

INSTITUTO UNIVERSITÁRIO EGAS MONIZ

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA DENTÁRIA

**MICROBIOMA ORAL E BIOMARCADORES SALIVARES COMO
FERRAMENTAS DE DIAGNÓSTICO E ALVOS TERAPÊUTICOS
ALTERNATIVOS**

Trabalho submetido por

Adelina Alves Correia

para a obtenção do grau de Mestre em Medicina Dentária

julho de 2026

INSTITUTO UNIVERSITÁRIO EGAS MONIZ

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA DENTÁRIA

**MICROBIOMA ORAL E BIOMARCADORES SALIVARES COMO
FERRAMENTAS DE DIAGNÓSTICO E ALVOS TERAPÊUTICOS
ALTERNATIVOS**

Trabalho submetido por

Adelina Alves Correia

para a obtenção do grau de Mestre em Medicina Dentária

Orientadora: Prof. Doutora Lucinda Bessa

julho de 2026

“Seja você quem for, seja qual for a posição social que você tenha na vida, a mais alta ou a mais baixa, tenha sempre como meta muita força, muita determinação e sempre faça tudo com muito amor e com muita fé em Deus, que um dia você chega lá. De alguma maneira você chega lá”

Ayrton Senna

DEDICATÓRIA

Quero dedicar esta conquista aos meus filhos, Vicente e Luisa, agradeço de coração a compreensão, a paciência e a força que me deram ao longo deste caminho. Mesmo tão pequenos, foram uma fonte imensa de amor, motivação e coragem para eu nunca desistir. Esta conquista também é vossa, porque em cada passo estiveram comigo, com o vosso carinho e com o orgulho que me fizeram sentir todos os dias.

AGRADECIMENTOS

Gostaria de expressar o meu mais profundo agradecimento a todas as pessoas que se mostraram fundamentais ao longo deste percurso e que, de forma direta ou indireta, contribuíram para que esta etapa se tornasse possível.

Primeiramente à minha orientadora, Prof. Doutora Lucinda Bessa, agradeço a disponibilidade, o acompanhamento e o rigor científico com que me orientou ao longo deste percurso.

Aos professores que fizeram parte da minha formação, agradeço o conhecimento partilhado, a exigência e a inspiração, fundamentais para o meu crescimento académico e pessoal.

Aos meus filhos, agradeço a paciência, o carinho e o apoio, apesar da tenra idade. O vosso orgulho, tantas vezes expresso quando dizem que a mãe é “nutridentista”, enche-me o coração e dá-me um sentido verdadeiro a este esforço. São a minha maior motivação e a razão pela qual nunca desisto.

Aos meus pais, deixo o meu agradecimento mais profundo. Sem eles, esta jornada não teria sido possível. Pelo amor, pelos valores, pela força e por todo o apoio, serei sempre grata.

Ao meu namorado, Nuno Cardoso, agradeço por ter sido uma presença inspiradora e uma força constante ao longo deste caminho. Obrigada por me recordares que nunca é tarde para correr atrás dos nossos sonhos e por me apoiares, mesmo nos momentos mais difíceis.

Aos meus colegas, agradeço a entreaajuda, a compreensão e a presença em cada desafio ultrapassado. Especialmente às minhas amigas Patricia Ferro, Ana Pires, Inês Pinho e Beatriz Fortuna. O vosso apoio foi essencial para tornar este percurso mais leve e prazeroso

Por fim, agradeço a mim mesma, por não ter desistido, mesmo nos dias em que tudo parecia impossível e em que senti, tantas vezes, que estava a falhar em alguma área da minha vida. E que tantas vezes meti em causa se tanto esforço valeria a pena. Chegar até aqui exigiu persistência, coragem e resiliência, e é com orgulho que reconheço cada passo desta caminhada.

Declaração de Honra

Código | IMP-EM-EI-111_01

Declaro, por minha honra, que o presente trabalho académico é original e foi elaborado por mim próprio (a), não se tendo recorrido a quaisquer outras fontes, para além das indicadas, usadas, adotadas literalmente ou adaptados a partir dos seus originais (em fontes impressas, não impressas ou na internet) e encontram-se adequados, identificados e citados, com observância das convenções do trabalho académico em vigor.

Mais declaro que este Trabalho de Projeto final Microbioma oral e biomarcadores salivares como ferramentas de diagnóstico e alvos terapêuticos alternativos não foi apresentada, para efeitos de avaliação, a qualquer outra entidade ou instituição, para além da(s) diretamente envolvida(s) na sua elaboração, e que os conteúdos das versões impressa e eletrónica são inteiramente coincidentes.

Declaro, igualmente, encontrar-me ciente de que a inclusão, neste texto, de qualquer falsa declaração terá consequências legais.

Data: 17/06/2026

Declaração Conflito de Interesses (DCI)

Código | IMP-EM-EI-110_01

Eu Adelina Isabel Alves Correia, referente à Dissertação Microbioma Oral e biomarcadores salivares como ferramentas de diagnóstico e alvos terapêuticos alternativos declaro que não possuo conflitos de interesse de ordem pessoal, comercial, académica, político ou financeiro.

*caso exista conflito de interesse deve o autor sob compromisso de honra, declarar, existir conflito (s) de interesse na sua participação do referido trabalho.

Data: 17/06/2026

Declaração de Financiamento

Código | IMP-EM-EI-113_01

Eu Adelina Isabel Alves Correia, referente a Dissertação Microbioma oral e biomarcadores salivares como ferramentas de diagnóstico e alvos terapêuticos alternativos declaro que o meu trabalho não se encontra financiado.

*Caso o trabalho se encontre financiado deve o autor referir:

O Montante e Fonte de financiamento

A designação da Entidade Financiadora (entidades públicas, entidades privadas, autofinanciamento)

Breve descrição da parte ou do todo do projeto Financiado

Eu Adelina Isabel Alves Correia, referente a Dissertação Microbioma oral e biomarcadores salivares como ferramentas de diagnóstico e alvos terapêuticos alternativos declaro que o meu trabalho se encontra aprovado pela Comissão de ética sob o número ou identificação de registo – Não aplicável.

Data: 17/06/2026

Declaração de Disponibilidade de Dados

Código| IMP-EM-EI-150

A presente Declaração de Disponibilidade de Dados reflete o compromisso do Instituto Universitário Egas Moniz em promover a transparência, a reprodutibilidade científica e o acesso aberto aos dados gerados no âmbito dos projetos a decorrer nesta IES, em conformidade com os princípios éticos e legais aplicáveis e com os princípios FAIR. Esta declaração estabelece as condições e as diretrizes para o acesso, o compartilhamento e a reutilização dos dados, garantindo que sejam utilizados de forma responsável e em benefício da comunidade científica e da sociedade.

A seguinte tabela apresenta diferentes opções de partilha de dados, incluindo exemplos de formatos e níveis de acessibilidade. Deverá selecionar a(s) opção(ões) que melhor se adequa(m) ao seu projeto, assegurando o cumprimento das diretrizes éticas e científicas aplicáveis.

Tabela 1: Exemplos de declarações de disponibilidade de dados. Onde aparece [nome do repositório, por exemplo, "pure"] deve ser preenchido

Disponibilidade de dados	Modelo de declaração de disponibilidade de dados	Política de partilha	Assinale com "x"
Dados disponíveis num repositório público que emite conjuntos de dados com DOIs	Os dados que apoiam as conclusões deste estudo estão disponíveis em [nome do repositório, por exemplo, "pure"] em http://doi.org/[doi] , número de referência [número de referência].	Partilha geral sem pedido	
Dados abertamente disponíveis num repositório público que não emite DOIs	Os dados que apoiam as conclusões deste estudo estão disponíveis em [nome do repositório] em [URL], número de referência [número de referência].	Partilha geral sem pedido	x

Disponibilidade de dados	Modelo de declaração de disponibilidade de dados	Política de partilha	Assinale com “x”
Dados derivados de recursos do domínio público	Os dados que apoiam as conclusões deste estudo estão disponíveis em [nome do repositório] em [URL/DOI], número de referência [número de referência]. Estes dados foram obtidos a partir dos seguintes recursos disponíveis no domínio público: [listar recursos e URLs]	Partilha geral sem pedido	
Dados disponíveis no artigo ou nos seus materiais suplementares	Os autores confirmam que os dados que suportam as conclusões deste estudo estão disponíveis no artigo [e/ou] nos seus materiais suplementares.	Básico, partilhar a pedido	
Dados gerados numa instalação central de grande escala, disponíveis mediante pedido	Os dados em bruto foram gerados em [nome da instalação]. Os dados derivados que suportam as conclusões deste estudo estão disponíveis junto do autor correspondente [iniciais], mediante pedido.	Básico, partilhar a pedido	
Embargo dos dados devido a restrições comerciais	Os dados que suportam os resultados estarão disponíveis em [nome do repositório] em [URL / ligação DOI] após um embargo de [6 meses] a partir da data de publicação para permitir a comercialização dos resultados da investigação.	Básico, Partilhar a pedido	
Disponibilidade de dados	Modelo de declaração de disponibilidade de dados	Política de partilha	Assinale com “x”

Dados disponíveis a pedido devido a restrições de privacidade/éticas	Os dados que sustentam as conclusões deste estudo estão disponíveis mediante pedido ao autor correspondente, [iniciais]. Os dados não estão disponíveis ao público devido a [restrições, por exemplo, o facto de conterem informações que podem comprometer a privacidade dos participantes na investigação].	Básico, Partilhar a pedido	
Dados sujeitos a restrições de terceiros	Os dados que suportam as conclusões deste estudo estão disponíveis [junto de] [terceiros]. Aplicam-se restrições à disponibilidade destes dados, que foram utilizados sob licença para este estudo. Os dados estão disponíveis [através dos autores / no URL] com a permissão de [terceiros].	Básico, Partilhar a pedido	
Dados disponíveis a pedido dos autores	Os dados que suportam as conclusões deste estudo estão disponíveis junto do autor correspondente, [iniciais do autor], mediante pedido razoável.	Básico, Partilhar a pedido	
Partilha de dados não aplicável - não foram gerados novos dados	A partilha de dados não é aplicável a este artigo, uma vez que não foram criados ou analisados novos dados neste estudo.	-	X
Disponibilidade de dados	Modelo de declaração de disponibilidade de dados	Política de partilha	Assinale com “x”
Dados não digitais disponíveis	Os dados não digitais que suportam este estudo são conservados em [adicionar local].	Básicos	

Dados não disponíveis devido a restrições [éticas/legais/comerciais]	Devido à natureza da investigação, os dados de apoio [éticos/legais/comerciais] não estão disponíveis.	-	
Dados não disponíveis - consentimento do participante	Os participantes neste estudo não deram consentimento escrito para que os seus dados fossem partilhados publicamente, pelo que, devido à natureza sensível da investigação, os dados de apoio não estão disponíveis.	-	

O Orientando:

Data: 17/06/2026

Adelina Alves Correia

O Orientador:

Lucinda Bessa

Data: 17 /06/2026

RESUMO

O microbioma oral constitui um dos ecossistemas microbianos mais complexos do corpo humano, desempenhando um papel central não apenas na saúde oral, mas também no equilíbrio sistêmico do organismo. A crescente evidência científica que relaciona a disbiose oral com patologias crônicas de elevada prevalência, como diabetes mellitus, doenças cardiovasculares e doença de Alzheimer, tem atribuído a este tema uma relevância clínica e científica sem precedentes.

O objetivo desta monografia foi realizar uma revisão crítica e integradora sobre o papel do microbioma oral na saúde e na doença, explorando os mecanismos de homeostase e disbiose, o potencial diagnóstico da saliva como biópsia líquida e as estratégias terapêuticas emergentes orientadas para a modulação precisa do microbioma oral.

Foi realizada uma pesquisa bibliográfica nas bases de dados PubMed, Scopus e Web of Science, utilizando palavras-chave como “microbioma oral”, “saliva”, “biomarcadores”, “disbiose”, “salivaômica”, “doenças sistêmicas” entre outras. Foram privilegiados artigos publicados após 2020, sem exclusão de referências seminais anteriores consideradas indispensáveis para a contextualização do tema.

A revisão permitiu concluir que, em eubiose, o microbioma oral mantém a homeostase e contribui para processos metabólicos sistêmicos, enquanto a disbiose – provocada por má dieta, tabagismo e higiene deficiente – impulsiona cárie, periodontite e doenças sistêmicas crônicas. A saliva destacou-se como matriz biológica estratégica, potenciada pela salivaômica e pela inteligência artificial e *machine learning* na identificação de biomarcadores para detecção precoce de patologias. Terapêuticamente, a tendência passou da erradicação bacteriana de largo espectro para a modulação ecológica precisa de microbioma, através de estratégias como os probióticos, prebióticos, terapia fágica e transplante de microbiota oral. Conclui-se ainda que, a implementação clínica plena destas abordagens exige a padronização de protocolos, a realização de

estudos longitudinais robustos e o cumprimento rigoroso de normas éticas e de privacidade de dados genómicos.

Palavras chave: microbioma oral, saliva, biomarcadores, disbiose

ABSTRACT

The oral microbiome constitutes one of the most complex microbial ecosystems in the human body, playing a central role not only in oral health but also in the systemic balance of the organism. The growing scientific evidence linking oral dysbiosis to highly prevalent chronic conditions, such as diabetes mellitus, cardiovascular diseases, and Alzheimer's disease, has conferred unprecedented clinical and scientific relevance to this subject.

The aim of this monograph was to conduct a critical and integrative review of the role of the oral microbiome in health and disease, exploring the mechanisms of homeostasis and dysbiosis, the diagnostic potential of saliva as a liquid biopsy, and emerging therapeutic strategies aimed at the precise modulation of the oral microbiome.

A bibliographic search was conducted across the PubMed, Scopus, and Web of Science databases, using keywords such as *oral microbiome*, *oral dysbiosis*, *salivary biomarkers*, *holobiont*, *salivaomics*, *probiotics*, *phage therapy*, *oral microbiota transplant*, *periodontitis*, *systemic diseases*, with preference given to articles published after 2020, without excluding seminal earlier references deemed essential for contextualising the topic.

The review concluded that, in eubiosis, the oral microbiome maintains homeostasis and contributes to systemic metabolic processes, while dysbiosis, triggered by poor diet, smoking and poor oral hygiene - drives local pathologies such as caries and periodontitis, as well as chronic systemic diseases. Saliva emerged as a strategic biological matrix, enhanced by salivaomics and the application of artificial intelligence and machine learning in the identification of biomarkers for early disease detection. Therapeutically, the trend has shifted from broad-spectrum bacterial eradication towards precise ecological modulation of the microbiome, through strategies such as probiotics, prebiotics, phage therapy, and oral microbiota transplantation. It was concluded that full clinical

implementation of these approaches requires the standardisation of protocols, robust longitudinal studies, and strict compliance with ethical standards and genomic data privacy regulations.

Keywords: oral microbiome, saliva, dysbiosis, biomarkers

ÍNDICE GERAL

I. INTRODUÇÃO.....	15
1.1 Microbioma humano: enquadramento geral	15
1.2 Microbioma oral: especificidade e importância clínica.....	17
1.3 Saliva como fluido biológico e matriz diagnóstica	21
1.4 Potencial diagnóstico e terapêutico do microbioma e dos biomarcadores salivares	23
1.5 Objectivos da revisão narrativa	24
II. DESENVOLVIMENTO.....	25
2. MICROBIOMA ORAL: COMPOSIÇÃO, FUNÇÕES E DINÂMICA	27
2.1 Composição taxonómica e diversidade microbiana	27
2.1.1 Principais filos, géneros e espécies bacterianas, fúngicas e virais do microbioma oral	27
2.1.2 Microbioma oral saudável vs. disbiótico	34
2.2 Fatores moduladores do microbioma oral	38
2.3 Interações ecológicas, biofilme e homeostase oral.....	41
2.3.1 Biofilmes, competição, simbiose e sucessão microbiana.....	41
2.3.2 Comunicação microbiana (quorum sensing) e estabilidade ecológica	43
3. SALIVA COMO MATRIZ BIOLÓGICA	45
3.1 Composição e funções fisiológicas da saliva	46
3.1.1 Componentes orgânicos e inorgânicos (proteínas, enzimas, metabolitos, electrólitos)	47
3.1.2 Funções de protecção, digestão e lubrificação e manutenção da homeostase oral	48
3.2 Métodos e tecnologias de análise salivar	49
3.2.1 Abordagens ómicas: metagenómicas, transcriptómica, proteómica, metabolómica.....	49

3.2.2 Biossensores, nanotecnologia, e plataformas point-of-care	52
3.3 Testes salivares: tipos, aplicações e limitações.....	53
3.3.1 Testes microbiológicos, moleculares e bioquímicos	53
3.3.2 Aplicações clínicas: diagnóstico precoce, monitorização terapêutica, estratificação do risco	54
3.3.3 Limitações atuais e desafios analíticos (pré-analítica, variabilidade, sensibilidade)	55
3.4 Kits salivares comerciais	57
3.4.1 Principais kits disponíveis: biomarcadores, tecnologia e indicações...	58
3.4.2 Vantagens, limitações e evidência científica	61
4. MICROBIOMA ORAL E BIOMARCADORES SALIVARES COMO FERRAMENTAS DE DIAGNÓSTICO	62
4.1 Biomarcadores salivares em diagnóstico clínico	64
4.1.1 Proteínas inflamatórias, citocinas e enzimas.....	66
4.1.2 DNA/RNA microbiano, micro RNAs e outros ácidos nucleicos.....	67
4.1.3 Metabolitos específicos, hormonas e marcadores de stress.....	68
4.2 Integração de microbioma e biomarcadores (abordagens multiômicas) 69	
4.2.1 Modelos preditivos e diagnóstico precoce baseados em machine learning	70
4.2.2 Desafios na integração e interpretação de dados multiômicos	71
5. MICROBIOMA ORAL E SALIVA COMO ALVOS TERAPÊUTICOS	72
5.1 Estratégias de modulação do microbioma oral.....	73
5.1.1 Probióticos, prebióticos e simbióticos.....	73
5.1.2 Terapia fágica, péptidos antimicrobianos e outras abordagens inovadoras	75
5.1.3 Transplante de microbiota oral: racional e estado de evidência.....	76
5.2 Intervenções personalizadas baseadas no perfil salivar	77

5.2.1 Ajuste de terapias farmacológicas e nutricionais com base em biomarcadores salivares	77
5.2.2 Papel de suplementos, nutracêuticos, vitaminas e ácidos gordos	78
5.3 Desafios e oportunidades na tradução clínica.....	80
5.3.1 Limitações metodológicas e necessidade de validação clínica.....	80
5.3.2 Integração em medicina de precisão e cuidados personalizados	81
6. PERSPECTIVAS FUTURAS E DESAFIOS	82
6.1 Integração de dados multi-ômicos, big data e inteligência artificial.....	82
6.2 Standardização de métodos de recolha e análise salivar	83
6.3 Necessidade de estudos longitudinais e ensaios clínicos robustos	84
6.4 Questões éticas, de privacidade e gestão de dados microbiológicos	85
III. CONCLUSÃO	87
IV. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	89

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Coevolução microbioma-hospedeiro, da teoria da «separação» à abordagem holística. Figura adaptada de Berg et al. (2020). (Figura elaborada com recurso ao NotebookLM).....	17
Figura 2: Microbioma oral humano. (A): uma estrutura em “ourijo” proveniente da placa dentária. <i>Corynebacterium</i> (filamentos em magenta). (B): organização distinta do biofilme no dorso da língua. Retirado de Mark Welch et al. (2019).....	19
Figura 3: A microbiota oral como biomarcador, uma ferramenta diagnóstica e um alvo para o diagnóstico e tratamento de doenças sistémicas. Figura adaptada de (Thomas et al., 2021). (Figura elaborada com recurso ao ChatGPT).....	23
Figura 4: Principais patógenos orais implicados nas doenças sistémicas (Thomas et al., 2021). (Figura elaborada com recurso ao ChatGPT).....	31
Figura 5: Géneros bacterianos predominantes na cavidade oral saudável. Abundância relativa aproximada (Dewhirst et al., 2010; Rajasekaran et al., 2024; Tian et al., 2024). (Figura elaborada com recurso ao Claude).....	34
Figura 6: Associação entre alterações do microbioma oral e doenças cardiovasculares ateroscleróticas, diabetes mellitus tipo 2, doença de Alzheimer, artrite reumatóide e cancro gastrointestinais. Adaptado de Guo et al.(2026). (Imagem elaborada com recurso a ChatGPT).....	38
Figura 7: Estrutura e composição da saliva. Figura adaptada de (Shinde et al., 2024). (Imagem elaborada com recurso ao ChatGTP).....	44
Figura 8: Comparação de kits salivares comerciais: tecnologias, biomarcadores detetados e principais aplicações clinicas. Adaptado de (Pittman et al., 2023; Song et al., 2023; Y. Zhou & Liu, 2023). (Imagem elaborada com recurso a ChatGTP.).....	58
Figura 9: Via oral-intestinal para a doença inflamatória intestinal e doenças sistémicas. Imagem adaptada de (Rajasekaran et al., 2024). (Imagem elaborada com recurso a Gemini).....	61

Figura 10: Diferentes tipos de biomarcadores (DNA tumoral,PCR, anticorpos) e compara a saliva com outros fluidos como sangue e urina. Figura adaptada de (Song et al., 2023). (Imagem elaborada com recurso a Gemini).....63

Figura 11: Esquema de funcionamento de IA. Imagem adaptada de (Patil et al., 2022). (Imagem elaborada com recurso ao ChatGPT).....81

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1: Os seis principais filos e géneros da microbiota oral, com alguns exemplos de géneros menos frequentes. Tabela retirada de Barboza-Solís & Acuña-Amador (2020).....	26
Tabela 2: Tipo de microrganismos, espécies comuns, mecanismos de ação, e o seu papel na saúde e nas patologias orais, bem como os possíveis tratamentos Adaptada de Chandra Nayak et al., 2025; Wade, 2013).....	28
Tabela 3: Microbioma oral saudável (Eubiose) vs. Disbiótico. Adaptada de (Barboza-Solís & Acuña-Amador, 2020,; Chandra Nayak et al., 2025; Marsh, 2018; Thomas et al., 2021.....	35
Tabela 4: Principais biomarcadores salivares e aplicações. Adaptada de Fang et al., 2025; Kumari et al., 2024a; Nonaka & Wong, 2022; Song et al., 2023).....	62

ABREVIATURAS, SIGLAS e ACRÓNIMOS

2D-DIGE: Eletroforese diferencial em gel bidimensional

AMPs: Péptidos Antimicrobianos

ANN: Redes Neurais Artificiais

circRNA: RNA circular

CNN: Redes Neurais Convolucionais

CPNPC: Cancro do pulmão de não pequenas células

ctDNA: DNA tumoral circulante

DNA: Ácido desoxirribonucleico

EFIRM: Libertação e medição induzidas por campo elétrico

ELISA: Ensaio imunoenzimático (do inglês *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*)

FAIR: Findable, Accessible, Interoperable, and Reusable

HbA1c: Hemoglobina glicada

HOMD: *Human Oral Microbiome Database*

HPA: Eixo hipotálamo-pituitária-adrenal

HPV: Virus do papiloma humano

HSV: Herpes-virus simples

IA: Inteligência Artificial

IgA: Imunoglobulina A

IgG: Imunoglobulina G

IgM: Imunoglobulina M

IL (ex: IL-1 β , IL-6, IL-8): Interleucinas (citocinas inflamatórias)

lncRNA: RNA longo não-codificante

MEMS/NEMS: Sistemas micro/nanoeletromecânicos

miRNA: microRNA

ML: *Machine learning*

MMP: Metaloproteinase de matriz

MMP-8: Metaloproteinase de matriz 8

mRNA: RNA mensageiro

MS: Espectrometria de massa

NGS: Sequenciação de nova geração (do inglês *Next-Generation Sequencing*)

OFNASET: Oral fluid nano-sensor test

OMT: Transplante de microbiota oral

PCR: Reação em cadeia da polimerase

POC: *Point-of-care* qPCR: PCR quantitativa em tempo real

QS: *Quorum sensing*

QSM: Moléculas sinalizadoras de *quorum sensing*

RGPD: Regulamento Geral sobre a Proteção de Dados

RNA: Ácido ribonucleico

RT-qPCR: PCR quantitativa com transcrição reversa

sAA: Serum amyloid A

slgA: Imunoglobulina A secretora

SOPs: Procedimentos operacionais padrão

SVM: Máquinas de vetores de suporte

TNF- α : Fator de necrose tumoral alfa

VIH: Vírus da imunodeficiência humana

I. INTRODUÇÃO

1.1 Microbioma humano: enquadramento geral

O termo microbiota designa o conjunto de microrganismos simbióticos, comensais e patogénicos que habitam o organismo humano, colonizando superfícies externas e mucosas internas (Aggarwal et al., 2023; Barboza-Solís & Acuña-Amador, 2020; Tinahones Madueño, 2023). Os seus genomas, considerados em conjunto, constituem o metagenoma, em constante interação com o organismo hospedeiro (Aggarwal et al., 2023; Barboza-Solís & Acuña-Amador, 2020; Tinahones Madueño, 2023).

Joshua Lederberg foi o primeiro a propor o conceito de microbioma, que não se foca apenas na composição taxonómica, mas também no potencial funcional da comunidade microbiana, englobando o metagenoma, o metabolismo e as vias fisiológicas da microbiota (Deo & Deshmukh, 2019; Kilian et al., 2016).

O microbioma é definido como uma comunidade microbiana característica que ocupa um habitat razoavelmente bem definido com propriedades físico-químicas distintas. Esta definição reavivou a proposta original de Whipps et al. (1988), alargando-a para abranger aspetos dinâmicos e tecnológicos atuais. O termo não se refere apenas aos microrganismos envolvidos, mas também ao seu “teatro de atividades”, o que resulta na formação de nichos ecológicos específicos (Berg et al., 2020; Thambugala et al., 2020;). A microbiota que compõe estes microbiomas inclui bactérias, arqueias, vírus, fagos e fungos, sendo as bactérias o grupo mais abundante em termos de diversidade de espécies (Barboza-Solís & Acuña-Amador, 2020; Graves et al., 2019; Manos, 2022).

O microbioma humano pode-se particularizar consoante os vários nichos ecológicos do organismo, nomeadamente na cavidade oral, na pele, no trato gastrointestinal, no esófago, nos pulmões e noutros locais (Aggarwal et al., 2023; Manos, 2022). Entre os vários nichos microbianos, o intestino representa a maior

comunidade, seguida pela cavidade oral, que alberga uma das microbiotas mais complexas do organismo (Aggarwal et al., 2023; Deo & Deshmukh, 2019).

Neste contexto, importa distinguir entre microbioma *core* e microbioma variável. O primeiro refere-se aos taxa microbianos e/ou às características genómicas e funcionais associadas a esses taxa que são características da cavidade oral em condições saudáveis (Preidis & Versalovic, 2009). Em contraste, o microbioma variável varia ao longo do tempo e em resposta a condições ambientais específicas, nomeadamente fatores intrínsecos, como a fisiologia local, a genética, a etnia, o género e a idade, e fatores extrínsecos, como a dieta, o estilo de vida, a medicação, a localização geográfica, o clima e a sazonalidade (Aggarwal et al., 2023). Variações quantitativas e qualitativas na composição do microbioma *core* provocam disbiose, a qual está relacionada com o estado de doença (Rajasekaran et al., 2024; Scannapieco & Dongari-Bagtzoglou, 2021; Thomas et al., 2021).

As interações entre o microbioma e o organismo podem ser benéficas, neutras ou prejudiciais e desempenham um papel crucial na manutenção da homeostase e no desenvolvimento de várias doenças (Aggarwal et al., 2023; Barboza-Solís & Acuña-Amador, 2020). O hospedeiro e a sua microbiota associada coevoluem, ou seja, evoluem em conjunto. Assim, a teoria da coevolução não é mais do que uma adaptação mútua de linhagens em resposta umas às outras (Berg et al., 2020). No entanto, existem várias abordagens que suportam esta teoria. Uma delas é a abordagem da separação, como se pode observar na parte superior da Figura 1, na qual os microrganismos são divididos em patógenos, neutros ou simbioses, consoante o tipo de interação estabelecida com o hospedeiro (Berg et al., 2020). Essa interação pode ser antagonista, baseada em interações negativas, ou mutualística, baseada em interações positivas (Berg et al., 2020). Mais recentemente, surgiu a abordagem holística que considera o hospedeiro e a sua microbiota associada como uma unidade, um todo, denominado de holobionte, que evolui como uma unidade (Aggarwal et al., 2023; Berg et al., 2020; Simon et al., 2019). Segundo esta perspectiva, o estado de doença do holobionte está ligado à disbiose, ou seja, um desequilíbrio que provoca uma diminuição da diversidade da microbiota e que é designado por patobioma. Por outro lado, no estado de saúde, há uma

eubiose, ou seja, um estado de equilíbrio e homeostase da respectiva microbiota (Berg et al., 2020; Preidis & Versalovic, 2009; Thambugala et al., 2020)

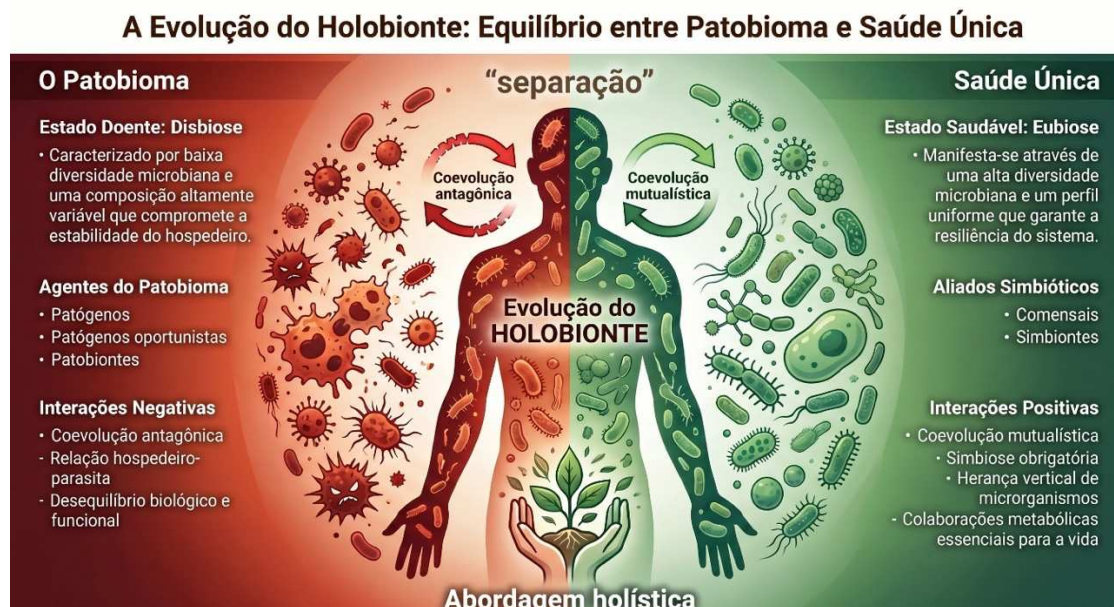


Figura 1: Coevolução microbioma-hospedeiro, da teoria da «separação» à abordagem holística. Figura adaptada de Berg et al. (2020). (Figura elaborada com recurso ao NotebookLM).

1.2 Microbioma oral: especificidade e importância clínica

A cavidade oral é uma das regiões mais densamente colonizadas do organismo constituindo um ambiente heterogêneo, que apresenta múltiplos micro-habitats, divididos em superfícies duras e não descamativas (como os dentes) e superfícies moles e descamativas (como a mucosa oral) cujas células se regeneram regularmente, estando esta dividida em tipos de mucosa queratinizada, não queratinizada, e especializada, como o dorso da língua com papilas (Aggarwal et al., 2023; Deo & Deshmukh, 2019; Mark Welch et al., 2019; Palmer, 2014). Assim, as superfícies dos dentes (não descamativas) permitem o desenvolvimento de biofilmes estáveis a longo prazo, enquanto as superfícies moles da mucosa (descamativas) restringem a colonização bacteriana (Li et al., 2022; Palmer, 2014; Zarco et al., 2012). Além disso, em certos casos podem existir ainda os aparelhos protéticos ou ortodônticos, constituídos por materiais

sintéticos que proporcionam superfícies de adesão bastante diferentes (Samaranayake & Matsubara, 2017). O microbioma oral está em contacto permanente com a saliva e com o sistema imunitário do hospedeiro (Aggarwal et al., 2023). Cada tipo de superfície tem a sua própria microbiota organizada sob a forma de biofilme (Mark Welch et al., 2019). Mesmo dentro do mesmo ambiente da superfície dentária (supragengival ou subgengival), a composição da comunidade bacteriana varia consideravelmente consoante a localização e o tipo de dente envolvido (Kumar & Mason, 2015). Assim, cada micro-habitat mantém um ecossistema único com um pH, uma salinidade, uma atividade de água, uma temperatura, um potencial redox ou composições nutricionais distintas, que influenciam a colonização de microrganismos e criam uma microbiota complexa com interações simbióticas entre vários microrganismos e o hospedeiro dentro desse ecossistema (Kumar & Manson, 2015). Estas diferenças locais traduzem uma elevada diversidade alfa, refletindo grande riqueza e uniformidade de espécies. Contudo, quando se compara a microbiota dos mesmos nichos anatómicos entre diferentes indivíduos (diversidade beta), os locais orais revelam menor variabilidade interpessoal. Isto sugere que as comunidades microbianas orais são mais semelhantes entre indivíduos do que as comunidades microbianas de outros locais do corpo (Chen & Jiang, 2014; Moon & Lee, 2016). Assim, pode afirmar-se que a maioria dos microrganismos orais apresenta uma relativa especificidade de nicho, desenvolvendo-se predominantemente apenas nesse micro-habitat (Mark Welch et al., 2019). Por exemplo, o género *Actinomyces* possui espécies adaptadas à placa dentária, como é o caso de *A. naeslundii*, e outras predominantes na língua, como *A. graevenitzii*, o que reforça a existência de ecossistemas microbianos relativamente estáveis em cada micro-habitat (Mark Welch et al., 2019).

A biogeografia do microbioma oral revela estruturas altamente organizadas, como as formações em “ouriço” (*hedgehog*) observadas na placa dentária, nas quais filamentos de *Corynebacterium* irradiam a partir do centro e estabelecem interações metabólicas com outras espécies localizadas na periferia (Figura 2) (Mark Welch et al., 2019).

A Figura 2 ilustra comunidades microbianas densas e altamente organizadas do microbioma oral humano. A Figura 2A apresenta uma estrutura em “ouriço”

proveniente da placa dentária, caracterizada pela presença de filamentos de *Corynebacterium*. Já a Figura 2B evidencia uma organização distinta do biofilme presente no dorso da língua (Mark Welch et al., 2019).

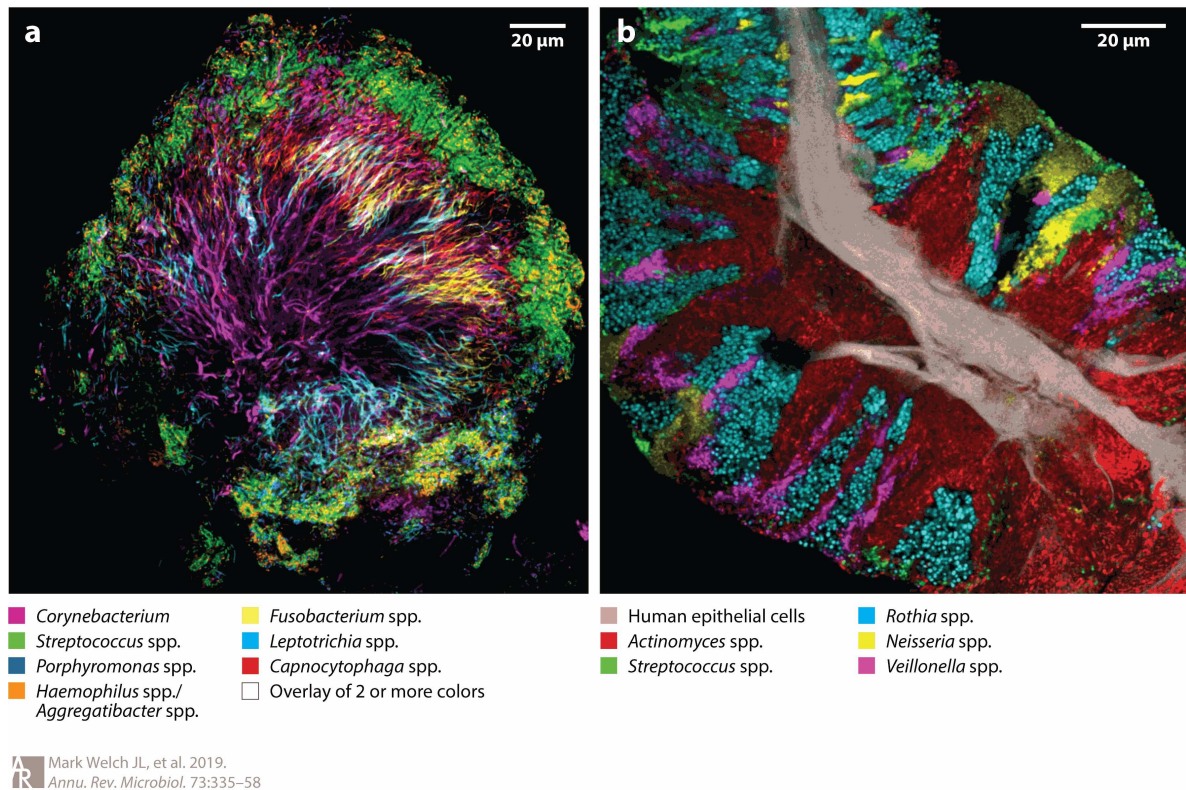


Figura 2: A imagem revela comunidades densas e altamente organizadas no microbioma oral Humana. A imagem a) mostra uma estrutura em ouriço proveniente da placa dentária. Filamentos de *Corynebacterium* spp. irradiam para o exterior a partir de um ponto central, formando um habitat espacialmente estruturado habitado por outras taxa em posições características. *Streptococcus* spp. ocupam uma camada exterior juntamente com *Porphyromonas* spp. e *Haemophilus* spp./*Aggregatibacter* spp.. Taxa microaerófilos como *Fusobacterium* spp. e *Leptotrichia* spp. ocupam uma zona presumivelmente de baixo teor em oxigénio no interior da camada exterior. A imagem b) representa um biofilme raspado da superfície da língua. O tecido epitelial humano forma um núcleo central (bege). *Actinomyces* spp. ocupam uma região próxima do núcleo; *Streptococcus* spp. localizam-se numa crosta exterior e em faixas no interior. Outras taxa como *Rothia* spp., *Neisseria* spp., e *Veillonella* spp. estão presentes em aglomerados e faixas que sugerem um crescimento da comunidade para o exterior a partir do núcleo central. Retirado de Mark Welch et al. (2019).

Diferentes grupos bacterianos podem desempenhar funções semelhantes na microbiota, um fenómeno designado como redundância funcional (Barboza-Solís & Acuña-Amador, 2020; Bryan et al., 2017; Marsh, 2018). Um exemplo é a conversão de nitrato alimentar a nitrito por várias bactérias orais de géneros distintos, como *Actinomyces*, *Rothia*, *Propionibacterium*, *Staphylococcus*, *Veillonella*, *Prevotella*, *Neisseria* e *Haemophilus*. Esta redução do nitrato alimentar contribui para a diminuição da tensão arterial e para a promoção da saúde vascular (Barboza-Solís & Acuña-Amador, 2020; Bryan et al., 2017; Marsh, 2018).

Embora as bactérias predominem, outros componentes são essenciais para o “teatro de atividades” do microbioma (Berg et al., 2020). Os fungos, que constituem menos de 0,1% da microbiota oral, formam o micobioma oral, sendo o género *Candida* o mais prevalente. Para além disso, podem atuar como organismos “ponte”, facilitando a adesão bacteriana, a formação de biofilmes mistos e o aumento da tolerância a antimicrobianos (Baker et al., 2017; Li et al., 2022; Rajasekaran et al., 2024). A maioria dos vírus identificados na cavidade oral são bacteriófagos, sendo as famílias mais comuns Siphoviridae, Myoviridae e Podoviridae (Baker et al., 2017). Estes modulam a abundância bacteriana através de dinâmicas como o modelo “kill the winner”, prevenindo o sobrecrecimento de certas espécies e a disbiose (Baker et al., 2017). Existem também bactérias ultra-pequenas como as bactérias do filo Saccharibacteria (anteriormente conhecidas como bactérias do grupo TM7) que vivem como epibionte obrigatório na superfície de outras bactérias, como *Actinomyces*, modulando a resposta imunitária do hospedeiro (Baker et al., 2017).

A manutenção da saúde oral depende de um estado de eubiose, onde a microbiota coexiste de forma mutualista com o hospedeiro, servindo como uma barreira protetora contra patógenos externos (Bostanghadiri et al., 2024; Lv et al., 2025; Zarco et al., 2012). A quebra desta homeostasia leva à proliferação e predominância de um ou mais tipos de microrganismos, ou seja uma disbiose que, por sua vez, pode contribuir para a ocorrência de diversas patologias, Clique ou toque aqui para introduzir texto.como por exemplo, a cárie dentária que se caracteriza por uma mudança ecológica com prevalência de bactérias acidogénicas e acidúricas (como *S. mutans* e *Lactobacillus* spp.) impulsionada

pelo consumo excessivo de açúcares, resultando numa redução da diversidade microbiana (Kumar & Mason, 2015; Marsh, 2018; Thomas et al., 2021). Ao contrário da cárie dentária, a periodontite está associada a um aumento da diversidade e da biomassa, com a proliferação de anaeróbios estritos do famoso «complexo vermelho» de Socransky (*P. gingivalis*, *T. forsythia* e *T. denticola*) que desafiam a resposta inflamatória do hospedeiro (Li et al., 2022; Perera et al., 2016; Scannapieco & Dongari-Bagtzoglou, 2021; Thomas et al., 2021).

Importa salientar que o microbioma oral estabelece uma comunicação intensa com o restante organismo (Thomas et al., 2021). A translocação bacteriana e de mediadores inflamatórios permitem uma comunicação contínua com os sistemas sistémicos, o que estabelece ligações entre a disbiose oral e condições como a diabetes mellitus (relação bidireccional), doença cardiovascular (deteção de bactérias periodontais em válvulas cardíacas), Alzheimer e certos tipos de cancro (como o colorretal e pancreático) (Fang et al., 2025; Lv et al., 2025; Thomas et al., 2021; Zarco et al., 2012).

1.3 Saliva como fluido biológico e matriz diagnóstica

Historicamente descrita pelas suas funções digestivas e de lubrificação, a saliva é hoje reconhecida como um fluido biológico de valor diagnóstico inestimável, sendo frequentemente designada como o “espelho do corpo” (Lima et al., 2020; Kumari et al., 2024a; Thomas et al., 2021). Este conceito, popularizado por investigadores como David Wong, defende que cerca de 20 a 40% das proteínas com valor diagnóstico presentes no sangue também estão presentes na saliva, o que a torna um substituto viável e menos invasivo do que o soro (Lima et al., 2020; Kumari et al., 2024). Esta mudança de paradigma foi consolidada pelo surgimento da salivaómica, um campo interdisciplinar que integra tecnologias de alta resolução – como a proteómica, transcriptómica, genómica e metabolómica – para o estudo sistemático de biomarcadores salivares (Lima et al., 2020; Costa et al., 2021; Kumari et al., 2024). O estudo da saliva neste contexto transformou-a numa poderosa ferramenta de biópsia líquida. Este termo é atribuído pelo seu potencial para monitorizar biomarcadores

(como microRNAs e DNA tumoral circulante) que permitem o rastreio de cancro oral sistémico sem a necessidade de procedimentos cirúrgicos (*Biomarcadores Salivares No Diagnostico e Monitoramento de Patologias*, n.d.-a; Fang et al., 2025; Thomas et al., 2021).

A elevada acessibilidade da saliva, aliada ao carácter não invasivo da sua colheita, torna-a uma amostra central na investigação de biomarcadores (Song et al., 2023; Surdu et al., 2025). Nesse sentido, a saliva tem vindo a ser cada vez mais reconhecida como matriz biológica estratégica para o diagnóstico, sendo obtida por métodos simples, indolores e de baixo custo, e leva a uma boa aceitação por parte dos doentes e à possibilidade de colheitas seriadas (Basilicata et al., 2023a; Gumert et al., 2025; Song et al., 2023; Surdu et al., 2025). Estes atributos tornam-na particularmente atrativa em cenários de rastreio, monitorização de doenças crónicas e seguimento pós-tratamento, sobretudo quando comparada com o sangue, cuja obtenção implica procedimentos invasivos e recursos técnicos adicionais (Basilicata et al., 2023; Gumert et al., 2025). Além disso, o contacto direto com a mucosa oral e o biofilme dentário conferem à saliva uma vantagem adicional enquanto matriz para a deteção de alterações locais, incluindo neoplasias e infeções associadas ao microbioma oral (Basilicata et al., 2023; Gumert et al., 2025).

Do ponto de vista bioquímico, a saliva é uma matriz de grande complexidade, resultante da integração das secreções das glândulas salivares maiores e menores com o fluido crevicular gengival, células epiteliais de descamação, componentes derivados do plasma e uma comunidade microbiana diversificada (Basilicata et al., 2023; Cunha et al., 2025). Esta complexidade reflete-se na presença de proteínas, péptidos, citocinas inflamatórias, hormonas, metabolitos e ácidos nucleicos, bem como de microrganismos e dos seus respetivos produtos metabólicos, proporcionando uma representação dinâmica do estado fisiológico e patológico do hospedeiro (Basilicata et al., 2023; Cunha et al., 2025; Gumert et al., 2025). Por conseguinte, a saliva tem sido amplamente explorada como fonte de biomarcadores em doenças orais e sistémicas, incluindo cancro oral, patologias metabólicas e condições inflamatórias crónicas, o que reforça o seu potencial enquanto ferramenta de diagnóstico e monitorização (Basilicata et al., 2023; Cunha et al., 2025; Gumert et al., 2025). A Figura 3 ilustra

esquemáticamente os fatores de disbiose, as ferramentas de diagnóstico e as abordagens terapêuticas associadas.

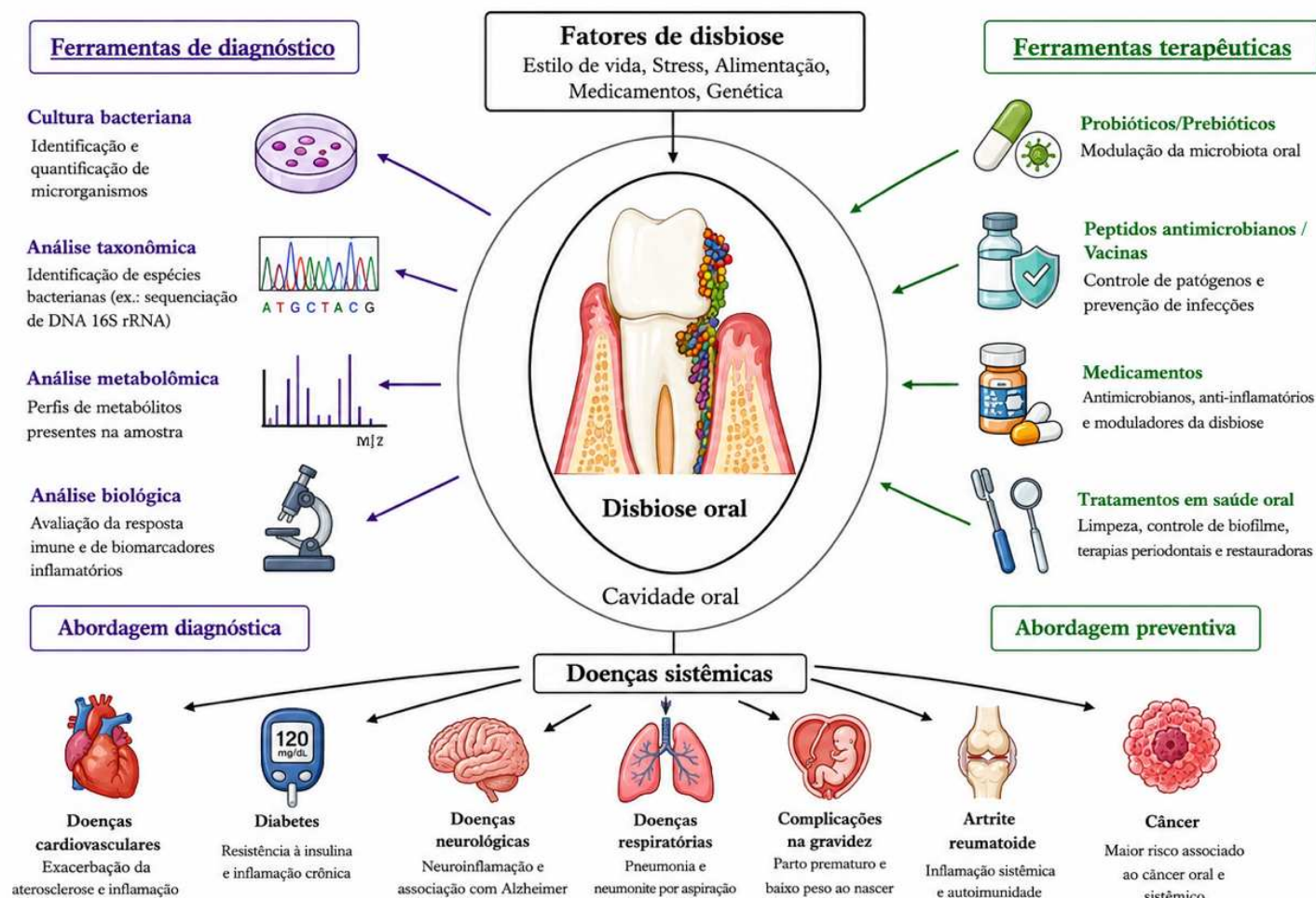


Figura 3: A microbiota oral como biomarcador, uma ferramenta diagnóstica e um alvo para o diagnóstico e tratamento de doenças sistêmicas. Figura adaptada de (Thomas et al., 2021). (Figura elaborada com recurso ao ChatGPT).

1.4 Potencial diagnóstico e terapêutico do microbioma e dos biomarcadores salivares

Nos últimos anos, diversos estudos têm demonstrado que o microbioma oral, em articulação com biomarcadores salivares, pode funcionar como um indicador sensível de disbiose e de susceptibilidade à doença, reforçando o papel da saliva

como fluido biológico de eleição em estratégias de diagnóstico personalizado (Basilicata et al., 2023b; Cunha et al., 2025).

Paralelamente, vários constituintes salivares, incluindo proteínas, metabolitos, ácidos nucleicos, mediadores inflamatórios e o próprio microbioma oral, têm sido amplamente investigados como potenciais biomarcadores. Estes apresentam a capacidade de detetar precocemente alterações patológicas, frequentemente antes do surgimento de manifestações clínicas evidentes (Song et al., 2023).

Os avanços na precisão, sensibilidade e exatidão dos testes salivares têm melhorado as capacidades de diagnóstico e facilitado a identificação de novos marcadores, particularmente no contexto das doenças orais nomeadamente, cárie dentária, periodontite, carcinoma de células escamosas da cavidade oral e síndrome de Sjögren (Zhou & Liu, 2023).

1.5 Objectivos da revisão narrativa

O objetivo geral desta revisão narrativa foi reunir e analisar o conhecimento atual sobre o microbioma oral e os biomarcadores salivares, enquanto ferramentas de diagnóstico e potenciais alvos terapêuticos. A disbiose do microbioma oral tem sido associada a múltiplas patologias locais e sistémicas, evidenciando a necessidade de métodos diagnósticos mais eficazes e não invasivos.

Especificamente esta revisão narrativa visou: (i) analisar criticamente a literatura recente (últimos 5–7 anos) sobre o microbioma oral e os biomarcadores salivares, salientando a sua relevância clínica; (ii) identificar perfis microbianos e biomarcadores com utilidade diagnóstica e prognóstica em doenças orais e sistémicas; (iii) compreender o papel da saliva na regulação do microbioma e na manutenção da saúde oral e sistémica; e (iv) avaliar os principais tipos de biomarcadores salivares, as técnicas analíticas utilizadas na sua deteção e os testes de diagnóstico disponíveis no mercado, incluindo as suas aplicações e limitações. Foram ainda abordadas terapias não convencionais e estratégias de suplementação, com base na evidência científica disponível.

Pretendeu-se, assim, contribuir para a agregação de conhecimento atual sobre o desenvolvimento de abordagens diagnósticas rápidas, sensíveis e minimamente invasivas, capazes de apoiar a prática clínica personalizada e otimizar a prevenção e o tratamento das doenças orais e sistémicas.

II. DESENVOLVIMENTO

2. MICROBIOMA ORAL: COMPOSIÇÃO; FUNÇÕES E DINÂMICA

2.1 Composição taxonômica e diversidade microbiana

2.1.1 Principais filos, gêneros e espécies bacterianas, fúngicas e virais do microbioma oral

O microbioma oral constitui um dos ecossistemas microbianos mais complexos do corpo humano, abrigando mais de 700 espécies bacterianas descritas, embora cada indivíduo tipicamente albergue cerca de 100-200 espécies organizadas em biofilmes aderentes às superfícies orais (Deo & Deshmukh, 2019; Manos, 2022). A sua composição pode ser descrita em múltiplos níveis taxonômicos, desde o filo até à estirpe, passando pela família, género e espécie (Mark Welch et al., 2019).

A descrição da microbiota da cavidade oral como um todo é imprecisa, visto não se tratar de um ambiente homogêneo (Xu & Gunsolley, 2014; Hall et al., 2017; Cornejo Ulloa et al., 2019).

Estudos baseados na sequenciação do gene 16S rRNA de amostras orais obtidas de indivíduos saudáveis têm demonstrado que a maior parte das bactérias orais pertence a um conjunto relativamente limitado de filos. Cerca de 80-90% da comunidade bacteriana oral concentra-se em seis filos principais – Bacillota (anteriormente designado Firmicutes), Actinomycetota (anteriormente designado Actinobacteria), Pseudomonadota (anteriormente designado de Proteobacteria), Fusobacteria, Bacteroidota (anteriormente designado por Bacteroidetes) e Spirochaetes – sendo que, dentro de cada filo, apenas um número restrito de géneros é responsável pela maior parte da abundância relativa observada (Barboza-Solís & Acuña-Amador, 2020; Deo & Deshmukh, 2019; Fan et al., 2018; Perera et al., 2016). Dentro destes, menos de 16 géneros representam até 88% da abundância total (Chen & Jiang, 2014; Palmer, 2014;

Proctor et al., 2018), conforme ilustrado na Tabela 1, que destaca gêneros mais prevalentes em cada um deles e alguns gêneros menos frequentes que, embora em menor abundância, contribuem para a complexidade do ecossistema oral (Zarco et al., 2012).

Tabela 1: Os seis principais filos e gêneros da microbiota oral, com alguns exemplos de gêneros mais e menos frequentes. Tabela retirada de Barboza-Solís & Acuña-Amador (2020)

Filos Principais	Gêneros Principais	Gêneros secundários
Bacillota	<i>Streptococcus</i> <i>Veillonella</i> , <i>Selenomonas</i> , <i>Gamella</i> , <i>Oribacterium</i>	<i>Granulicatella</i> , <i>Lactobacillus</i> , <i>Peptostreptococcus</i> , <i>Staphylococcus</i> , <i>Eubacterium</i>
Actinomycetota	<i>Actinomyces</i> , <i>Corynebacterium</i> , <i>Rothia</i>	<i>Propionibacterium</i>
Bacteroidota	<i>Prevotella</i> , <i>Capnocytophaga</i> , <i>Porphyromonas</i>	<i>Bacteroides</i>
Pseudomonadota	<i>Neisseria</i> , <i>Campylobacter</i> , <i>Haemophilus</i> , <i>Lautropia</i>	<i>Eikenella</i>
Fusobacteria	<i>Fusobacterium</i> , <i>Leptotrichia</i>	<i>Sneathia</i>
Spirochaetes	<i>Treponema</i>	---

Apesar do predomínio destes filos, o microbioma oral é ainda mais diverso, incluindo outras taxa menos abundantes, como *Chlamydia*, Euryarchaeota e

Tenericutes, que refletem a heterogeneidade de ambientes dentro da cavidade oral (Dewhirst et al., 2010; Rajasekaran et al., 2024).

O componente bacteriano do microbioma (frequentemente designado bacterioma), continua a ser o mais estudado, uma vez que é o mais abundante, e, muitas vezes, é usado como sinónimo de microbiota/microbioma oral, embora esta equivalência seja uma simplificação que exclui fungos, vírus e arqueias (Barboza-Solís & Acuña-Amador, 2020). As bactérias orais são, em grande medida, específicas desse ambiente e pouco frequentes noutros sítios do corpo ou do meio externo, o que pode relacionar-se com a exposição contínua da cavidade oral ao exterior e com a dinâmica resultante das suas comunidades (Manos, 2022; Zarco et al., 2012).

A composição do microbioma varia de forma consistente entre diferentes sítios da cavidade oral, como dentes, sulco gengival, o dorso da língua, a mucosa jugal, o palato duro e mole e as criptas amigdalinas, cada um com comunidades microbianas características (Li et al., 2022; Segata et al., 2012). De forma geral, as superfícies molares apresentam maior diversidade, favorecida pela sua morfologia e pela retenção de biofilme, enquanto a mucosa jugal e o palato duro tendem a albergar comunidades menos diversas (Barboza-Solís & Acuña-Amador, 2020; Segata et al., 2012). Em termos ecológicos, pode fazer-se a distinção entre microrganismos residentes, capazes de colonização estável, e microrganismos transitórios, que estão de passagem e permanecem em baixa abundância, embora alguns taxa raros possam desempenhar funções fundamentais desproporcionais à sua abundância (Barboza-Solís & Acuña-Amador, 2020; Mark Welch et al., 2019).

Esta diversidade taxonómica e ecológica tem implicações diretas no estado de saúde ou doença. Por um lado, observa-se, em muitos estudos, o predomínio de Bacillota e em particular, de várias espécies do género *Streptococcus* em indivíduos saudáveis, embora existam exceções a este padrão [Clique ou toque aqui para introduzir texto.](#) (Bostanghadiri et al., 2024; Chen & Jiang, 2014; Palmer, 2014; Segata et al., 2012). Por outro, periodontopatógenos clássicos, como *Porphyromonas gingivalis* e *Treponema denticola*, podem ser detetados em baixos níveis em indivíduos sem doença, o que reforça a ideia de que o contexto

ecológico, e não apenas a presença de um dado microrganismo, determina o seu papel patogénico (Wade, 2013; Zarco et al., 2012; Segata et al., 2020).

A Tabela 2 sintetiza exemplos de bactérias, fungos e vírus relevantes no microbioma oral, destacando a sua função em condições de saúde, o potencial envolvimento em patologias orais e alguns mecanismos de ação e abordagens terapêuticas habitualmente descritas (Chandra Nayak et al., 2025a; Wade, 2013).

Tabela 2: Tipo de microrganismos, espécies comuns, mecanismos de ação, e o seu papel na saúde e nas patologias orais, bem como os possíveis tratamentos (Chandra Nayak et al., 2025; Wade, 2013).

Tipo de microrganismo	Espécie comum	Papel na saúde oral	Papel na patologia oral	Mecanismo de ação	Possível tratamento/abordagem
Bactéria	<i>Streptococcus mutans</i>	Parte da flora oral natural	Cárie dentária	Produz ácido que desmineraliza o esmalte dentário	Tratamento com flúor, escovagem regular
Bactéria	<i>Porphyromonas gingivalis</i>	Limitado em gengivas saudáveis	Associação a periodontite	Promove inflamação e destrói tecido gengival	Limpeza profunda, instrumentação subgengival e

					antibióticos
Bactéria	<i>Lactobacillus</i> spp.	Contribui para a produção de saliva	Pode contribuir para cárie dentária num ambiente ácido	Baixa o pH oral, promove erosão do esmalte	Probióticos, manter o pH neutro
Fungo	<i>Candida albicans</i>	Normalmente controlado pelo sistema imunitário	Causa candidíase oral	Cresce em indivíduos imunodeprimidos ou tratados com antibióticos	Tratamento com antifúngicos, melhorar a higiene oral
Fungo	<i>Candida glabrata</i>	Organismo comensal em níveis baixos	Resistente a muitos antifúngicos, patógeno oportunista	Adere à mucosa oral e contribui para a formação de biofilme	Tratamento antifúngico, melhorar a higiene oral
Vírus	Vírus Herpes simplex (HSV)	Tipicamente latente nos tecidos nervosos	Causa herpes oral	Recidiva quando há stress ou imunodepressão	Medicação antiviral (ex. acyclovir)
Vírus	Papiloma vírus	Pode estar	Associado a cancro	Infecta células	Vacinação para

	humano (HPV)	latente sem sintomas	oral e orofaríngeo	epiteliais, causa crescimento anormal	HPV, controle regular
Bactéria	<i>Treponema denticola</i>	Encontrado em pequenas quantidades na cavidade oral saudável	Associação com doença periodontal	Produz enzimas que degradam o tecido do hospedeiro	Antibióticos, higienização profissional
Fungo	<i>Aspergillus</i> spp.	Raramente patogênico em indivíduos saudáveis	Pode causar aspergilose oral em paciente imunodeprimidos	Invade tecido oral, forma lesões dolorosas	Tratamento antifúngico, melhorar a imunidade

Entre estes microrganismos, *Streptococcus mutans* é um dos patógenos oportunistas mais estudados, dada a sua capacidade de fermentar açúcares levando à produção de ácidos e de promover a desmineralização do esmalte e da dentina, relacionando-se, assim, de forma central com a etiologia da cárie dentária (Chandra Nayak et al., 2025a; Wade, 2013). Na Figura 4 podemos observar os principais patógenos orais implicados nas doenças sistêmicas.

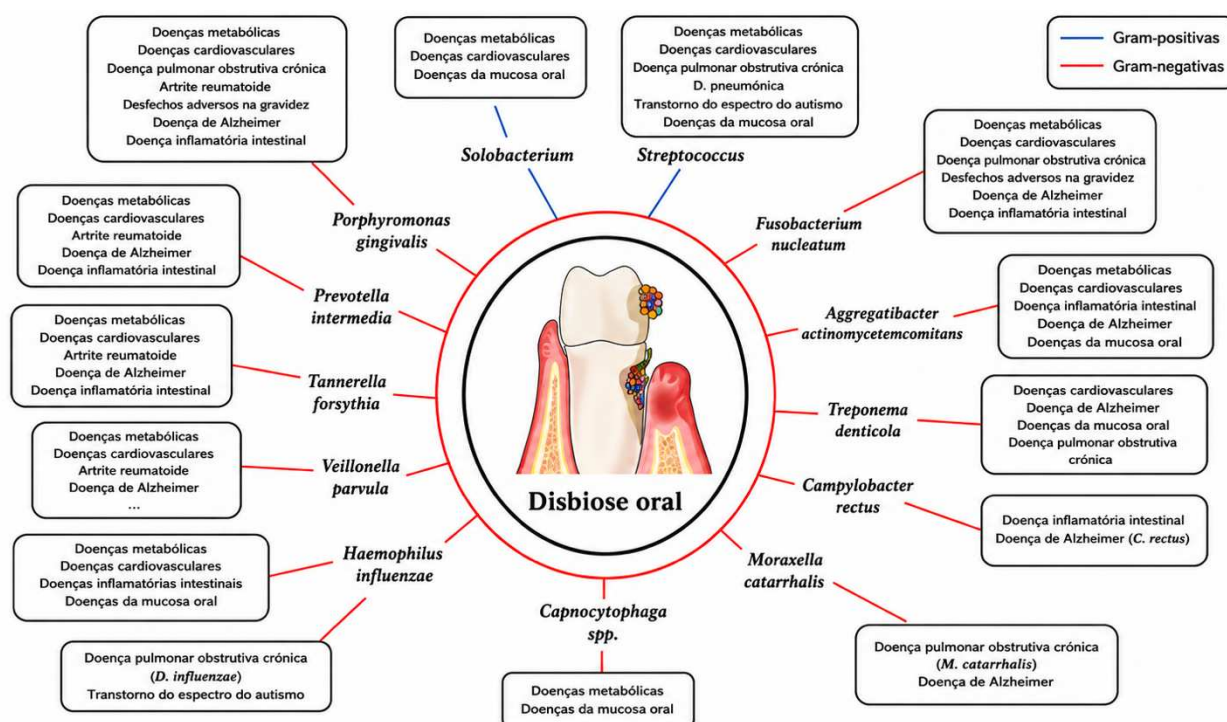


Figura 4: Principais patógenos orais implicados nas doenças sistêmicas. Figura adaptada de (Thomas et al., 2021). (Figura elaborada com recurso ao ChatGPT)

As espécies bacterianas denominadas generalistas retiram poucos benefícios associados ao hospedeiro e conseguem colonizar uma ampla diversidade de habitats, enquanto as espécies especializadas se encontram restritas a uma gama limitada de ambientes (Kumar & Mason, 2015). Além disso, algumas generalistas apresentam subtipos adaptados a nichos específicos (Barboza-Solís & Acuña-Amador, 2020; Kumar & Mason, 2015). Por exemplo, o género *Streptococcus*, um generalista conhecido, tem espécies especializadas na língua, como *S. salivarius* e *S. parasanguinis*, e *S. sanguinis* e *S. gordonii* na placa dentária. Outras espécies são generalistas “verdadeiras”, por exemplo, *Porphyromonas gingivalis* está presente em todos os nichos orais testados (Mark Welch et al., 2019). No entanto, este parece ser um caso único, em vez de uma regra geral, e a principal conclusão é que a maioria dos microrganismos orais manifesta fortes preferências por habitats específicos dentro da boca (Mark Welch et al., 2019). Como resultado da sua especialização, quando as bactérias estão fora do seu nicho preferido, o seu crescimento é reduzido e a sua

expressão genética é alterada (Barboza-Solís & Acuña-Amador, 2020; Mark Welch et al., 2019).

Em conjunto, as características da cavidade oral e a respectiva microbiota residente podem ser utilizadas para compreender melhor cada comunidade associada aos compartimentos da boca (Barboza-Solís & Acuña-Amador, 2020; Mark Welch et al., 2019; Palmer, 2014) .

A variação na microbiota é importante, mas há menos variabilidade na microbiota dos mesmos locais anatómicos entre indivíduos diferentes do que na microbiota de locais diferentes na mesma pessoa (Do et al., 2013; Perera et al., 2016) .

A colonização das superfícies orais não é um processo aleatório, uma vez que as espécies bacterianas são seleccionadas de acordo com as suas propriedades de adesão, resultando numa colonização bem-sucedida quando conseguem crescer nesse nicho específico . As bactérias presentes na boca podem atingir todas as superfícies (dentes e diferentes tipos de mucosa), graças ao fluxo de saliva. No entanto, as características dos diferentes tecidos determinam quais as espécies capazes de aderir e colonizá-los (Kumar & Mason, 2015; Rosier et al., 2018).

2.1.2 Microbioma oral saudável vs. disbiótico

Em condições saudáveis, o microbioma oral prospera numa relação comensal favorável com o seu ambiente. No entanto, em determinadas circunstâncias, certos microrganismos oportunistas presentes no microbioma oral podem sofrer uma alteração, passando a ser patogénicos e nocivos. Esta transformação pode ter implicações no desenvolvimento de várias doenças orais e sistémicas (Hallang et al., 2021).

O estado disbiótico, no qual a composição e/ou abundância microbiana é alterada e o equilíbrio microecológico entre o hospedeiro e os microrganismos é perturbado, pode levar a doenças orais e até mesmo sistémicas (Li et al., 2022).

Alterações na composição, diversidade e abundância do microbioma oral têm sido associadas a diversas condições patológicas, incluindo diabetes, bacteriemia, endocardite, cancro, doenças autoimunes e parto prematuro, o que evidencia a importância do microbioma oral para além da saúde oral (Fan et al., 2018).

Nesta parceria estreita, o hospedeiro proporciona um ambiente mais estável (por exemplo, temperatura, pH e fontes nutricionais), enquanto a microbiota desempenha papéis importantes na produção de vitaminas e na maturação imunológica da mucosa, bem como outras funções, como atuar como uma barreira à colonização exógena ou modular a resposta imunitária, por exemplo, regulando negativamente respostas pró-inflamatórias indesejadas (Guerra et al., 2018; Kilian, 2018; Marsh, 2018).

Numa cavidade oral saudável, os géneros bacterianos predominantes englobam tanto espécies Gram-positivas como Gram-negativas (Dewhirst et al., 2010; Hansen H Tue et al., 2018; Rajasekaran et al., 2024). No grupo dos cocos Gram-positivos, destacam-se os géneros *Abiotrophia*, *Peptostreptococcus*, *Streptococcus* e *Stomatococcus*, sendo que algumas espécies de *Streptococcus* – como *S. sanguinis* e *S. salivarius* – produzem compostos antimicrobianos que contribuem para a manutenção da saúde oral (Aggarwal et al., 2023; Kumar & Mason, 2015; Rajasekaran et al., 2024). Além destes, os géneros de cocos Gram-negativos *Moraxella*, *Neisseria* e *Veillonella* são habitantes frequentes da cavidade oral saudável, aos quais se juntam numerosos géneros de bacilos Gram-negativos, como *Campylobacter*, *Capnocytophaga* e *Desulfovibrio*, entre outros (Deo & Deshmukh, 2019; Dewhirst et al., 2010; Hansen H Tue et al., 2018; Kumar & Mason, 2015; Rajasekaran et al., 2024). Na Figura 5 podemos observar quais os géneros bacterianos predominantes na cavidade oral saudável.

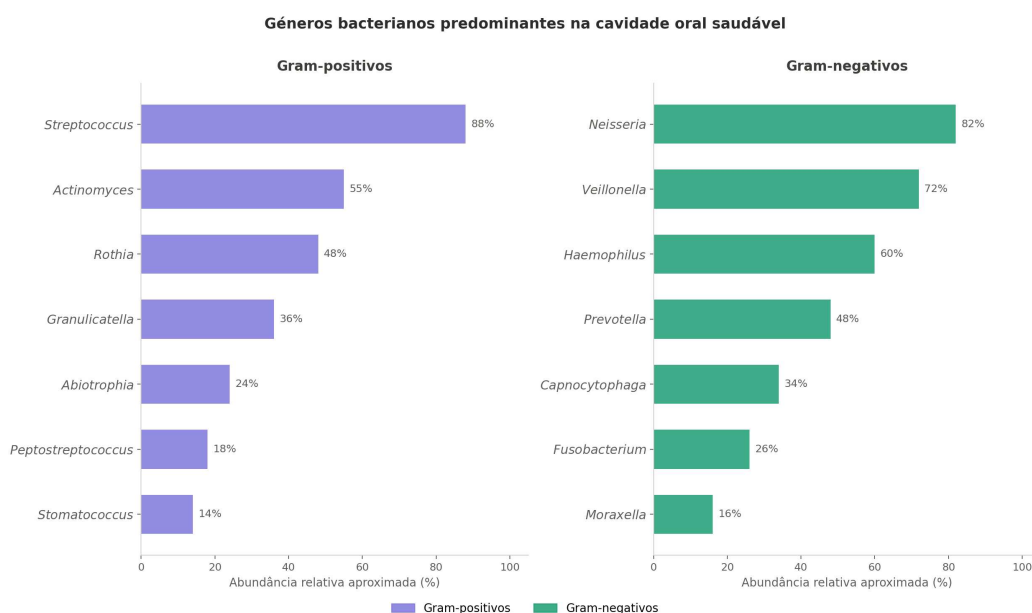


Figura 5: Gêneros bacterianos predominantes na cavidade oral saudável. Abundância relativa aproximada (Dewhirst et al., 2010; Rajasekaran et al., 2024; Tian et al., 2024). (Figura elaborada com recurso ao Claude).

A disbiose pode ser causada por vários fatores, como a dieta, o tabagismo, o consumo de álcool, o estilo de vida e as condições médicas. Esta condição pode resultar em problemas de saúde oral, como cárie dentária, gengivite, periodontite, candidíase oral e halitose (Thomas et al., 2021). Pode também, estender os seus efeitos a várias doenças crónicas sistémicas, levando ao início ou agravamento de condições como doenças metabólicas, doenças cardiovasculares, doenças respiratórias, artrite reumatóide, resultados adversos na gravidez, doenças inflamatórias intestinais, diabetes autoimune, perturbações do espectro do autismo e doenças da mucosa oral (Rajasekaran et al., 2024; Chandra Nayak et al., 2025).

Esta alteração prejudicial no equilíbrio natural da microbiota é uma consequência do crescimento excessivo de patógenos nativos da microbiota residente e não resultado de uma infeção exógena (Kilian et al., 2016).

Portanto, realçar a importância de adoptar boas práticas de higiene oral, uma dieta saudável e um estilo de vida saudável pode desempenhar um papel fundamental na promoção de um microbioma oral equilibrado (Chandra Nayak et al., 2025; Rajasekaran et al., 2024; Deo & Deshmukh, 2019; Hansen H Tue et al., 2018; Mark Welch et al., 2019; Rajasekaran et al., 2024; Tian et al., 2024)

Um estado de equilíbrio a longo prazo (eubiose) é, portanto, o resultado de todas as interações antagônicas e sinérgicas que determinam a modulação da microbiota oral e contribuem para a sua composição e comportamento. A chave para a saúde oral parece ser, assim, uma microbiota ecologicamente equilibrada e diversificada, que pratica comensalismo e mutualismo com o seu hospedeiro. (Barboza-Solís & Acuña-Amador, 2020). Na Tabela 3 podemos observar as principais diferenças entre microbioma oral saudável e disbiótico.

Tabela 3: Microbioma oral saudável (Eubiose) vs. Disbiótico. Adaptada de (Barboza-Solís & Acuña-Amador, 2020,; Chandra Nayak et al., 2025; Marsh, 2018; Thomas et al., 2021).

Característica	Microbioma saudável	Microbioma Disbiótico
Relação com hospedeiro	Simbiose e mutualismo; o hospedeiro fornece nichos e nutrientes, a microbiota protege contra patógenos	Patobioma; desequilíbrio funcional e taxonômico que causa danos aos tecidos
Diversidade e estabilidade	Elevada diversidade alfa; resiliência (resistência e recuperação)	Diminuição da diversidade microbiana; transição para estados alternativos estáveis de doença
Composição taxonômica	Predomínio de Gram-positivos (<i>Streptococcus</i> , <i>Actinomyces</i>); filos Bacillota e Actinomycetota	Crescimento excessivo de patógenos residentes; transição para anaerobiose (ex: <i>Prevotella</i>)
Funcionalidade	Redundância funcional (ex: redução	Produção de endotoxinas, enzimas

		de nitratos para a saúde vascular).	líticas e metabolitos citotóxicos
Principais associados	Taxa	<i>Streptococcus salivarius</i> , <i>S. gordonii</i> , <i>Rothia</i> , <i>Neisseria</i>	<i>Porphyromonas gingivalis</i> , <i>Treponema denticola</i> , <i>S. mutans</i> , <i>Candida albicans</i>

Além disso, a microbiota oral é considerada relativamente estável ao longo do tempo, embora possa sofrer alterações transitórias na sua composição em resposta a fatores de stress externos, como a utilização de antibióticos (Baker et al., 2017; Barboza-Solís & Acuña-Amador, 2020). Esta estabilidade está associada ao conceito de resiliência, que engloba dois componentes principais: a resistência, correspondente à capacidade da comunidade microbiana suportar perturbações, e a recuperação, isto é, a capacidade de retornar ao estado original após essas perturbações. De forma geral, a resiliência corresponde à capacidade de uma comunidade manter a sua estrutura e funcionalidade perante alterações ambientais, sem transitar para um estado alternativo (Barboza-Solís & Acuña-Amador, 2020; Rosier et al., 2018)

2.2 Fatores moduladores do microbioma oral

A composição da microbiota oral é dinâmica e sofre alterações ao longo das diferentes fases de desenvolvimento, desde o nascimento até à idade adulta (Chandra Nayak et al., 2025).

A composição da microbiota é influenciada por vários fatores, nomeadamente a idade, os hábitos alimentares, o consumo de álcool e tabaco, o estatuto social, a toma de medicamentos (por exemplo antibióticos), a exposição a substâncias tóxicas, a gravidez e a predisposição genética (Santacroce et al., 2023).

O uso de fio dentário e, por conseguinte a limpeza interdental são cruciais, uma vez que a sua ausência está associada a uma maior abundância de

espécies bacterianas ligadas à cárie dentária e à periodontite, como o *Actinomyces naeslundii* e *Fusobacterium nucleatum* (Hallang et al., 2021).

Para além da higiene oral, diversos fatores relacionados com o estilo de vida influenciam igualmente a composição da microbiota oral. Níveis de escolaridade mais elevados e o desempenho de ocupações não manuais — frequentemente associados a um estatuto socioeconómico mais favorável — têm sido relacionados com perfis microbianos orais mais benéficos (Hallang et al., 2021). De forma semelhante, menores níveis de esforço físico laboral e uma alimentação de melhor qualidade parecem contribuir para a modulação da estrutura global da comunidade bacteriana oral (Hallang et al., 2021). Os nutrientes com maior impacto são os açúcares, as gorduras e as vitaminas. Em particular, as fibras, os ácidos gordos de cadeia média, os ácidos gordos monoinsaturados e os ácidos gordos poliinsaturados têm sido há muito tempo associados tanto à diversidade como à estrutura da microbiota (Hansen et al., 2018).

O tabagismo tem um impacto negativo na flora do tecido periodontal, exacerbando a inflamação local, ao passo que o stress, a obesidade e a diabetes mellitus predis põem à disbiose e ao aumento das respostas inflamatórias no periodonto, amplificando ainda mais a patologia sistémica (Chandra Nayak et al., 2025).

Vários estudos demonstram que o microbioma sofre alterações com o envelhecimento, constituindo um alvo promissor para retardar o processo de envelhecimento e promover um envelhecimento saudável (Yue et al., 2025; Aggarwal et al., 2023; Deo & Deshmukh, 2019; Hansen H Tue et al., 2018; Kazarina et al., 2023; Rajasekaran et al., 2024; Thomas et al., 2021; Yue et al., 2025).

Adicionalmente, doenças sistémicas comuns no envelhecimento, como a diabetes mellitus e a patologia cardiovascular, apresentam relações bidirecionais com o microbioma oral (Guo et al., 2026). Neste contexto, a disbiose oral pode agravar a inflamação sistémica e, por sua vez, o ambiente metabólico alterado destes doentes reforça o desequilíbrio microbiano, estabelecendo um ciclo vicioso que potencia a progressão de doenças relacionadas com a idade (Fang et al., 2025).

Estudos sobre o eixo oral-intestinal demonstram que os microbiomas da cavidade oral e do intestino estão interligados e que a colonização continua por microrganismos orais, bem como os respectivos metabolitos; e as respostas imunitárias associadas, contribuem para o desenvolvimento de várias doenças sistêmicas relacionadas com a idade (Kitamoto et al., 2020; Rajasekaran et al., 2024; Thomas et al., 2021).

Há fortes indícios de que a disbiose oral pode influenciar a saúde sistêmica (Guo et al., 2026). Esta pode ocorrer através de vários mecanismos, incluindo a disseminação hematogénea de patógenos orais e fatores de virulência, inflamação sistêmica crônica, mimetismo molecular em doenças autoimunes e produtos microbianos (Figura 6) (Guo et al., 2026).

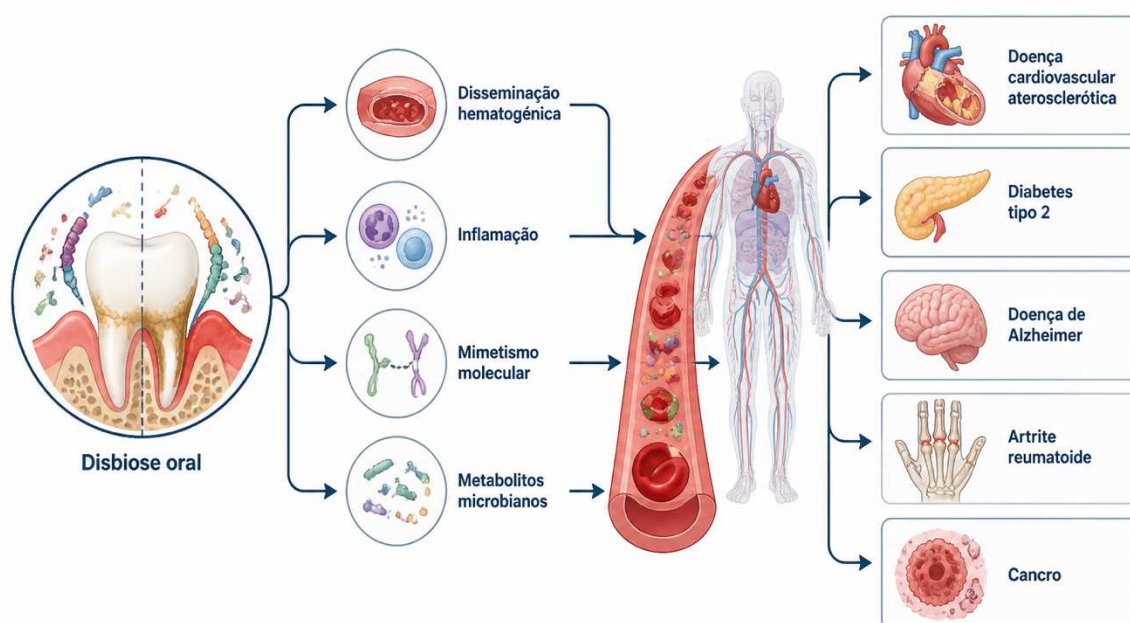


Figura 6 - Associação entre alterações do microbioma oral e doenças cardiovasculares ateroscleróticas, diabetes mellitus tipo 2, doença de Alzheimer, artrite reumatóide e cânceres gastrointestinais. Adaptado de Guo et al. (2026). (Imagem elaborada com recurso a ChatGPT)

Na doença periodontal, as superfícies epiteliais ulceradas, funcionam como uma porta de entrada crônica que permite a entrada na circulação sistêmica de

microrganismos orais e dos respetivos subprodutos inflamatórios, influenciando assim sistemas orgânicos distantes (Guo et al., 2026).

Vários tipos de fármacos (como antibióticos, inibidores da bomba de protões, anti-histamínicos, diuréticos e imunossupressores) são identificados como causadores de disbiose, pois alteram o fluxo salivar, modificam o eixo oral-intestinal e favorecem a translocação de microrganismos orais ao longo do trato digestivo, contribuindo para a inflamação crónica e para uma maior suscetibilidade a infeções (Hu et al., 2025).

A utilização indiscriminada de antibióticos de largo espectro elimina tanto bactérias benéficas como patogénicas, favorecendo o crescimento de microrganismos oportunistas, como por exemplo *Candida albicans* (Chandra Nayak et al., 2025; Chen & Jiang, 2014). Da mesma forma, fármacos como antihistamínicos e diuréticos reduzem o fluxo salivar, alterando o ambiente fisiológico da cavidade oral e, conseqüentemente, a composição microbiana local (Carrizales-Sepúlveda et al., 2018).

Por outro lado, os antiácidos e os inibidores da bomba de protões diminuem a acidez gástrica, o que favorece a sobrevivência de microrganismos e aumenta o risco de proliferação patogénica (Atarashi et al., 2017; Rajasekaran et al., 2024; X. Zhang et al., 2024). Por último, os imunossupressores, ao reduzirem a resposta imunitária do hospedeiro, dificultam o controlo do crescimento microbiano, potenciando a ocorrência de infeções e a translocação de patógenos entre diferentes áreas do organismo (Chandra Nayak et al., 2025).

2.3 Interações ecológicas, biofilme e homeostase oral

2.3.1 Biofilmes, competição, simbiose e sucessão microbiana

Os microrganismos da cavidade oral organizam-se em biofilmes estruturados, que funcionam como ecossistemas complexos nos quais múltiplas espécies interagem física e metabolicamente, contribuindo para a estabilidade e resiliência da comunidade microbiana (Lv et al., 2025).

Os biofilmes dentários desenvolvem-se por fases de colonização, e a sua diversidade vai aumentando com o tempo (Barboza-Solís & Acuña-Amador, 2020). Os primeiros colonizadores fixam-se à superfície dentária através das suas fímbrias, não diretamente, mas através da ligação à película adquirida formada por glicoproteínas salivares do hospedeiro e que reveste as superfícies dos dentes. Em seguida, modificam o ambiente, permitindo que outras espécies se fixem e se estabeleçam posteriormente (Lv et al., 2025; Marsh, 2018; Palmer, 2014). Inicialmente, são frequentes as interações de coagregação entre bactérias de diferentes géneros, nomeadamente *Streptococcus*, *Actinomyces* e *Veillonella*. No caso de *Streptococcus* spp., essas interações também podem ocorrer entre membros do mesmo género (Palmer, 2014). Posteriormente, *Fusobacterium* e outros colonizadores secundários interagem com esses colonizadores iniciais. Estes colonizadores secundários desempenham um papel positivo na manutenção da saúde oral, estabelecendo uma interdependência complexa entre os seus membros e contribuindo para a preservação da resiliência do biofilme (Marsh, 2018). Estas comunidades estabelecem simultaneamente relações cooperativas, como a coagregação, a partilha de metabolitos e a sinalização intercelular, bem como interações competitivas, que incluem a produção de substâncias inibitórias e a disputa por nichos e nutrientes, e que em conjunto sustentam a homeostase oral em condições de saúde (Lv et al., 2025). Se a higiene oral for negligenciada, as bactérias passam, posteriormente, a reconhecer e a ligar-se aos recetores de polissacarídeos e proteínas presentes nos primeiros colonizadores. Como resultado, forma-se um biofilme subgengival maduro, também designado por placa subgengival, composto por cerca de 5 a 25% de células bacterianas e 75 a 95% de matriz (Huang et al., 2011).

Evidências recentes reforçam a ideia de que, em equilíbrio, os biofilmes orais desempenham um papel protetor, ao modularem a resposta imunitária local e atuarem como barreira contra microrganismos patogénicos (Lv et al., 2025). Por outro lado, alterações sustentadas nestas interações ecológicas podem comprometer a homeostase e aumentar o risco de cárie dentária, doença periodontal e possíveis repercussões sistémicas (Nagi et al., 2023).

Inicialmente, a homeostase oral é mantida, sendo os filos Bacilota e Actinomycetota predominantes. Contudo, com o passar do tempo, a acumulação de metabolitos citotóxicos, como endotoxinas e enzimas líticas, difunde-se para os tecidos gengivais, induzindo irritação e inflamação. Esta resposta imunológica do hospedeiro conduz ao aprofundamento dos sulcos periodontais e ao aumento da secreção e do fluxo do fluido gengival crevicular (Duran-Pinedo & Frias-Lopez, 2015; Takahashi, 2015). Este ultrafiltrado sérico, rico em proteínas, favorece o crescimento de bactérias proteolíticas, como os gêneros *Fusobacterium* e *Prevotella* (Takahashi, 2015). O gênero *Prevotella* desempenha um papel determinante na transição da placa supragengival inicial, predominantemente aeróbia e facultativa, para a fisiologia anaeróbia característica da placa madura e subgengival (Palmer, 2014).

Este é apenas o primeiro passo no estabelecimento de uma microbiota complexa e altamente diversificada na bolsa subgengival (Patini et al., 2018).

2.3.2 Comunicação microbiana (*quorum sensing*) e estabilidade ecológica

O *quorum sensing* (QS) é um mecanismo de sinalização celular que permite às bactérias monitorizar a densidade populacional e coordenar o comportamento coletivo através da produção e detecção de moléculas sinalizadoras (QSM) (Nagi et al., 2023). Na cavidade oral, este mecanismo permite às bactérias ajustar a expressão genética e o comportamento coletivo de acordo com a densidade da população circundante (Nagi et al., 2023). Trata-se de um mecanismo fundamental para a comunicação microbiana, com um papel crucial na regulação das interações microbianas e na manutenção da estrutura das comunidades (Zhang et al., 2026).

A comunicação dependente da densidade celular baseia-se na síntese de pequenas moléculas sinalizadoras difusíveis, denominadas autoindutores, cujas concentrações locais desencadeiam respostas ao se ligarem aos respetivos reguladores de transcrição (Armes et al., 2025).

A estabilidade de um ecossistema microbiano é frequentemente interpretada à luz da teoria de May, segundo a qual os ecossistemas grandes e complexos apenas se mantêm estáveis até atingirem um nível crítico de complexidade (Lv et al., 2025). Por conseguinte, existe uma relação de troca entre o número de espécies residentes e a intensidade das suas interações. As comunidades com muitas espécies tendem a apresentar interações mais fracas para preservar a estabilidade, ao passo que as comunidades mais pequenas podem suportar interações mais fortes. Neste contexto, o QS atua como um regulador dessas interações, influenciando a conectividade efetiva da rede microbiana ao determinar como a abundância de uma espécie responde à presença de outras (Yonatan et al., 2021).

A interrupção da sinalização, através de enzimas como a lactonase, altera significativamente a abundância relativa dos membros dominantes, sem eliminar a presença das espécies na comunidade (Zhao et al., 2025). Isto sugere que a composição das espécies num microbioma pode ser estável, ao passo que o equilíbrio metabólico é dinâmico e mediado pelo QS. O QS controla também a produção de metabolitos secundários, como as fenazinas, que medeiam comportamentos antagónicos e competitivos. A inativação do QS reduz a inibição entre espécies, permitindo que os membros menos competitivos prosperem e alterem a dinâmica sucessória do ecossistema (Armes et al., 2025).

O microbioma oral contribui para a manutenção de um ecossistema equilibrado, sendo o QS essencial na coordenação do comportamento bacteriano e na formação de comunidades funcionais complexas. No entanto, moléculas sinalizadoras podem favorecer a transição de um estado mutualista para um estado patológico associado à disbiose, às alterações nas proporções populacionais e ao aumento da expressão de fatores de virulência (Lv et al., 2025; Polizzi et al., 2022; B. Zhang et al., 2026; Zhao et al., 2025). Além disso, a comunicação mediada por QS estende-se ao organismo hospedeiro, cujas células detetam sinais bacterianos através de receptores, desencadeando respostas imunitárias inatas que procuram restaurar a estabilidade ecológica local e limitar a progressão da doença (Nagi et al., 2023).

O QS surge, assim, como um alvo terapêutico promissor para restaurar o equilíbrio microbiano em patologias como a periodontite, ao interferir na

comunicação interbacteriana sem eliminar diretamente as bactérias, mas comprometendo a sua capacidade de coordenação e expressão patogénica (Zhao et al., 2025).

3. SALIVA COMO MATRIZ BIOLÓGICA

A saliva é reconhecida como um fluido biológico versátil e informativo, frequentemente descrito como o "espelho do corpo" por refletir o estado fisiológico e patológico do organismo (Nonaka & Wong, 2022).

Considerada uma excreção exócrina única e um fluido biológico extremamente complexo, composto por centenas de proteínas e milhares de sequências de péptidos (Zhou & Liu, 2023). Embora frequentemente negligenciada, a sua importância clínica tem vindo a crescer significativamente, na medida em que constitui uma ferramenta de diagnóstico não invasiva, de baixo custo e cuja recolha é fácil, capaz de refletir estados fisiológicos e patológicos, tanto orais como sistémicos (Basilicata et al., 2023c). Além dos fluidos glandulares, a saliva na cavidade oral funciona como um "reservatório" ou "impressão digital", contendo microrganismos, células epiteliais de descamação, infiltrados celulares e fluidos provenientes do exsudado plasmático (Basilicata et al., 2023). A Figura 7 esquematiza os componentes da saliva (Shinde et al., 2024).

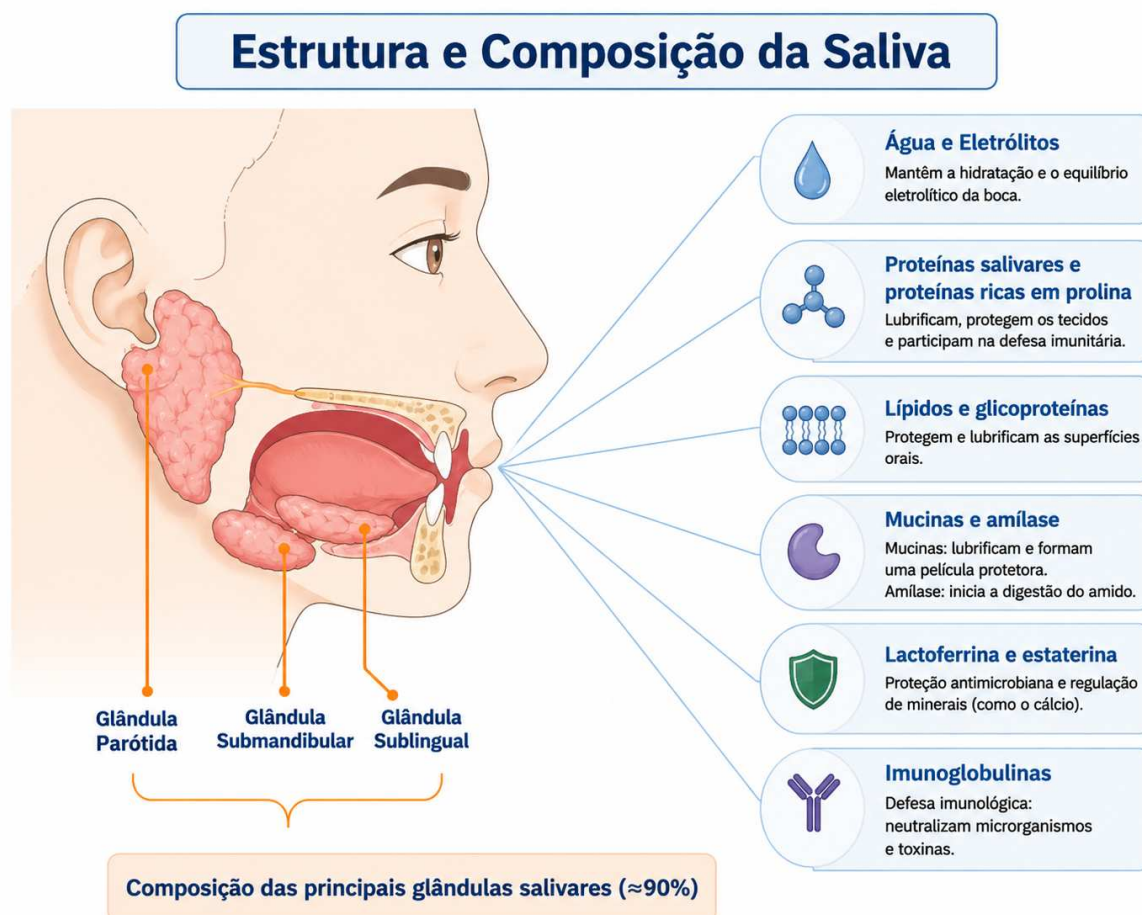


Figura 7: Estrutura e composição da saliva. Figura adaptada de (Shinde et al., 2024).
(Imagem elaborada com recurso ao ChatGTP).

3.1 Composição e funções fisiológicas da saliva

A saliva é o produto da secreção de três pares de glândulas salivares maiores (parótidas, submandibulares e sublinguais) e de centenas de glândulas menores localizadas por toda a mucosa oral (Zhou & Liu, 2023). A sua produção é regulada pelos sistemas nervosos simpático e parassimpático, sendo que um adulto saudável produz entre 500 mL a 1500 mL por dia (Basilicata et al., 2023a; Song et al., 2023; Zhou & Liu, 2023)

Quimicamente, a saliva é um fluido hipotônico composto por 99% de água e apenas 1% de componentes orgânicos e inorgânicos (Basilicata et al., 2023a; Zhou & Liu, 2023). As suas funções fisiológicas são vitais e abrangem desde a

proteção imunológica e lubrificação de tecidos até ao início da digestão e percepção do paladar (Basilicata et al., 2023).

3.1.1 Componentes orgânicos e inorgânicos (proteínas, enzimas, metabolitos, electrólitos)

A concentração dos componentes salivares pode variar significativamente em função de vários fatores, nomeadamente o ritmo circadiano, a idade, o estado de hidratação e o tipo de estímulo (saliva estimulada ou não estimulada) (Basilicata et al., 2023c). A sua composição bioquímica é altamente complexa, contendo milhares de sequências de péptidos e centenas de proteínas funcionais (Kumari et al., 2024b).

A saliva contém minerais essenciais, designados por eletrólitos, como o cálcio, o zinco, o magnésio, o sódio, o potássio, o cloreto, o bicarbonato, o fósforo e o fosfato (Song et al., 2023; Zhou & Liu, 2023). Estes eletrólitos desempenham um papel fundamental na manutenção do equilíbrio do pH oral, graças à sua capacidade de tamponamento, particularmente atribuída ao bicarbonato, e contribuem para os processos de remineralização dos tecidos duros do dente (Basilicata et al., 2023c).

A saliva transporta uma ampla variedade de proteínas com funções específicas. Entre as enzimas, destacam-se a α -amilase, que inicia a digestão do amido, a lipase lingual, que participa na digestão de lípidos, a lisozima, as peroxidases e as metaloproteinases de matriz (MMP). Outras proteínas de grande importância incluem a lactoferrina, as mucinas MUC5B e MUC7, as proteínas ricas em prolina (PRPs), a estaterina, as cistatinas e as histatinas (Nonaka & Wong, n.d.; Zhou & Liu, 2023) .

Relativamente aos metabolitos estes incluem substâncias nitrogenadas e outros produtos metabólicos, como ureia, creatinina, ácido úrico, glicose, colesterol, a bilirrubina, o lactato e as aminas. A ureia e a creatinina salivares apresentam uma correlação significativa com os respetivos níveis séricos, podendo ser úteis na monitorização da função renal (Basilicata et al., 2023)

A saliva contém várias imunoglobulinas, sendo a imunoglobulina A secretora (IgA) a principal linha de defesa, acompanhada pela IgG e pela IgM (Song et al., 2023). Estão também presentes citocinas inflamatórias (como IL-1 β , IL-6, IL-8 e TNF- α), péptidos antimicrobianos (AMPs) e hormonas, incluindo cortisol, testosterona e progesterona (Basilicata et al., 2023c; Farnaud et al., 2010).

3.1.2 Funções de protecção, digestão e lubrificação e manutenção da homeostase oral

As diversas classes de moléculas presentes na saliva atuam de forma integrada para garantir a saúde da cavidade oral. Através das IgA, da lisozima e da lactoferrina, que sequestram o ferro necessário ao crescimento bacteriano, a saliva controla a proliferação de agentes patogénicos e contribui para a regulação do microbioma oral (Li et al., 2022; Fábíán et al., 2012). A formação da película adquirida, mediada por proteínas salivares, oferece protecção adicional às superfícies dentárias contra a desmineralização através da supersaturação de cálcio e fosfato (Li et al., 2022; Lynge Pedersen & Belstrøm, 2019).

A saliva também desempenha um papel fundamental na digestão e no paladar, ao solubilizar as substâncias dos alimentos e permitir a percepção dos sabores, ao mesmo tempo que enzimas como a amilase e a lipase iniciam a quebra química dos hidratos de carbono e das gorduras (Basilicata et al., 2023; Kaczor-Urbanowicz et al., 2017). Além disso, as mucinas conferem-lhe viscosidade e elasticidade, que são propriedades essenciais para a lubrificação das mucosas, a protecção contra danos mecânicos e a facilitação da mastigação e da deglutição (Kumari et al., 2024; Song et al., 2023; Y. Zhou & Liu, 2023)

Por fim, a saliva contribui para a manutenção da homeostase oral ao assegurar o equilíbrio mineral dos dentes através do cálcio e do fosfato, o que ajuda a prevenir a cárie dentária. A sua capacidade tampão neutraliza os ácidos produzidos por bactérias acidogénicas, mantendo o pH estável (Basilicata et al., 2023). O fluxo contínuo de saliva promove a limpeza mecânica da cavidade oral,

ao remover detritos alimentares e microrganismos em excesso (Basilicata et al., 2023).

3.2 Métodos e tecnologias de análise salivar

A transição da saliva para uma ferramenta robusta de diagnóstico foi impulsionada pela convergência de tecnologias de alta sensibilidade que permitem a detecção de biomarcadores em baixas concentrações (Nonaka & Wong, 2022; Zhou & Liu, 2023). A aplicação clínica de biossensores e dispositivos *point-of-care* promete revolucionar a monitorização de doenças de forma imediata e personalizada (Kumari et al., 2024; Y. Zhou & Liu, 2023).

3.2.1 Abordagens ómicas: metagenómicas, transcriptómica, proteómica, metabolómica

A evolução das tecnologias analíticas permitiu que a saliva evoluísse de um simples fluido de investigação para uma ferramenta de diagnóstico robusta e clinicamente relevante. O termo salivaómica (em inglês *salivaomics*), introduzido em 2008, reflete o estudo sistemático de vários constituintes "ómicos" na saliva, permitindo identificar alterações moleculares com elevada sensibilidade e precisão (Basilicata et al., 2023; Zhou & Liu, 2023). Esta abordagem multidimensional abrange a genómica, transcriptómica, proteómica, metabolómica e microbiómica, permitindo a identificação precisa de alterações na expressão génica e na concentração de proteínas e pequenas moléculas (Zhou & Liu, 2023).

O avanço das abordagens metagenómicas e das técnicas de sequenciação de nova geração possibilitou uma caracterização pormenorizada das comunidades microbianas orais, revelando a sua composição e função (Fan et al., 2018).

A utilização destas plataformas transformou a saliva numa ferramenta robusta para o diagnóstico precoce e monitorização de doenças, funcionando como um

reflexo em tempo real do estado fisiológico e patológico do indivíduo (Zhou & Liu, 2023).

As tecnologias multiômicas, incluindo metatranscriptômica, metaproteômica e metabolômica, fornecem informação detalhada sobre as atividades microbianas no ambiente (Berg et al., 2020). Com base neste conjunto de dados, têm sido propostos biomarcadores microbiológicos com potencial para o diagnóstico precoce e a estratificação de risco de doenças orais e sistêmicas (Fan et al., 2018).

No âmbito da metagenômica e microbiômica, a análise foca-se no conjunto total de genes e microrganismos presentes na cavidade oral, sendo que cerca de 30% do genoma salivar provém da microbiota (Zhou & Liu, 2023). Através de tecnologias de sequenciação de nova geração (NGS), como sequenciação do gene 16S rRNA para identificação taxonômica, e a metagenômica *shotgun* para avaliar o potencial funcional, é possível caracterizar a diversidade microbiana de forma independente de cultura (Basilicata et al., 2023). Estas técnicas revelaram que a disbiose do microbioma salivar está intrinsecamente ligada a patologias orais e sistêmicas, permitindo identificar perfis microbianos específicos associados a cada condição (Zhou & Liu, 2023).

A transcriptômica dedica-se ao estudo de RNAs extracelulares, incluindo mRNA, miRNA, RNA circular e RNA longo não-codificante (Song et al., 2023). O maior desafio nesta área prende-se com a instabilidade do RNA salivar, facilmente fragmentado ou degradado, o que exigiu o desenvolvimento de estratégias de amplificação linear para a validação via microarrays ou RT-qPCR (Zhou & Liu, 2023). Recentemente, a tecnologia de sequenciação profunda, RNA-seq, tornou-se a abordagem preferencial devido à sua maior sensibilidade para detetar transcritos de baixa abundância e caracterizar o transcriptoma humano completo, sendo vital na identificação precoce de carcinomas orais e até de cancros distantes, como o pancreático e o mamário (Nonaka & Wong, 2022; Zhou & Liu, 2023).

A proteômica salivar é uma das áreas mais maduras, tendo evoluído drasticamente desde a década de 1980 para permitir a identificação de mais de 3 000 proteínas diferentes na atualidade (Basilicata et al., 2023c). Através da combinação de eletroforese (como 2D-DIGE, que reduz a variabilidade entre

géis) e cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massa (MS), é possível caracterizar não só a abundância proteica, mas também modificações pós-traducionais essenciais, como a glicosilação e a fosforilação (Basilicata et al., 2023; Zhou & Liu, 2023). Estas ferramentas possibilitaram a descoberta de biomarcadores específicos, como a transferrina para o diagnóstico precoce do carcinoma de células escamosas oral e as proteínas S100A8/A9 para a monitorização da periodontite (Basilicata et al., 2023; Y. Zhou & Liu, 2023). Ferramentas de bioinformática, como o AlphaFold, complementaram esta análise ao prever estruturas proteicas com precisão atômica (Zhou & Liu, 2023).

Finalmente, a metabolômica analisa o perfil de pequenas moléculas e metabolitos resultantes de processos bioquímicos celulares, apoiando-se na sinergia entre a ressonância magnética nuclear e a espectrometria de massa (Zhou & Liu, 2023). Enquanto a ressonância magnética nuclear oferece elevada reprodutibilidade, automação e uma natureza não destrutiva para as amostras, a espectrometria de massa providencia uma sensibilidade 10 a 100 vezes superior na deteção de compostos em baixas concentrações (Zhou & Liu, 2023). A aplicação destas técnicas tem permitido estabelecer “impressões digitais” metabólicas que distinguem indivíduos saudáveis de pacientes com cáries dentárias ativas ou neoplasias, através da quantificação de aminoácidos, ácidos orgânicos e compostos voláteis específicos (Zhou & Liu, 2023).

É importante salientar que os investigadores reconhecem atualmente que a composição da comunidade não reflete necessariamente os seus membros metabolicamente ativos e que estão a ser utilizadas novas abordagens de expressão génica para identificar essa fração funcional (Solbiati & Frias-Lopez, 2018; Krishnan et al., 2017).

Compreender a ecologia e a fisiologia da microbiota ajudará a interpretar os dados metagenómicos e metatranscriptómicos (Mark Welch et al., 2016).

3.2.2 Biossensores, nanotecnologia, e plataformas *point-of-care*

A convergência entre a biologia molecular e a engenharia tecnológica permitiu o desenvolvimento de ferramentas avançadas que transformam a saliva numa matriz viável para a monitorização contínua da saúde (Kumari et al., 2024; Y. Zhou & Liu, 2023). O advento dos biossensores salivares representa o futuro do diagnóstico, especialmente através de dispositivos *point-of-care* (POC), que eliminam a necessidade de deslocação física dos pacientes às unidades hospitalares e permitem a deteção precoce de patologias complexas e sistémicas (Kumari et al., 2024). Um biossensor totalmente desenvolvido consiste, de um modo geral, num biorrecetor, responsável por reconhecer a molécula de interesse, e num transdutor, que converte o biomarcador num sinal numérico ou gráfico legível (Kumari et al., 2024).

No campo da nanotecnologia, a medicina salivar beneficiou significativamente do estudo dos exossomas, que são vesículas extracelulares de escala nanométrica (30 a 100 nm) que funcionam como transportadores de cargas moleculares específicas das células de origem (Nonaka & Wong, 2022). A utilização destas nanovesículas ricas em informação permite reduzir a complexidade inerente à saliva total, facilitando a identificação de biomarcadores que, de outra forma, seriam mascarados por proteínas de elevada abundância (Nonaka & Wong, 2022; Song et al., 2023). Além disso, a nanotecnologia é aplicada no desenvolvimento de nanopartículas que podem destruir paredes celulares bacterianas, desagregar matrizes de biofilmes e libertar agentes terapêuticos em locais específicos e em momentos programados, aumentando a eficácia do tratamento de doenças orais (Li et al., 2022).

As plataformas POC baseadas em saliva apresentam vantagens significativas, nomeadamente a natureza não invasiva e a possibilidade de autocolheita, sendo ideais para pacientes com restrições ou aversão ao uso de agulhas, como crianças, idosos e doentes hemofílicos (Kumari et al., 2024; Nonaka & Wong, 2022). Entre as tecnologias emergentes de maior destaque, encontra-se o EFIRM (*Electric Field-Induced Release and Measurement*), uma plataforma de biópsia líquida baseada em microplacas, capaz de detetar ctDNA contendo mutações no gene EGFR diretamente a partir de saliva e plasma de

doentes com carcinoma pulmonar de células não pequenas (CPNPC), tanto em estádios precoces como avançados, com elevada sensibilidade e sem necessidade de amplificação prévia por PCR convencional. Outros dispositivos POC, como o OFNASET (*Oral fluid Nanosensor Test*), desenvolvido para a deteção de biomarcadores salivares para o cancro oral (Gau & Wong, 2007) e o MyPerioPath® (<https://www.oraldna.com/test/myperiopath/>) para diagnóstico de doenças periodontais, utilizam sistemas microfluídicos e MEMS/NEMS (sistemas micro/nanoeletromecânicos) para medir transcritos, proteínas e eletrólitos de forma rápida (Nonaka & Wong, 2022).

Em suma, o desenvolvimento de biossensores ultrassensíveis, aliado aos avanços em *machine learning* e inteligência artificial, promete minimizar as variabilidades individuais e consolidar a saliva como a “biópsia líquida” do futuro, impulsionando uma medicina mais personalizada, acessível e minimamente invasiva (Armstrong et al., 2021; Nonaka & Wong, 2022; Y. Zhou & Liu, 2023).

3.3 Testes salivares: tipos, aplicações e limitações

3.3.1 Testes microbiológicos, moleculares e bioquímicos

Os métodos de análise salivar dividem-se em diferentes categorias tecnológicas, consoante o alvo biológico em estudo. Os testes microbiológicos baseiam-se nas técnicas independentes da cultura, como as tecnologias de NGS (Basilicata et al., 2023c; Kaczor-Urbanowicz et al., 2017; Y. Zhou & Liu, 2023).

Os testes moleculares focam-se na genómica e na transcriptómica, permitindo a deteção de DNA tumoral circulante (ctDNA) e de mutações somáticas específicas, como as do gene TP53 em carcinomas da cabeça e pescoço (Nonaka & Wong, 2022). A análise de RNAs extracelulares, incluindo mRNA e miRNA, frequentemente protegidos em exossomas, fornece uma visão em tempo real da expressão génica sistémica (Nonaka & Wong, 2022; Song et al., 2023).

Os testes bioquímicos, que têm como objetivo monitorizar processos inflamatórios e metabólicos, envolvem a quantificação de proteínas, enzimas, metabolitos e eletrólitos (Kaczor-Urbanowicz et al., 2017). O ensaio ELISA é considerado o *gold standard* para a detecção de antígenos e citocinas inflamatórias, como a IL-6 e o TNF- α (Dongiovanni et al., 2023).

3.3.2 Aplicações clínicas: diagnóstico precoce, monitorização terapêutica, estratificação do risco

A versatilidade dos biomarcadores salivares permite a sua aplicação em diversas áreas da medicina contemporânea, nomeadamente no diagnóstico precoce, que é fundamental para o sucesso do tratamento. Neste âmbito, a saliva é utilizada para detetar cancrois orais e sistémicos, como o da mama e o do pâncreas, e doenças infecciosas, incluindo VIH, hepatite C e Covid-19 (Kaczor-Urbanowicz et al., 2017; Koopaie et al., 2022; Shinde et al., 2024; Song et al., 2023). A presença de anticorpos específicos e antígenos virais na saliva possibilita a realização de rastreios rápidos e seguros (Basilicata et al., 2023; Kaczor-Urbanowicz et al., 2017).

A natureza não invasiva da saliva facilita a recolha de amostras em série, essencial para monitorizar a resposta ao tratamento em tempo real, por exemplo, no caso da doença renal crónica, através dos níveis de ureia e creatinina (Basilicata et al., 2023; Zhou & Liu, 2023). Na medicina desportiva, a monitorização de hormonas, como o cortisol e a testosterona, auxilia na avaliação do estado fisiológico e na monitorização da recuperação dos atletas (Ferreira et al., 2024).

A estratificação do risco permite avaliar a suscetibilidade individual a patologias, como o risco de cárie dentária, através da análise do fluxo salivar e do pH, ou o risco de reabsorção radicular durante tratamentos ortodônticos (Kaczor-Urbanowicz et al., 2017; Zhou & Liu, 2023).

3.3.3 Limitações atuais e desafios analíticos (pré-analítica, variabilidade, sensibilidade)

Apesar do progresso alcançado, a implementação bem-sucedida do diagnóstico salivar na prática clínica enfrenta obstáculos significativos que se manifestam desde a recolha da amostra até à interpretação final dos dados. A fase pré-analítica constitui um dos maiores desafios, dado que a composição da saliva é profundamente influenciada pelo método de obtenção (Kumari et al., 2024a). A utilização de saliva estimulada, por exemplo, através da mastigação de pastilhas elásticas ou de substâncias ácidas, pode aumentar em mais de três vezes a expressão de certas biomoléculas, em comparação com a saliva não estimulada, alterando simultaneamente a concentração de eletrólitos e o perfil proteico (Armstrong et al., 2021; Kumari et al., 2024a).

A elevada viscosidade da saliva bruta pode também obstruir sistemas microfluídicos, tornando necessário o recurso a pré-tratamentos que podem correr o risco de remover involuntariamente as moléculas alvo (Dongiovanni et al., 2023)

Adicionalmente, a utilização de dispositivos de recolha, como zaragatoas, pode originar vieses analíticos, pois por um lado, o algodão pode adsorver mucinas e esteroides, alterando a taxa de recuperação dos componentes (Zhou & Liu, 2023). Por outro lado, os pacientes devem realizar uma higiene prévia da cavidade oral apenas com água, a fim de evitar a contaminação por detritos alimentares ou outros agentes externos (Kumari et al., 2024a).

A preservação da integridade da amostra após a recolha é outra barreira crítica, particularmente em estudos do microbioma. Estudos demonstram que a ausência de conservantes químicos pode provocar a degradação do DNA bacteriano e o crescimento desproporcionado de determinadas espécies durante o transporte (Armstrong et al., 2021). A ausência de protocolos de conservação uniformes, como a utilização de inibidores de proteases e armazenamento a -80°C, pode provocar a degradação imediata de moléculas lábeis (Nonaka & Wong, 2022; Y. Zhou & Liu, 2023).

Para o estudo do microbioma salivar, de forma geral, há necessidade de adicionar à saliva estabilizadores de DNA para assegurar medições mais consistentes da diversidade microbiana ao longo do tempo (Armstrong et al., 2021). Há também a necessidade de fazer um pré-processamento técnico, que implica a aplicação de métodos de remoção de DNA humano. Esta abordagem é fundamental para aumentar a profundidade das leituras bacterianas em análises de sequenciação metagenômica, uma vez que a saliva contém naturalmente elevadas quantidades de material genético do hospedeiro, tornando as análises diretas mais dispendiosas e tecnicamente desafiantes (Armstrong et al., 2021).

Para além das questões técnicas, a variabilidade biológica intrínseca da saliva dificulta a criação de padrões universais. A composição da saliva é afetada pelos ritmos circadianos, idade, dieta, raça, tabagismo e estado de higiene oral do indivíduo (Nonaka & Wong, 2022; Shinde et al., 2024; Y. Zhou & Liu, 2023). Por exemplo, o consumo de hidratos de carbono fermentados provoca uma descida rápida do pH oral, ativando mecanismos de compensação que alteram temporariamente a presença de péptidos e enzimas (Kumari et al., 2024a; Shinde et al., 2024). Inflamações locais ou detritos alimentares podem gerar “ruído” nos dados, ocultando sinais provenientes de órgãos distantes e dificultando a definição de intervalos de referência universais (Dongiovanni et al., 2023; Nonaka & Wong, 2022). Além disso, muitos componentes salivares seguem ritmos circadianos rigorosos ou respondem a estados hormonais e de stress, pelo que é necessário que as colheitas sejam rigorosamente padronizadas em termos de horário, a fim de garantir a comparabilidade dos resultados (Kumari et al., 2024; Shinde et al., 2024).

A presença de patologias orais, como a periodontite, introduz uma camada adicional de confusão, uma vez que estas condições alteram drasticamente os níveis de marcadores inflamatórios e o perfil microbiano, podendo mascarar sinais de doenças sistémicas (Shinde et al., 2024).

No que diz respeito à sensibilidade analítica, a principal limitação reside no fato de muitos biomarcadores sistémicos estarem presentes na saliva em concentrações significativamente mais baixas às encontradas no soro sanguíneo, exigindo tecnologias de deteção ultrassensíveis capazes de operar

em ambientes quimicamente complexos e variáveis (Dongiovanni et al., 2023; Kumari et al., 2024; Nonaka & Wong, 2022; Shinde et al., 2024).

Mesmo em tecnologias avançadas, como a sequenciação do gene 16S rRNA, existem riscos de enviesamento durante a amplificação por PCR, que podem ocultar a real abundância de determinadas bactérias (Shinde et al., 2024).

Por fim, os POC enfrentam desafios de estabilidade ambiental, uma vez que os biossensores baseados em smartphones, por exemplo, podem ter a sua precisão comprometida por variações na iluminação ambiente durante a detecção colorimétrica de analitos, como a ureia (Kumari et al., 2024a).

A superação destas limitações exigirá não só a padronização global dos protocolos de recolha de amostras de saliva, como também a integração de tecnologias de inteligência artificial e *machine learning* (Kumari et al., 2024; Patil et al., 2022). Estas ferramentas são fundamentais para processar grandes volumes de dados e anular as variabilidades individuais referidas, possibilitando uma correlação mais precisa entre os biomarcadores salivares e o estado de saúde real do paciente (Kumari et al., 2024; Paluszkiewicz et al., 2020).

3.4 Kits salivares comerciais

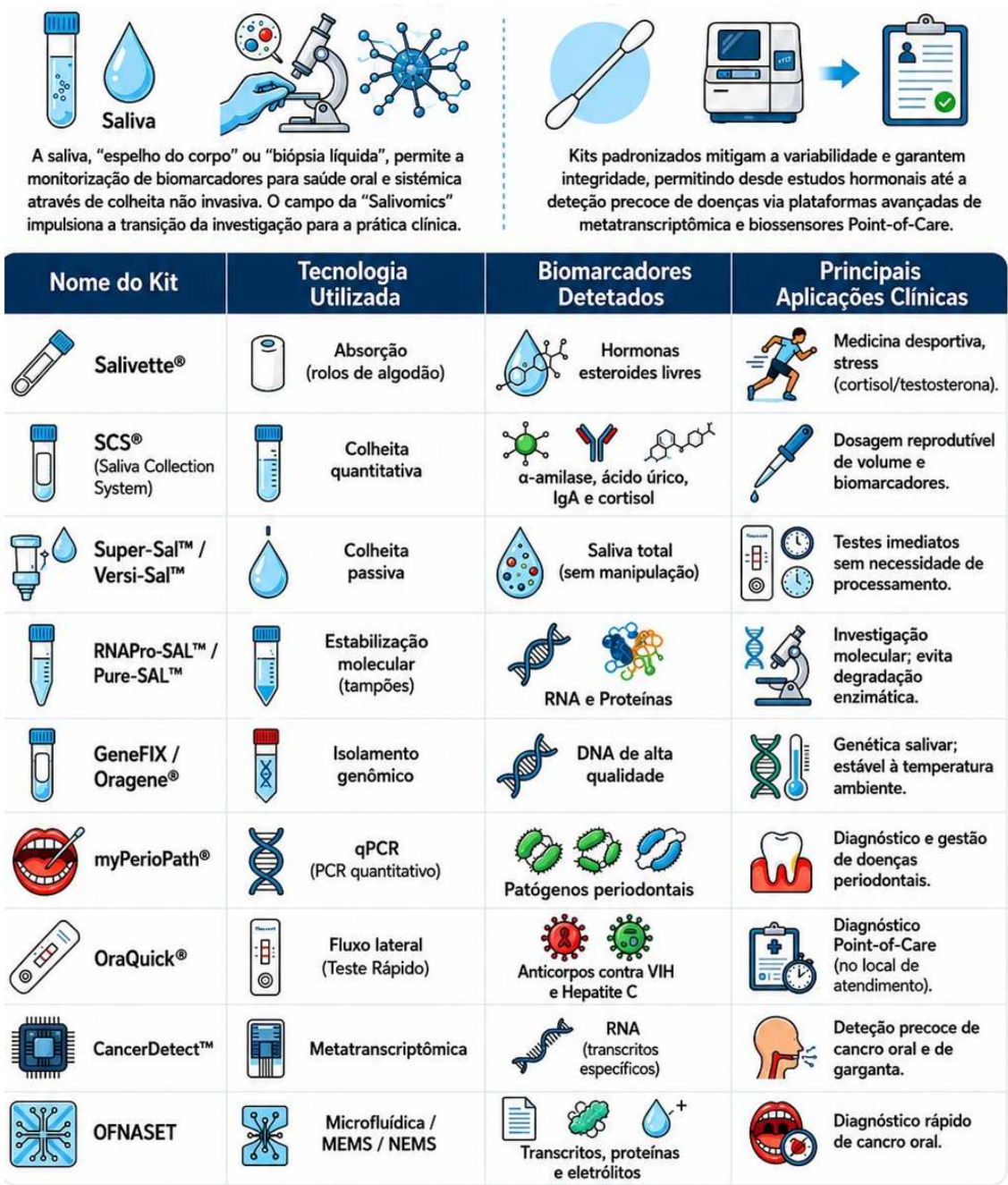
A transição da saliva para a prática clínica e laboratorial foi impulsionada pelo desenvolvimento de dispositivos de recolha e análise padronizados, que visam mitigar a variabilidade inerente a este fluido biológico (Paqué et al., 2020b; Y. Zhou & Liu, 2023). Estes sistemas facilitam a obtenção de amostras de elevada qualidade e rendimento, o que permite identificar biomarcadores com uma precisão cada vez maior (Pittman et al., 2023). A comercialização destes kits foi significativamente acelerada por necessidades de saúde pública recentes, como a pandemia de SARS-CoV-2, tendo levado ao surgimento de diversas plataformas com autorização de utilização de emergência por parte das entidades reguladoras (Pittman et al., 2023). Atualmente, há uma grande variedade de coletores disponíveis no mercado, que vão dos modelos mais simples para o uso doméstico até às plataformas de diagnóstico mais avançadas (Paqué et al., 2020b; Y. Zhou & Liu, 2023).

3.4.1 Principais kits disponíveis: biomarcadores, tecnologia e indicações

O leque de opções tecnológicas dos kits salivares comercialmente disponíveis inclui ferramentas de colheita passiva, dispositivos de absorção e sistemas de diagnóstico imediato. Entre os sistemas de colheita por absorção, o Salivette® (Sarstedt) é amplamente referenciado para a medição de hormonas esteroides livres, como o cortisol e a testosterona, sendo o seu uso comum tanto em medicina desportiva quanto em estudos psicossociais (Farnaud et al., 2010; Ferreira et al., 2024; Zhou & Liu, 2023). Outro dispositivo relevante é o Saliva Collection System (SCS® - Greiner Bio-One), que permite a quantificar com precisão o volume total de saliva colhido e fornecer resultados reprodutíveis na dosagem de α -amilase, ácido úrico, IgA e cortisol (Song et al., 2023; Y. Zhou & Liu, 2023). Para a recolha de saliva total sem manipulação, os sistemas Super-Sal™ e Versi-Sal™ (Oasis Diagnostic) utilizam métodos de recolha passiva que permitem testar a amostra imediatamente, sem ser necessário realizar mais nenhum passo de processamento (Song et al., 2023; Zhou & Liu, 2023).

No domínio da estabilização molecular, foram concebidos dispositivos como o RNAPro-SAL™ e o Pure-SAL™ para isolar e preservar o RNA e as proteínas, minimizando a degradação enzimática através de tampões específicos (Koopae et al., 2022; Song et al., 2023). Para a genética salivar, kits como o GeneFiX e o Oragene® são especializados no isolamento de DNA genómico de elevada qualidade, garantindo a estabilidade da amostra à temperatura ambiente (Pittman et al., 2023; Song et al., 2023). Adicionalmente, existem sistemas de diagnóstico dedicados a patologias específicas, como o MyPerioPath®, que utiliza a tecnologia qPCR para identificar patógenos periodontais, e o OraQuick®, um teste rápido de fluxo lateral que permite detetar anticorpos contra VIH e o vírus da hepatite C no local de atendimento (Lima et al., 2020; Kaczor-Urbanowicz et al., 2017; Kumari et al., 2024a).

Recentemente, o CancerDetect™ recebeu a designação de dispositivo inovador pela FDA para a detecção precoce de cancro oral e de garganta, com base na metatranscriptómica salivar (Banavar et al., 2021; Pittman et al., 2023). Na Figura 8, podemos observar os vários tipos de kits salivares existentes no mercado, a tecnologia utilizada, os biomarcadores detetados e as suas principais aplicações clínicas (Pittman et al., 2023; Song et al., 2023; Zhou & Liu, 2023).



Vantagens e Desafios dos Kits Salivares

Vantagens		Desafios	
	✔ Natureza Não Invasiva e Segura: A autocolheita elimina a ansiedade das agulhas e reduz o risco biológico de infeção cruzada para profissionais.		❗ O Desafio da Concentração (Baixa Abundância): Muitos biomarcadores sistêmicos estão 1000 vezes menos concentrados na saliva do que no sangue, exigindo kits com sensibilidade analítica superior.
	✔ Estabilidade e Logística Simplificada: Kits como GeneFIX e Oragene permitem o armazenamento e transporte de DNA à temperatura ambiente, sem cadeias de frio		❗ Efeito de Adsorção em Dispositivos de Algodão: Dispositivos como o Salivette® podem reter mucinas e esteroides nas fibras de algodão, afetando a taxa de recuperação dos analitos.

Figura 8: Comparação de kits salivares comerciais: tecnologias, biomarcadores detetados e principais aplicações clínicas. Adaptado de (Pittman et al., 2023; Song et al., 2023; Y. Zhou & Liu, 2023). (Imagem elaborada com recurso a ChatGTP.).

3.4.2 Vantagens, limitações e evidência científica

A utilização de kits salivares comerciais apresenta várias vantagens, nomeadamente não são invasivos, são indolores e seguros, o que elimina a ansiedade associada à utilização de agulhas e evita flutuações artificiais em marcadores de stress, como o cortisol (Kaczor-Urbanowicz et al., 2017; Kumari et al., 2024; Lima et al., 2020; Nonaka & Wong, 2022.; Pittman et al., 2023; S. Zhou et al., 2021). A possibilidade de autocolheita pelo próprio paciente facilita o rastreio em massa, a monitorização de populações em áreas remotas e a amostragem seriada para avaliação dos ritmos circadianos (Kaczor-Urbanowicz et al., 2017; Kumari et al., 2024a; Pittman et al., 2023; Y. Zhou & Liu, 2023). A saliva apresenta um menor risco biológico de infeção cruzada para os profissionais de saúde em comparação com o sangue, o que é uma mais-valia (Farnaud et al., 2010; Kumari et al., 2024a; Paluszkiwicz et al., 2020; Y. Zhou & Liu, 2023). Do ponto de vista logístico, a estabilidade de algumas matrizes comerciais permite o seu armazenamento prolongado e o seu transporte simplificado, muitas vezes sem necessidade de recorrer a cadeias de frio complexas (Pittman et al., 2023).

Entre os desafios encontram-se a necessidade de protocolos de recolha padronizados, a variabilidade da composição salivar e a integração destas tecnologias nos fluxos de trabalho clínicos (Surdu et al., 2025).

No entanto, a literatura refere limitações técnicas importantes, como o efeito de adsorção em dispositivos que utilizam rolos de algodão (como certas versões do Salivette®), que podem reter mucinas, esteroides e proteínas, alterando a taxa de recuperação dos analitos (Dongiovanni et al., 2023; Kumari et al., 2024a; Nonaka & Wong, 2022; Song et al., 2023; Y. Zhou & Liu, 2023). A baixa abundância de biomarcadores na saliva – frequentemente 1000 vezes inferior à do soro – exige que os kits possuam uma sensibilidade analítica superior, a fim de evitar resultados falsos-negativos (Nonaka & Wong, 2022; Pittman et al., 2023). Outros desafios incluem o ruído gerado por contaminantes alimentares e

bactérias, bem como a viscosidade da saliva, que pode obstruir os sistemas microfluídicos integrados (Nonaka & Wong, 2022; Pittman et al., 2023; Y. Zhou & Liu, 2023).

A evidência científica sustenta a validade da saliva como matriz diagnóstica, através de estudos que demonstram uma correlação robusta entre os níveis salivares e séricos de analitos, como a glicose, o cortisol e a proteína C-reativa (Basilicata et al., 2023; Dongiovanni et al., 2023; Kumari et al., 2024; Pittman et al., 2023; Song et al., 2023; Y. Zhou & Liu, 2023). Avanços na salivaômica permitiram identificar mais de 3.000 proteínas diferentes, consolidando a saliva como um “espelho do corpo” capaz de refletir estados patológicos sistêmicos (Kaczor-Urbanowicz et al., 2017; Kumari et al., 2024; Y. Zhou & Liu, 2023).

Embora muitos biomarcadores ainda necessitem de validação regulamentar definitiva, a eficácia dos testes rápidos para infecções virais e a descoberta de mutações genéticas específicas através da saliva confirmam o potencial desta matriz para a medicina personalizada e de precisão (Basilicata et al., 2023c; Kaczor-Urbanowicz et al., 2017; Kumari et al., 2024a; Pittman et al., 2023).

4. MICROBIOMA ORAL E BIOMARCADORES SALIVARES COMO FERRAMENTAS DE DIAGNÓSTICO

A saliva constitui um biofluido de crescente relevância diagnóstica, não apenas pela sua riqueza em proteínas, ácidos nucleicos e metabolitos de origem sistêmica, mas também pela informação que encerra sobre o estado do microbioma oral (Kumari et al., 2024a). A composição microbiana da cavidade oral, quando perturbada, reflete-se em alterações qualitativas e quantitativas dos biomarcadores salivares, tornando a saliva num meio privilegiado, para detecção precoce de desequilíbrios locais e sistêmicos (Lamont et al., 2018; Tian et al., 2024). Neste contexto, os biomarcadores salivares englobam uma ampla variedade de moléculas, incluindo proteínas inflamatórias, citocinas, ADN tumoral circulante (ctDNA), RNA mensageiro e metabolitos microbianos, cuja presença e concentração variam em função do estado de saúde ou doença do

indivíduo (Rocha et al., 2022). A detecção e quantificação destes biomarcadores tem sido potenciada pelo desenvolvimento de plataformas de biópsia líquida e sensores eletroquímicos de elevada sensibilidade, que permitem análises moleculares a partir de volumes mínimos de saliva, sem recurso a técnicas invasivas ou complexas (Tu et al., 2020; Wang et al., 2022).

A disbiose oral, para além das suas implicações locais, tem sido associada a um conjunto alargado de doenças sistémicas através de mecanismos de translocação microbiana e disseminação hematogénea, que ligam o microbioma oral a patologias cardiovasculares, neurológicas, metabólicas e oncológicas (Rajasekaran et al., 2024), como se representa na Figura 9.

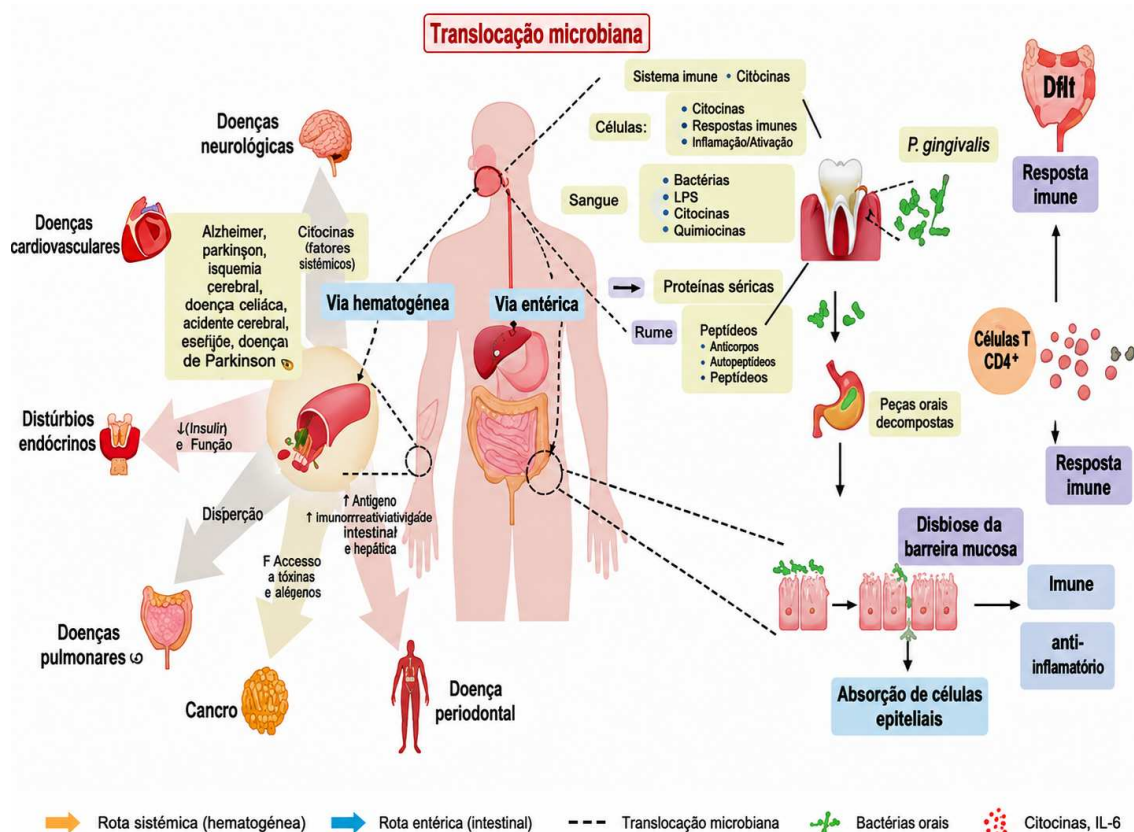


Figura 9: Vias de translocação microbiana: via entérica e hematogénea e respectivas implicações sistémicas. As bactérias orais, como *Porphyromonas gingivalis*, podem disseminar-se pelo organismo através de duas vias distintas. A via hematogénea (esquerda), associada a condições orais como cárie dentária, periodontite, gengivite, e halitose, que podem conduzir ao

desenvolvimento de doenças sistêmicas, incluindo doenças cardiovasculares, perturbações neurológicas, doenças autoimunes, diabetes mellitus, doença inflamatória intestinal e cancro. A via entérica (direta) permite que bactérias orais, nomeadamente *P. gingivalis* (dotada de resistência a antibióticos e capacidade de sobreviver ao pH ácido gástrico) se transloquem do estômago para o intestino, onde alterações na acidez gástrica podem modificar a composição da microbiota intestinal, tornando-a progressivamente semelhante à microbiota oral. Imagem adaptada de (Rajasekaran et al., 2024). (Imagem elaborada com recurso a Gemini)

4.1 Biomarcadores salivares em diagnóstico clínico

O avanço das tecnologias “ómicas” possibilitou a identificação de milhares de biomarcadores que permitem detetar precocemente patologias orais, como a cárie dentária e a periodontite, e patologias sistêmicas, como o cancro, a diabetes e as doenças cardiovasculares, antes mesmo de surgirem sintomas clínicos evidentes (*Lima et al., 2020*; Kumari et al., 2024). Os principais biomarcadores salivares identificados e as suas aplicações clínicas encontram-se sistematizados na Tabela 4 e ilustrados na Figura 10 (Song et al., 2023).

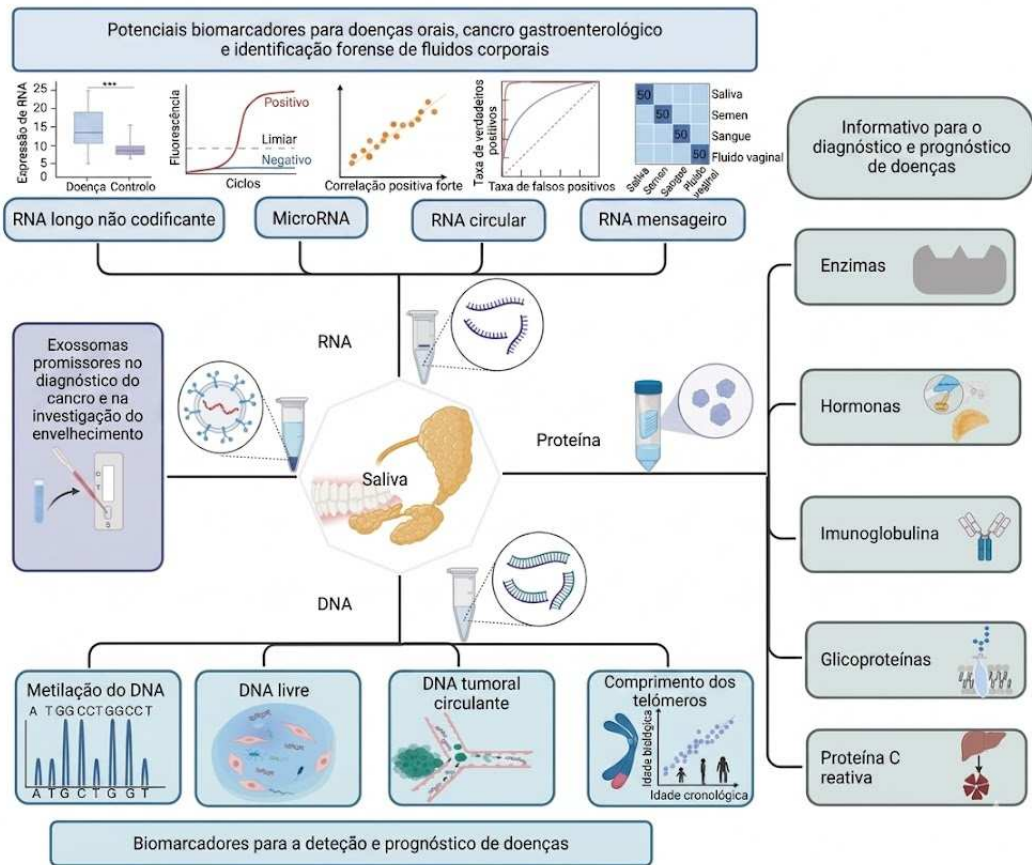


Figura 10: Diferentes tipos de biomarcadores salivares (de DNA, de RNA e proteicos) e Figura adaptada de (Song et al., 2023). (Imagem elaborada com recurso a Gemini)

Tabela 4: Principais biomarcadores salivares e aplicações. (Fang et al., 2025; Kumari et al., 2024a; Nonaka & Wong, 2022; Song et al., 2023).

Categoria	Exemplos de Biomarcadores	Aplicação clínica
Proteínas e enzimas	MMp-8, α -amilase, lisozima, PCR	Diagnostico de periodontite (MMP-8), stress e diabetes (α -amilase), risco cardiovascular (PCR)
Citocinas inflamatórias	IL-1 β , IL-6, IL-8, TNF- α	Monitorização de inflamação crónica,

		artrite reumatoide e lupus
Ácidos nucleicos	DNA7RNA de <i>S. mutans</i> , miRNA-31, ctDNA	Risco de carie, detecção precoce de cancro oral de células escamosas
Metabolitos e hormonas	Cortisol, Glicose, HnA1c, ureia	Avaliação do stress (cortisol), monitorização de diabetes (glicose) e função renal (ureia)
Imunoglobulinas	IgA secretora (slgA), IgG, IgM	Defesa contra caries e diagnostico de hepatites/VIH

4.1.1 Proteínas inflamatórias, citocinas e enzimas

As proteínas e as enzimas salivares constituem uma das categorias mais robustas de biomarcadores para monitorizar a saúde sistémica e a resposta imunitária local. Entre as enzimas salivares, a alfa-amilase salivar (sAA) é amplamente utilizada como indicador de atividade do sistema nervoso simpático e do stress emocional, além de servir como biomarcador para a detecção precoce de cancro oral das células escamosas e para monitorização de pacientes diabéticos (Rocha et al., 2022; Song et al., 2023). A lisozima, devido às suas propriedades antibacterianas e antifúngicas, é também considerada um marcador de stress e de imunidade não específica (Song et al., 2023). A lactoferrina, que priva os microrganismos do ferro (imunidade nutricional), é essencial na defesa inata; sendo que níveis reduzidos de lactoferrina são considerados marcadores precoces da doença de Alzheimer (Humphrey & Williamson, 2001; Shinde et al., 2024; Song et al., 2023). No contexto das doenças periodontais, a metaloproteinase de matriz 8 (MMP-8) destaca-se como um biomarcador crítico, na medida em que indica a degradação do colagénio e a gravidade da inflamação periodontal (Lima et al., 2020; Song et al., 2023).

Adicionalmente, a detecção de pepsina na saliva constitui um indicador sensível de refluxo gastroesofágico, uma vez que a pepsina é uma enzima produzida pelo estômago durante a digestão dos alimentos (Song et al., 2023). Relativamente às citocinas e outros marcadores inflamatórios, a proteína C-reat salivar correlaciona-se significativamente com os níveis séricos, constituindo uma ferramenta útil na avaliação do risco cardiovascular, de enfarte agudo do miocárdio e de sépsis em recém-nascidos (Lima et al., 2020; Fang et al., 2025; Kumari et al., 2024a; Song et al., 2023). Por outro lado, as citocinas pró-inflamatórias, como a IL-1 β , IL-6, IL-8 e TNF- α , são frequentemente encontradas em níveis elevados na saliva de pacientes com periodontite, artrite reumatoide e lúpus eritematoso sistémico, refletindo o estado de inflamação crónica do hospedeiro (Lima et al., 2020; Fang et al., 2025; Kumari et al., 2024a; Rajasekaran et al., 2024). No grupo das imunoglobulinas, a IgA secretora (sIgA) representa a primeira linha de defesa imunológica na cavidade oral, constituindo um marcador importante do risco de cárie e de infeções do trato respiratório superior (Humphrey & Williamson, 2001; Song et al., 2023). Por outro lado, a presença de IgG e IgM, provenientes sobretudo do fluido do sulco gengival, ajuda a diagnosticar patologias virais como VIH-1/2 e as hepatites A,B, e C (Lima et al., 2020; Song et al., 2023).

4.1.2 DNA/RNA microbiano, micro RNAs e outros ácidos nucleicos

A análise de ácidos nucleicos na saliva proporciona uma visão detalhada do genoma humano e do microbioma oral associado. A utilização de técnicas como qPCR e sequenciação de nova geração (NGS) permite identificar e quantificar assinaturas bacterianas específicas. Por exemplo, uma elevada abundância de *Streptococcus mutans* constitui um indicador clássico de risco de cárie dentária, enquanto as bactérias do «complexo vermelho» de Socransky, que inclui espécies como *Porphyromonas gingivalis*, têm sido amplamente utilizadas como biomarcadores de periodontite (Deo & Deshmukh, 2019; Paqué et al., 2020a; Rajasekaran et al., 2024).

A metilação do DNA salivar tem demonstrado um grande potencial para prever a idade biológica e detetar alterações causadas pelo tabagismo ou pela exposição ambiental, constituindo também uma ferramenta promissora no diagnóstico precoce do cancro oral (Lima et al., 2020; Song et al., 2023). No domínio da transcriptómica, a presença de mais de 3000 mRNAs na saliva permite diagnósticos mais precoces do que os baseados em proteínas (Song et al., 2023). Em particular, a expressão elevada dos genes KRAS e o SAT1 está associada à cardiomiopatia diabética (Fang et al., 2025). No que se refere aos RNAs não codificantes, o microRNA (miR-31) destaca-se como um biomarcador altamente sensível e específico para a malignidade oral em todos os estadios clínicos (Lima et al., 2020; Song et al., 2023). Além disso, os RNAs circulantes (circRNAs) e os RNAs longos não codificantes (lncRNAs) como o MALAT1, o HOTAIR e o lnc-PCDH9-13:1, surgem como reguladores celulares e marcadores promissores para cancros orais, pancreáticos e hepáticos (Song et al., 2023). A metilação do DNA salivar é uma ferramenta inovadora para prever a idade biológica e detetar alterações causadas pelo tabagismo ou lesões pré-cancerosas (Lima et al., 2020; Song et al., 2023).

4.1.3 Metabolitos específicos, hormonas e marcadores de stress

O metaboloma e o perfil hormonal salivares fornecem dados em tempo real sobre o metabolismo e o equilíbrio endócrino.

O cortisol salivar é o biomarcador de eleição para avaliar o stress e a atividade do eixo hipotálamo-pituitária-adrenal (HPA), sendo também utilizado para detetar o síndrome de Cushing e monitorizar os sintomas não motores da doença de Parkinson (Lima et al., 2020; Kumari et al., 2024a; Rocha et al., 2022; Song et al., 2023). A melatonina salivar serve de indicador dos ritmos circadianos e de distúrbios depressivos e oncológicos (Song et al., 2023). As hormonas sexuais (testosterona e estrogénio) e a ocitocina também podem ser monitorizadas de forma não invasiva na saliva, refletindo as frações bioativas livres no sangue (Song et al., 2023).

Quanto aos metabolitos, a quantificação de glicose e hemoglobina glicada (HbA1c) na saliva constitui uma alternativa promissora para monitorizar a diabetes mellitus tipo 2 (Fang et al., 2025; Kumari et al., 2024a; Song et al., 2023). Os níveis de ureia e amoníaco podem indicar disfunção renal e desempenhar um papel na modulação do pH oral e no desenvolvimento de cálculos renais (Lima et al., 2020; Humphrey & Williamson, 200; Kumari et al., 2024).

Por fim, a análise metabolómica de compostos voláteis de enxofre é fundamental para o diagnóstico da halitose, ao passo que assinaturas metabolómicas específicas permitem diferenciar estados de saúde e da doença periodontal (Lima et al., 2020; Bostanghadiri et al., 2024; Song et al., 2023).

4.2 Integração de microbioma e biomarcadores (abordagens multiómicas)

A transição para uma medicina de precisão na saúde oral exige uma mudança de paradigma. O microbioma já não é visto apenas como uma assembleia de microrganismos, mas sim como um “teatro de atividade” complexo, que engloba não só elementos estruturais, mas também metabolitos e condições ambientais (Zielińska et al., 2025). As abordagens multiómicas permitem integrar dados da metagenómica, que caracteriza o repertório genético das comunidades microbianas, e da metatranscriptómica, que quantifica os transcritos expressos, fornecendo informação sobre a atividade funcional dessas comunidades (Aggarwal et al., 2023; Baker et al., 2017; Shinde et al., 2024). Esta integração é fundamental, uma vez que, em muitos casos, a assinatura de genes expressos constitui um preditor de doença mais robusto do que a simples presença de espécies bacterianas, refletindo de forma mais direta a atividade funcional das comunidades microbianas (Baker et al., 2017).

Ao integrarem estes diferentes níveis de informação, os investigadores podem construir mapas das interações entre o hospedeiro e a microbiota numa perspetiva sistémica, identificando de que forma os metabolitos microbianos, como os ácidos gordos de cadeia curta, modulam a resposta imunitária local e

sistêmica (Aggarwal et al., 2023). A utilização de amostras de saliva como fonte para estas análises proporciona uma visão holística e dinâmica do estado fisiológico do indivíduo, funcionando como uma "biópsia líquida" que reflete não apenas a saúde oral, mas também alterações fisiopatológicas em órgãos e sistemas distantes (Lima et al., 2020; Fang et al., 2025; Thomas et al., 2021).

4.2.1 Modelos preditivos e diagnóstico precoce baseados em *machine learning*

ML e IA vieram alavancar a bioinformática, tornaram-se ferramentas indispensáveis para facilitar o processamento do vasto volume de dados gerado pelas tecnologias ômicas, permitindo a identificação de padrões e microcaracterísticas que transcendem a capacidade de análise humana (Fang et al., 2025; Patil et al., 2022). A aplicação destas tecnologias está a revolucionar a capacidade diagnóstica em medicina dentária ao permitir a análise de fluxos de dados massivos e heterogêneos (Patil et al., 2022). Os modelos de ML, incluindo Redes Neurais Artificiais (ANN), Redes Neurais Convolucionais (CNN) e o Random Forests, têm demonstrado uma eficácia notável na previsão de doenças antes da manifestação de sintomas clínicos (Blostein et al., 2022; Zielińska et al., 2025; Patil et al., 2022). Por exemplo, modelos baseados em CNN têm sido utilizados para identificar lesões de cárie dentária em radiografias periapicais e imagens de transiluminação infravermelha com precisão superior a 80%, auxiliando na detecção de lesões incipientes que muitas vezes escapam ao exame visual clínico (Patil et al., 2022). Estudos longitudinais revelaram que algoritmos de Random Forests aplicados ao bacterioma salivar podem prever a ocorrência de cárie dentária na infância precoce com 12 meses de antecedência, antes mesmo da detecção de *Streptococcus mutans* (Blostein et al., 2022). Na doença periodontal, os sistemas de IA são utilizados para medir a perda óssea alveolar em radiografias e para classificar os estádios da periodontite com elevada fiabilidade, servindo como ferramentas de vigilância rotineira (Patil et al., 2022).

No campo da oncologia, as redes neurais profundas (*deep learning*) e as máquinas de vetores de suporte (SVM) são utilizadas para classificar lesões pré-cancerígenas e cancerígenas a partir de imagens e perfis moleculares, com taxas de precisão superiores a 96% oferecendo um potencial promissor para o diagnóstico precoce e monitorização de recidivas (Patil et al., 2022). Além disso, estão a ser explorados modelos de ML integrados com dados do microbioma oral para categorizar o risco de doenças cardiovasculares em pacientes diabéticos, demonstrando que a inteligência artificial pode atuar como um sistema e aviso prévio para complicações sistémicas graves (Fang et al., 2025). A utilização de IA possibilita a anulação de variabilidades individuais, tais como a idade e os hábitos alimentares, conferindo aos diagnósticos um carácter mais padronizado e objectivo (Kumari et al., 2024; Patil et al., 2022).

4.2.2 Desafios na integração e interpretação de dados multiómicos

Apesar do seu potencial transformador, a transição destas abordagens para a prática clínica enfrenta obstáculos significativos, sendo a análise bioinformática frequentemente identificada como o principal obstáculo (Berg et al., 2020; Deo & Deshmukh, 2019; Patil et al., 2022). Existe uma falta de protocolos padronizados para a colheita, armazenamento e processamento de amostras de saliva, bem como para a seleção de iniciadores e de fluxos de trabalho bioinformáticos, o que dificulta a comparabilidade entre estudos (Berg et al., 2020; Fang et al., 2025; Perera et al., 2016; Shinde et al., 2024). Além disso, a análise de comunidades microbianas complexas gera volumes massivos de dados, exigindo recursos informáticos de elevado desempenho e colaborações interdisciplinares entre clínicos e especialistas em análise de dados (Berg et al., 2020; Fang et al., 2025; Zaneveld et al., 2008). Adicionalmente, o custo elevado da sequenciação genómica e da manutenção de modelos de ML constitui uma barreira à sua implementação em larga escala (Fang et al., 2025). Paralelamente, o acesso a grandes conjuntos de dados necessários para treinar algoritmos de ML suscita questões críticas sobre a partilha de dados e a confidencialidade dos pacientes, exigindo o cumprimento de regulamentações rigorosas (Patil et al., 2022). A isto acresce a complexidade

biológica do microbioma oral, que é altamente dinâmico e é influenciado por variáveis como a idade, a dieta, a higiene, o tabagismo e o estado sistêmico do hospedeiro, o que dificulta o isolamento do impacto direto de uma patologia específica sem um controlo estatístico rigoroso (Fang et al., 2025; Kumari et al., 2024a; Thomas et al., 2021; Zarco et al., 2012). Acresce ainda que, embora o bacterioma se encontre relativamente bem caracterizado, a composição, diversidade e funções de muitos componentes não bacterianos da microbiota, incluindo vírus, fungos e arqueias, assim como de numerosos metabolitos ainda não identificados, permanecem insuficientemente exploradas (Aggarwal et al., 2023; Baker et al., 2017; Berg et al., 2020; Shinde et al., 2024; Zaneveld et al., 2008).

Em suma, para que o diagnóstico baseado na análise multiômica da saliva se torne uma realidade clínica, são necessários estudos longitudinais em larga escala que validem estes biomarcadores e algoritmos em populações diversas e em diferentes fases da doença (Lima et al., 2020; Fang et al., 2025; Perera et al., 2016; Shinde et al., 2024).

5. MICROBIOMA ORAL E SALIVA COMO ALVOS TERAPÊUTICOS

A saliva não atua apenas como um reservatório de biomarcadores, mas também como um componente ativo que participa na homeostasia oral, graças ao seu poder tampão, aos componentes imunológicos (como as IgA) e às proteínas defensivas (lisozima, lactoferrina e histatinas), que modulam diretamente a vida da comunidade microbiana (Marsh, 2018; Thomas et al., 2021). O objetivo terapêutico contemporâneo consiste em manter ou restaurar a eubiose, o estado de equilíbrio dinâmico em que o microbioma coexiste de forma mutualística com o hospedeiro, evitando a proliferação de microrganismos oportunistas (Hallang et al., 2021; Thomas et al., 2021). Dado que o microbioma oral é um sistema resiliente, a intervenção terapêutica deve focar-se na neutralização dos despoletadores da disbiose, como o excesso de hidratos de carbono fermentáveis ou a diminuição do fluxo salivar, a fim de evitar a transição para estados de doença, como a cárie dentária e a periodontite (Bostanghadiri et al., 2024; Marsh, 2018).

5.1 Estratégias de modulação do microbioma oral

As estratégias de modulação do microbioma oral afastam-se da erradicação bacteriana de largo espectro (através de antibióticos e antissépticos fortes), privilegiando intervenções mais precisas e sustentáveis (Lv et al., 2025). A erradicação não seletiva é frequentemente considerada subótima, pois pode conduzir à destruição de espécies comensais protetoras, ao aumento da resistência antimicrobiana e ao risco de infecções secundárias (Lv et al., 2025; Thomas et al., 2021).

As novas abordagens, frequentemente descritas como a estratégia *nudge* ou “pequeno empurrão”, visam induzir mudanças graduais e cumulativas na composição e na atividade metabólica do biofilme microbiano (Marsh, 2018). Entre estas estratégias destaca-se a interferência no *quorum sensing* através do *quorum quenching*, uma abordagem que recorre a enzimas capazes de degradar moléculas sinalizadoras, como as lactonases, interrompendo a comunicação bacteriana e reduzindo a virulência e a formação de biofilmes patogénicos, sem exercer uma ação bactericida direta (Li et al., 2022). Outras abordagens consistem no uso de produtos naturais e bioativos, como os polifenóis presentes no chá verde e no cacau, bem como extratos de plantas, que inibem a adesão de patógenos como *S. mutans*, e suprimem a expressão de genes de virulência, como o *gtfB* (Li et al., 2022; Lv et al., 2025). Uma outra estratégia consiste na mastigação de pastilhas elásticas sem açúcar ou contendo substitutos do açúcar, como o xilitol e o eritritol, uma vez que esta prática estimula o fluxo salivar, aumenta a capacidade tampão da saliva e reduz a fermentação ácida pelas bactérias orais, contribuindo para a manutenção da homeostase do ecossistema oral (Humphrey & Williamson, 2001; Marsh, 2018; Rajasekaran et al., 2024).

5.1.1 Probióticos, prebióticos e simbióticos

A modulação biológica por meio de probióticos, prebióticos e simbióticos é uma das fronteiras mais promissoras da medicina dentária de precisão (Bostanghadiri et al., 2024; Lv et al., 2025).

Embora não exista ainda uma definição universal de microbioma saudável, vários estudos indicam que a administração de probióticos, prebióticos e simbióticos podem ajudar a preservar ou a modular a microbiota de modo a favorecer o hospedeiro (Aggarwal et al., 2023).

Os probióticos orais são microrganismos vivos, benéficos, que, quando administrados em quantidades adequadas, conferem benefícios para a saúde oral (Bostanghadiri et al., 2024; Marsh, 2018). Ao contrário dos probióticos intestinais tradicionais, os probióticos orais ideais são estirpes adaptadas ao ambiente oral, como por exemplo a espécie *Streptococcus salivarius* estirpes K12 e M18, que produzem bacteriocinas potentes, capazes de inibir patógenos periodontais e reduzir a inflamação das gengivas (Aggarwal et al., 2023; Li et al., 2022; Rajasekaran et al., 2024). Outras estirpes promissoras incluem *Streptococcus A12* e *Streptococcus dentisani*, que são probióticos arginolíticos que neutralizam o pH do biofilme através da produção de amoníaco, combatendo diretamente a acidificação cariogénica (Bostanghadiri et al., 2024; Marsh, 2018). Embora géneros como *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* sejam amplamente utilizados, a sua eficácia na prevenção da cárie dentária é alvo de debate, dado que algumas estirpes possuem potencial acidogénico (Li et al., 2022; Marsh, 2018).

Os prebióticos consistem na utilização de compostos não digeríveis que estimulam selectivamente o crescimento de bactérias benéficas já residentes no hospedeiro (Marsh, 2018; Zarco et al., 2012). A arginina é o prebiótico mais estudado, servindo de substrato para bactérias benéficas que geram alcalinidade e protegem o esmalte contra a desmineralização (Bostanghadiri et al., 2024; Marsh, 2018). Outro prebiótico emergente é o nitrato, que é reduzido a nitrito e óxido nítrico por bactérias comensais (como *Rothia* e *Neisseria*), tendo efeitos antimicrobianos e proporcionando benefícios para a saúde cardiovascular sistémica (Aggarwal et al., 2023; Blostein et al., 2022; Thomas et al., 2021).

Simbióticos referem-se a combinações sinérgicas de probióticos e prebióticos, concebidas para aumentar a sobrevivência e a atividade dos microrganismos

benéficos no nicho oral (Aggarwal et al., 2023; Bostanghadiri et al., 2024). Um exemplo inovador é o uso de bactérias redutoras de nitrato em conjunto com a suplementação de nitrato, o que pode prevenir a disbiose e melhorar condições sistêmicas, como a hipertensão e a diabetes mellitus (Thomas et al., 2021).

Em suma, estas terapias, cujo alvo é o microbioma oral, visam reequilibrar o ecossistema oral, te constituem uma estratégia preventiva e personalizada que respeita a ecologia natural (Bostanghadiri et al., 2024; Zarco et al., 2012; Zhao et al., 2025).

5.1.2 Terapia fágica, péptidos antimicrobianos e outras abordagens inovadoras

A terapia fágica ressurgiu como uma alternativa promissora aos antibióticos convencionais devido à crescente resistência antimicrobiana e à necessidade de tratamentos mais selectivos (Baker et al., 2017; Li et al., 2022). Esta abordagem utiliza vírus liticamente ativos – os bacteriófagos ou fagos, que funcionam como predadores naturais e altamente específicos para certa espécie bacterianas, permitindo a eliminação de patógenos sem afetar os microrganismos benéficos da flora intestinal (Baker et al., 2017; Li et al., 2022). Destaca-se ainda a utilização de extratos naturais, como a *Aronia melanocarpa*, que inibem o desenvolvimento inicial do biofilme através da degradação de RNA extracelular (eRNA) (Lv et al., 2025). Estudos recentes identificaram cocktails de fagos específicos capazes de infetar e reduzir significativamente a biomassa de biofilmes de *Fusobacterium nucleatum*, *Streptococcus mutans* e *Neisseria meningitidis* (Baker et al., 2017; Li et al., 2022). No entanto, a aplicação clínica da terapia fágica enfrenta desafios regulatórios complexos, devido à ausência de diretrizes padronizadas. Os desafios incluem a falta de protocolos para a aprovação de preparações biológicas e de garantia de segurança, a dificuldade de enquadramento nas vias clássicas de patenteamento e a necessidade de validar fagos individualmente como medicamentos personalizados (Baker et al., 2017; Li et al., 2022).

Os péptidos antimicrobianos (AMPs), são componentes essenciais da imunidade inata da maioria dos organismos. Estes representam outra fronteira na terapia de precisão (Bostanghadiri et al., 2024). Moléculas como as defensinas (α e β) e as catelicidinas (LL-37) desempenham um papel fundamental na imunidade inata da cavidade oral, contribuindo para o controlo do crescimento microbiano e para a manutenção da homeostase do ecossistema oral (Bostanghadiri et al., 2024; Rajasekaran et al., 2024). A utilização do AMP P11-4 tem-se revelado eficaz na remineralização do esmalte, ao atrair iões de cálcio. Por outro lado, a histatina-5 salivar é um potente agente antifúngico contra *Candida albicans* (Bostanghadiri et al., 2024; Rajasekaran et al., 2024).

Adicionalmente, o desenvolvimento de nanomateriais e nanopartículas permite a libertação controlada de agentes terapêuticos e a geração de espécies reativas de oxigénio em ambientes ácidos, de modo a degradar a matriz do biofilme (Li et al., 2022; Lv et al., 2025).

5.1.3 Transplante de microbiota oral: racional e estado de evidência

O transplante de microbiota oral (OMT) baseia-se no princípio de restaurar o equilíbrio ecológico (eubiose), transferindo uma comunidade microbiana complexa e saudável para um hospedeiro com disbiose (Bostanghadiri et al., 2024). Ao contrário dos probióticos isolados, o OMT fornece um ecossistema completo, capaz de estabelecer resistência à colonização por patógenos, através da competição por locais de adesão e nutrientes, bem como da produção sinérgica de substâncias antimicrobianas, como bacteriocinas e peróxido de hidrogénio (Bostanghadiri et al., 2024; Kumar & Mason, 2015). O procedimento proposto envolve a recolha de biofilme supragengival de doadores saudáveis (geralmente familiares sem cáries), a sua preservação em solução salina e a aplicação tópica nas superfícies dentárias do recetor (Bostanghadiri et al., 2024). É fundamental que o dador possua um microbioma robusto, livre de *S. mutans* e com elevada capacidade de manter a estabilidade do pH em resposta a estímulos de açúcar (Bostanghadiri et al., 2024). Evidências preliminares indicam que o OMT pode mitigar a inflamação sistémica e reduzir a gravidade

da mucosite oral induzida por radioterapia em modelos animais, ao regular positivamente as citocinas anti-inflamatórias (Bostanghadiri et al., 2024).

Apesar do seu potencial transformador, o OMT está ainda numa fase inicial de investigação clínica (Bostanghadiri et al., 2024). Há lacunas significativas no conhecimento sobre a necessidade de desinfecção prévia da cavidade oral do recetor, o número de doses necessárias para uma colonização sustentada e a estabilidade genética a longo prazo do biofilme transplantado (Bostanghadiri et al., 2024). A segurança do procedimento é uma prioridade, exigindo protocolos rigorosos de rastreio dos dadores para evitar a transmissão de patógenos oportunistas (Bostanghadiri et al., 2024). Atualmente, o transplante de microbiota oral é uma das estratégias mais promissoras da medicina dentária personalizada, mas a sua aplicação na prática clínica ainda depende dos resultados de ensaios clínicos em larga escala que comprovem a sua eficácia e segurança (Bostanghadiri et al., 2024).

5.2 Intervenções personalizadas baseadas no perfil salivar

A emergência da medicina dentária de precisão baseia-se na premissa de que cada pessoa tem uma identidade microbiana única, moldada por fatores genéticos, ambientais e de estilo de vida (Bostanghadiri et al., 2024; Zarco et al., 2012). Neste contexto, a saliva destaca-se como um fluido informativo privilegiado para a personalização dos cuidados de saúde, possibilitando a monitorização em tempo real do estado imunológico, hormonal, nutricional e metabólico do paciente (Humphrey & Williamson, 2001; Costa et al., 2021; Thomas et al., 2021).

5.2.1 Ajuste de terapias farmacológicas e nutricionais com base em biomarcadores salivares

A monitorização terapêutica através da saliva constitui uma alternativa não invasiva e eficiente para ajustar as dosagens e avaliar a eficácia das intervenções clínicas. A saliva tem sido utilizada para monitorizar os níveis de várias substâncias introduzidas por motivos terapêuticos, incluindo esteroides, anticorpos e polipéptidos (Humphrey & Williamson, 2001). Um exemplo clínico relevante é a monitorização de doentes com artrite reumatoide em tratamento com anticorpos anti-TNF- α , em que a diminuição dos níveis salivares de IL-1 β e TNF- α indica uma resposta positiva ao tratamento (Kumari et al., 2024a; Rocha et al., 2022). Além disso, os biomarcadores de stress, como o cortisol salivar e a alfa-amilase, permitem avaliar a eficácia das intervenções de controlo da ansiedade e da dor (Rocha et al., 2022; Song et al., 2023).

No âmbito da farmacogenómica, a saliva é utilizada para monitorizar a adesão a antibióticos e detetar genes de resistência, permitindo otimizar a prescrição de fármacos (Costa et al., 2021; Song et al., 2023). A forte correlação entre os níveis de glicose salivar e plasmática, bem como de HbA1c, permite ajustar de forma precisa o tratamento da diabetes mellitus tipo 2, evitando complicações sistémicas, como a cardiomiopatia diabética (Fang et al., 2025; Kumari et al., 2024a).

O perfil bioquímico da saliva reflete também a ingestão dietética, por exemplo, variações nos níveis de ureia e amoníaco podem indicar a necessidade de ajustar a ingestão de proteínas ou indicar disfunção renal, além de influenciarem diretamente a capacidade de tamponamento do biofilme contra a cárie dentária (Costa et al., 2021; Kumari et al., 2024a). A deteção de alterações nos níveis de eletrólitos, como o sódio, o cálcio e o fosfato, é essencial para personalizar terapias de remineralização e para controlar a síndrome de Sjögren (Lima et al., 2020).

5.2.2 Papel de suplementos, nutracêuticos, vitaminas e ácidos gordos

A nutrição e a suplementação emergem como pilares fundamentais para a manutenção da eubiose oral e para o controlo da inflamação sistémica, sendo que ambos os aspetos estão interligados e são complementares (Basilicata et al., 2022; Bostanghadiri et al., 2024; Thomas et al., 2021).

A deficiência de vitamina D está intimamente associada à patogénese da periodontite e à resistência à insulina, pelo que a sua suplementação é recomendada para reduzir os marcadores inflamatórios e proteger contra a perda óssea alveolar (Lv et al., 2025; Thomas et al., 2021). Embora o papel exato de micronutrientes como a vitamina C, a vitamina B12 e a coenzima Q10 continue a ser alvo de investigação, a literatura científica destaca que a má nutrição é um fator de risco comum a doenças orais e patologias crónicas degenerativas (Basilicata et al., 2022; Bostanghadiri et al., 2024; Thomas et al., 2021). O uso de ómega-3, nomeadamente do mediador lipídico resolvina E1, derivado do ácido eicosapentaenoico, tem demonstrado um potencial significativo na supressão da reabsorção óssea e na redução dos níveis sistémicos de citocinas pró-inflamatórias (Thomas et al., 2021). Adicionalmente, os ácidos gordos de cadeia média e os poliinsaturados apresentam efeitos antimicrobianos diretos contra patógenos orais *in vitro*, o que sugere que a sua inclusão na dieta pode modular a estrutura da comunidade microbiana salivar (Hansen H Tue et al., 2018).

Os compostos bioativos naturais, como os polifenóis e os flavonoides presentes no chá verde, no cacau e nos extratos de uva, têm um efeito antioxidante e anti-inflamatório potente (Basilicata et al., 2022; Bostanghadiri et al., 2024). A curcumina e os extratos de arando vermelho são conhecidos pela sua capacidade de inibir a produção de prostaglandinas e a síntese de MMP, protegendo os tecidos periodontais (Basilicata et al., 2022). O uso de arginina estimula o crescimento de bactérias comensais arginolíticas, que geram alcalinidade e protegem o esmalte dentário (Bostanghadiri et al., 2024; Marsh, 2018). Por outro lado, o nitrato dietético atua como um prebiótico que, ao ser reduzido por bactérias orais benéficas, aumenta os níveis de óxido nítrico, contribuindo para o controlo da pressão arterial e para a saúde vascular (Blostein et al., 2022; Bostanghadiri et al., 2024; Rajasekaran et al., 2024; Thomas et al., 2021). Por fim, o xilitol e o eritritol são componentes-chave em regimes

personalizados, uma vez que reduzem a presença de *Streptococcus mutans*, reequilibram o pH salivar e inibem a formação de biofilmes causadores de cárie dentária (Humphrey & Williamson, 2001; Li et al., 2022; Lv et al., 2025; Rajasekaran et al., 2024).

5.3 Desafios e oportunidades na tradução clínica

A transição da investigação do microbioma oral e dos biomarcadores salivares para a prática clínica constitui uma das fronteiras mais dinâmicas da medicina contemporânea. A pandemia da COVID-19 atuou como um catalisador neste campo, demonstrando a eficácia e a viabilidade da utilização de testes baseados em saliva para o rastreio populacional em larga escala (Kumari et al., 2024a; Thomas et al., 2021). No entanto, para que o potencial diagnóstico da saliva seja plenamente explorado na prática clínica, é necessário transformar a vasta riqueza de dados ômicos em ferramentas práticas, rápidas e fiáveis (Fang et al., 2025; Kumari et al., 2024; Paqué et al., