231(12):749–53.

13. Oral Disorders Collaborators. Global, Regional, and National Levels and Trends in Burden of Oral Conditions from 1999 to 2017: A Systematic Analysis for the Global Burden of Disease 2017 Study. *Journal of Dental Research*. 2020;99(4):362-373.
14. Clarkson BH. Dental caries; the disease and its clinical management. *Comm Dent Oral Epid*. junho de 2004;32(3):236–7.
15. Tinanoff N. Association of Diet with Dental Caries in Preschool Children. *Dental Clinics of North America*. outubro de 2005;49(4):725–37.
16. Singh GM, Micha R, Khatibzadeh S, Lim S, Ezzati M, Mozaffarian D. Estimated Global, Regional, and National Disease Burdens Related to Sugar-Sweetened Beverage Consumption in 2010. *Circulation*. 25 de agosto de 2015;132(8):639–66.
17. Reich E, Lussi A, Newbrun E. Caries-risk assessment. *International Dental Journal*. fevereiro de 1999;49(1):15–26.
18. Hänsel Petersson G, Twetman S, Bratthall D. Evaluation of a Computer Program for Caries Risk Assessment in Schoolchildren. *Caries Res*. 2002;36(5):327–40.
19. Featherstone JDB, Crystal YO, Alston P, Chaffee BW, Doméjean S, Rechmann P, et al. A Comparison of Four Caries Risk Assessment Methods. *Front Oral Health*. 28 de abril de 2021;2:656558.
20. Ramos-Gomez FJ, Crystal YO, Domejean S, Featherstone JDB. Minimal intervention dentistry: part 3. Paediatric dental care – prevention and management protocols using caries risk assessment for infants and young children. *Br Dent J*. novembro de 2012;213(10):501–8.
21. Featherstone JDB, Crystal YO, Chaffee BW, Zhan L, Ramos-Gomez FJ. An Updated CAMBRA Caries Risk Assessment Tool for Ages 0 to 5 Years. *Journal of the California Dental Association*. 1 de janeiro de 2019;47(1):37–47.
22. Celik EU, Gokay N, Ates M. Efficiency of caries risk assessment in young adults using Cariogram. *Eur J Dent*. julho de 2012;06(03):270–9.
23. Hänsel Petersson G, Fure S, Bratthall D. Evaluation of a computer-based caries risk assessment program in an elderly group of individuals. *Acta Odontologica Scandinavica*. janeiro de 2003;61(3):164–71.
24. Abranches J, Zeng L, Kajfasz JK, Palmer SR, Chakraborty B, Wen ZT, et al. Biology of Oral Streptococci. Fischetti VA, Novick RP, Ferretti JJ, Portnoy DA,

Braunstein M, Rood JI, editores. *Microbiol Spectr*. 7 de setembro de 2018;6(5):6.5.11.

25. Strużycka I. The Oral Microbiome in Dental Caries. *Pol J Microbiol*. 2014;63(2):127–35.

26. Babu V, Hegde S, Bhat S, Sargod S. Evaluation of Efficacy of Three Different Commercially Available Kit for Chairside Cariogenic Bacteria Test – Caries Risk Test, Saliva-check Mutans and CariScreen. *Cureus [Internet]*. 29 de dezembro de 2019 [citado 25 de janeiro de 2024]; Disponível em: <https://www.cureus.com/articles/25943-evaluation-of-efficacy-of-three-different-commercially-available-kit-for-chairside-cariogenic-bacteria-test---caries-risk-test-saliva-check-mutans-and-cariscreen>

27. Wennerholm K, Emilson CG. Comparison of Saliva-Check Mutans and Saliva-Check IgA Mutans with the Cariogram for caries risk assessment. *Eur J Oral Sci* 2013; 121: 389–393.

28. Gugnani N, Pandit I. International Caries Detection and Assessment System (ICDAS): A New Concept. *International Journal of Clinical Pediatric Dentistry*. agosto de 2011;4(2):93–100.

29. Fonseca AF dos S. Avaliação de um índice de risco de cárie numa população adulta. [Viseu]: Universidade Católica Portuguesa; 2022. Fonseca AF dos S. Avaliação de um índice de risco de cárie numa população adulta. [Viseu]: Universidade Católica Portuguesa; 2022.

30. Ribeiro VMM. Inclusão de indicadores microbianos num índice de risco de cárie numa população adulta. [Viseu]: Universidade Católica Portuguesa; 2023.

31. Rosa N, Marques J, Esteves E, Fernandes M, Mendes VM, Afonso Â, et al. Protein Quality Assessment on Saliva Samples for Biobanking Purposes. *Biopreservation and Biobanking*. agosto de 2016;14(4):289–97.

32. Krol DM, Whelan K, THE SECTION ON ORAL HEALTH. Maintaining and Improving the Oral Health of Young Children. *Pediatrics*. 1 de janeiro de 2023;151(1):e2022060417.

33. De Jong-Lenters M, L’Hoir M, Polak E, Duijster D. Promoting parenting strategies to improve tooth brushing in children: design of a non-randomised cluster-controlled trial. *BMC Oral Health*. dezembro de 2019;19(1):210.

34. Cui Z, Wang W, Si Y, Wang X, Feng X, Tai B, et al. Tooth brushing with fluoridated toothpaste and associated factors among Chinese adolescents: a

nationwide cross-sectional study. *BMC Oral Health*. 18 de outubro de 2023;23(1):765.

35. Kaur K, Sculley D, Veysey M, Lucock M, Wallace J, Beckett EL. Bitter and sweet taste perception: relationships to self-reported oral hygiene habits and oral health status in a survey of Australian adults. *BMC Oral Health*. dezembro de 2021;21(1):553.

36. Sambunjak D, Nickerson JW, Poklepovic T, Johnson TM, Imai P, Tugwell P, et al. Flossing for the management of periodontal diseases and dental caries in adults. Cochrane Oral Health Group, editor. *Cochrane Database of Systematic Reviews* [Internet]. 7 de dezembro de 2011 [citado 26 de maio de 2024]; Disponível em: <https://doi.wiley.com/10.1002/14651858.CD008829.pub2>

37. Bosma ML, McGuire JA, DeSasso A, Milleman J, Milleman K. Efficacy of flossing and mouth rinsing regimens on plaque and gingivitis: a randomized clinical trial. *BMC Oral Health*. 3 de fevereiro de 2024;24(1):178.

38. Sheiham A. Dietary effects on dental diseases. *Public Health Nutr*. abril de 2001;4(2b):569–91.

39. Ahn SJ, Lee SJ, Lim BS, Nahm DS. Quantitative determination of adhesion patterns of cariogenic streptococci to various orthodontic brackets. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*. dezembro de 2007;132(6):815–21.

40. Sifakakis I, Papaioannou W, Papadimitriou A, Kloukos D, Papageorgiou SN, Eliades T. Salivary levels of cariogenic bacterial species during orthodontic treatment with thermoplastic aligners or fixed appliances: a prospective cohort study. *Prog Orthod*. dezembro de 2018;19(1):25.

41. Opsahl Vital S, Haignere-Rubinstein C, Lasfargues JJ, Chaussain C. Caries risk and orthodontic treatment. *International Orthodontics*. março de 2010;8(1):28–45.

42. Hao J, Kang Y, Wei S, Wang J, Wang H. 3D intraoral scanning techniques support the effects of crown morphology on dental caries. *BMC Oral Health*. 10 de maio de 2024;24(1):549.

43. Rashed T, Alkhalefa N, Adam A, AlKheraif A. Pit and Fissure Sealant versus Fluoride Varnish for the Prevention of Dental Caries in School Children: A Systematic Review and Meta-Analysis. Scribante A, editor. *International Journal of Clinical Practice*. 20 de setembro de 2022;2022:1–7.

44. Banas JA, Drake DR. Are the mutans streptococci still considered relevant to understanding the microbial etiology of dental caries? *BMC Oral Health*. dezembro de 2018;18(1):129.
45. Furness S, Worthington HV, Bryan G, Birchenough S, McMillan R. Interventions for the management of dry mouth: topical therapies. Cochrane Oral Health Group, editor. *Cochrane Database of Systematic Reviews* [Internet]. 7 de dezembro de 2011 [citado 21 de junho de 2024]; Disponível em: <https://doi.wiley.com/10.1002/14651858.CD008934.pub2>
46. González-Aragón Pineda AE, García Pérez A, García-Godoy F. Salivary parameters and oral health status amongst adolescents in Mexico. *BMC Oral Health*. dezembro de 2020;20(1):190.
47. Noemi N, Salgado P, Squassi A. Comparison between indexes for diagnosis and guidance for treatment of dental caries. *Acta Odontol Latinoam*. dezembro de 2021;34(3):289–97.

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 equipa de investigação (*contactos no final do*

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

documento).

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.

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

Nome do participante no estudo: _____

Assinatura: _____

SE NÃO FOR O PRÓPRIO A ASSINAR POR IDADE OU INCAPACIDADE

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

Nome: _____

BI/CC n.º: _____

Data ou validade ____ / ____ / ____

Grau de parentesco ou tipo de representação: _____

Assinatura: _____

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

Data Protection Officer - UCP

Dra. Frederica Campos de Carvalho

Contacto telefónico: +351 217214179

E-mail: compliance.rgpd@ucp.pt

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

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

Anexo 2 – Questionário



Questionário de dadores

A- Dados da amostra

Questão 1.

Código do dador

Questão 2.

Data da colheita

Questão 3.

Material Biológico

- Saliva
- Biofilme
- Biofilme radicular
- Bochecho
- Biópsia
- Não recolheu amostra biológica

Questão 4.

Amostragem

- 1ª amostragem
- Amostras follow-up

Questão 5.

Local de amostragem

- Clínica dentária - Universidade Católica Portuguesa de Viseu
- Lar Viscondessa de São Caetano
- Centro Social Paroquial de Rio de Loba
- Atividade Sénior Viseu
- Outros _____



Questão 6:

Investigador / Médico dentista responsável

B- Dados pessoais do dador

Questão 7:

Género

- Feminino
- Masculino
- Não binário
- Prefere não mencionar

Questão 8:

Data de nascimento

Questão 9:

Etnia

- Caucasiana
- Africana
- Oriental
- Cigana
- Oriental
- Outra _____

Questão 10:

Nível de escolaridade

- Básica (até ao 9ºano)
- Médio (até ao 12ºano)
- Licenciatura, Mestrado ou Doutoramento
- Outros
- Não respondeu



C- Informações de saúde geral do dador

Questão 11.

Tem ou teve alguma patologia?

	Sim	Não	Não sabe
Cardíaca			
Sanguínea			
Fígado			
Renal			
Intestinal			
Estômago			
Câncer			
Alergias			
Outros			

Questão 12.

Especifique o tipo de patologia (s)

Questão 13.

Se teve cancro foi sujeito a algum tratamento de radioterapia ou quimioterapia?

- Sim
- Não

Questão 14.

Se sim, há quanto tempo (anos)?

Questão 15.

Tem hipertensão?

- Sim
- Não



Questão 16.

Tem diabetes?

- Sim, Tipo 1
- Sim, Tipo 2
- Sim, mas não sabe o tipo
- Não tem

Questão 17.

Histórico familiar – Existem doenças na família como?

- Doenças cardíacas

- Diabetes

- Cancro

- Outras

D- Informações sobre a medicação

Questão 18.

Faz algum tipo de tratamento médico ou medicação com regularidade?

- Sim

- Não

- Não sabe



Questão 19.

Para além da medicação regular, fez mais algum tipo de tratamento médico ou medicação nos últimos 30 dias?

- Sim
- _____
- Não
- Não sabe

Questão 20.

Fez antibiótico nos últimos 3 meses?

- Sim
- _____
- Não
- Não sabe

Questão 21.

Recebeu a vacina da gripe nos últimos 6 meses?

- Sim
- Não
- Não sabe

E- Hábitos – Consumo de tabaco

Questão 22.

Fuma ou já fumou?

- Sim
- Não
- Ex-fumador

Questão 23.

Se fuma ou já fumou, com que idade deixou de fumar?

- Sabe
- _____
- Não sabe



Questão 24.

Quantos cigarros fuma ou fumava por dia?

- Até 10 cigarros
- Mais de 10 cigarros
- Não sabe

Questão 25.

Se é ex-fumador há quantos anos deixou de fumar?

- Sabe
- Não sabe

Questão 26.

Usa drogas recreativas?

- Sim
- Não

F- Hábitos - Consumo de álcool

Questão 27.

Bebe ou já bebeu, regularmente bebidas alcoólicas?

- Sim
- Não

Questão 28.

Se bebe ou já bebeu, com que idade começou?

- Sabe
- Não sabe

Questão 29.

Se bebe ou já bebeu, preencha o seguinte quadro:

	Até 14	Mais de 14	Não sabe	Não bebe
Nº de copos de vinho (por semana)				
Nº de cervejas (por semana)				
Nº de bebidas digestivas (por semana)				



Questão 30.

Se deixou de beber foi com que idade?

Sabe

Não sabe

G- Hábitos - Alimentares

Questão 31.

Utiliza açúcar nos lanches entre refeições?

Sim

Não

Não sabe

Questão 32.

Número de lanches com açúcar entre as refeições:

1x

2x

3x

4x

Mais que 4x

H- Nível hormonal

Questão 33.

Toma anticoncecionais?

Sim

Não

Questão 34.

Há quantos dias teve a última menstruação?



Questão 35.

Está grávida?

- Sim
- Não

Questão 36.

Se sim, de quantas semanas?

Questão 37.

Encontra-se na menopausa?

- Sim
- Não

Questão 38.

Se sim, há quantos anos?

I- Hábitos e comportamentos de higiene oral

Questão 39.

Costuma escovar os dentes diariamente?

- Sim
- Não

Questão 40.

Se sim, quantas vezes por dia?

- 1x
- 2x
- 3x
- Mais de 3x



Questão 41.

Escova os dentes com uma pasta fluoretada?

- Sim
- Não

Questão 42.

Utiliza uma pasta fluoretada 5000ppm diariamente?

- Sim
- Não

Questão 43.

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

- Sim
- Não

Questão 44.

Durante os últimos 6 meses utilizou clohexidina uma vez por semana?

- Sim
- Não

Questão 45.

Costuma utilizar fio dentário?

- Sim, diariamente
- Sim, às vezes
- Não
- Não sei o que é o fio dentário

Questão 46.

Utiliza aparelho ortodôntico?

- Sim
- Não



Questão 47.

Quando foi a última vez que visitou um dentista?

- Há 1 ano
- Há 2 anos
- Entre 2 a 5 anos
- Há mais de 5 anos
- Nunca fui ao dentista

Questão 48.

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

- Sim
- Não

Questão 49.

Alguma vez lhe foi aplicado por um profissional de saúde verniz ou gel de fluor em consultório nos últimos 6 meses?

- Sim
- Não

Questão 50.

Sente que a sua boca está "seca"?

- Sim
- Não

Questão 51.

Se sim, tenta compensar este facto com maior consumo de água

- Sim
- Não



Questão 52.

Sente alguma dor na região da face ou no interior da boca?

- Sim
- Não

Questão 53.

Sente alguma alteração no paladar?

- Sim
- Não

J- Saúde oral – Lesões de cárie e diagnóstico periodontal

Questão 54. Condição atual de cada elemento dentário:

	Presente	Ausente	Higido	Cariado	Restaurado	Implante	Raiz residual	Desvitalizado
11								
12								
13								
14								
15								
16								
17								
18								
21								
22								
23								
24								
25								
26								
27								
28								
31								
32								
33								
34								
35								
36								



- a 1^o - 11^o
- a 2^o - 21^o
- a 2^o - 22^o
- a 2^o - 23^o
- a 2^o - 24^o
- a 2^o - 25^o
- a 2^o - 26^o
- a 2^o - 27^o
- a 2^o - 28^o
- a 3^o - 38^o
- a 3^o - 37^o
- a 3^o - 36^o
- a 3^o - 35^o
- a 3^o - 34^o
- a 3^o - 33^o



-
- 3º - 32º
-
- 3º - 31º
-
- 4º - 41º
-
- 4º - 42º
-
- 4º - 43º
-
- 4º - 44º
-
- 4º - 45º
-
- 4º - 46º
-
- 4º - 47º
-
- 4º - 48º
-

Questão 56. Lesões de cárie

- Inicial (ICDAS 1 - 2)
- Moderada (ICDAS 3 - 4)
- Extensa (ICDAS 5 - 6)



Questão 57.

Profundidade de sulcos e fissuras?

- Rasos
- Profundas

Questão 58.

Exposição radicular

- Sim
- Não

Questão 59. Diagnóstico periodontal (marcar uma resposta ou mais)

Nota: Como questões a seguir referem-se ao diagnóstico periodontal (nova classificação), preencher Perio Chart e copiar informações para o questionário. <https://www.periodontalchart-online.com/uk/>

- Saúde periodontal
- Periodonto reduzido
- Gengivite
- Periodontite localizada (menos que 30%)
- Periodontite generalizada (maior que 30%)
- Padrão Molar incisivo
- Estadio I
- Estadio II
- Estadio III
- Estadio IV
- Grau A
- Grau B
- Grau C
- Mucosite Peri-implantar
- Peri-implantite
- Estomatite protética Classe I
- Estomatite protética Classe II
- Estomatite protética Classe III

Questão 60.

BOP – Sangramento à sondagem



Questão 61.

Índice de placa

Questão 62.

Média da profundidade de sondagem

Questão 63.

Necessidade de tratamento médico-dentário?

- Sim
- Não

K- Saúde oral – Próteses dentárias

Questão 64.

Utiliza prótese dentária?

- Sim
- Não

Questão 65.

Em qual das arcadas?

- Superior
- Inferior
- Ambas



Questão 66. Qual o tipo de prótese?

	Total	Parcial acrílica	Parcial esquelética
Superior			
Inferior			

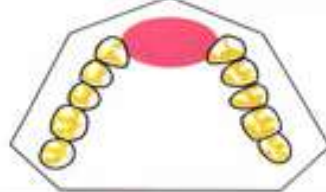
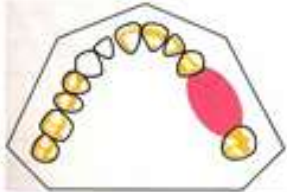


Questão 67. A que tipo de classificação de Kennedy corresponde a prótese que utiliza?

■ Classe I: desdentado bilateral posterior ■ Classe II: desdentado unilateral posterior



■ Classe III: desdentado unilateral posterior incompleto ■ Classe IV: desdentado anterior



	Classe I	Classe II	Classe III	Classe IV	Classe V	Sem classificação
Superior						
Inferior						

Questão 68.

Quando utiliza a(s) prótese(s)?

- Sempre
- Às vezes
- Só durante as refeições
- Nunca

Questão 69.

Como faz a higienização da sua prótese?

- Só com água
- Com água e escova
- Pastilhas de limpeza
- Fio dentário
- Escovilhão
- Produto dentário (qual?)
- _____
- Não faz higienização da prótese



Questão 70.

Quantas vezes por dia é feita essa higienização?

- 1x
- 2x
- 3x
- 4x
- 5x
- 6x

Questão 71.

Costuma tirar a prótese para dormir?

- Sempre
- Às vezes
- Raramente
- Nunca

Questão 72.

Há quanto tempo utiliza uma prótese dentária (anos)?

Questão 73.

Há quanto tempo tem a atual prótese dentária? (anos)

Questão 74.

Qual a frequência de consultas de manutenção protética?

- 3 em 3 meses
- 6 em 6 meses
- 1x por ano
- Nunca

Questão 75.

Necessidade de reabilitação protética?

- Sim
- Não

Anexo 3 – Sequências de primers

Sequências de primers

16S

Primer Forward 5' AAACTCAAAGGAATTGACGG 3'
Primer Reverse 5' CTCACRRCACGAGCTGAC 3'

Actinomyces johnsonii

Primer Forward 5' AGCGCTTGCCTTTTTGGTG3'
Primer Reverse 5' AACCCGCCATGCGACAGACCCG3'

Sreptococcus mitis

Primer Forward 5' CCCGAAGTCGGTGAGGTAAC3'
Primer Reverse 5' TCCCAAACGGCTGACTTGTT3'

Sreptococcus mutans

Primer Forward 5' TCGCGAAAAAGATAAACAAAC3'
Primer Reverse 5' GCCCCTTCACAGTTGGTTAG3'

Sreptococcus sobrinus

Primer Forward 5' GCAAGTGGAACGCATTGGTAA3'
Primer Reverse 5' GGTCCATCTGATAGTGAAGCAATG3'

Anexo 4 – Protocolo laboratorial

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.

Anexo 5 – Cálculo de risco

Fator analisado	Peso no cálculo final
Uso de fio dentário	Sim = -1 Não = 0
Escovagem com pasta fluoretada	1x = -1 2x = -2 3x = -3
Uso de colutório com flúor (0,05 NaF) diariamente	Sim = -1 Não = 0
Uso de pasta fluoretada a 5000ppm	Sim = -1 Não = 0
Aplicação de verniz de flúor nos últimos 6 meses	Sim = -1 Não = 0
Uso de clorhexidina uma vez por semana	Sim = -1 Não = 0
Número de lanches com açúcar entre as refeições	1 ou 2 = 1 3 ou mais = 2
Uso de aparelho ortodôntico	Sim = 2 Não = 0
Uso de drogas recreativas	Sim = 2 Não = 0
Fatores que influenciam a produção de saliva	Sim = 2 Não = 0
Tratamentos nos últimos 3 anos (restaurações, TER, extrações)	Sim = 2 Não = 0
Lesões de cárie inicial (ICDAS 1-2)	1 = 1 2 ou mais = 2
Lesões de cárie moderada (ICDAS 3-4)	1 ou mais = 2
Lesões de cárie extensa (ICDAS 5-6)	1 ou mais = 3
Profundidade de sulcos e fissuras	Rasos = 0 Profundos = -2
Exposição radicular	Sim = 2 Não = 0
Fluxo salivar	Moderado = 0 Baixo = -2
Fluxo salivar moderado	Se sim = -1
pH	<6,5 = -2 >6,5 = 0

Carga total bacteriana (16S)	Baixo = -1 Médio = 0 Elevado = 1 Muito elevado = 2
<i>A. Johnsonii</i> (carioprotetora)	Não encontrado = 0 Baixo = -1 Médio = -2 Elevado = -3 Muito elevado = -4
<i>S. mitis</i> (carioprotetora)	Não encontrado = 0 Baixo = -1 Médio = -2 Elevado = -3 Muito elevado = -4
<i>S. mutans</i> (cariogênica)	Não encontrado = 0 Baixo = 1 Médio = 2 Elevado = 3 Muito elevado = 4
<i>S. sobrinus</i> (cariogênica)	Não encontrado = 0 Baixo = 1 Médio = 2 Elevado = 3 Muito elevado = 4

Indicadores de doença

Fatores de proteção

Fatores de risco

Risco baixo	-15 a -2
Risco moderado	-1 a +2
Risco elevado	+3 a +17
Risco muito elevado	+18 a +28

Membros do Júri das Provas Públicas

Presidente: Professora Doutora Marlene Barros, Faculdade de Medicina Dentária da Universidade Católica Portuguesa

Arguente: Professora Doutora Adriana Bona-Matos, Faculdade de Medicina Dentária da Universidade Católica Portuguesa

Orientador: Professora Doutora Maria José Correia, Faculdade de Medicina Dentária da Universidade Católica Portuguesa

Data das provas públicas: 23/07/2024

Validação e confirmação pelos serviços
escolares:
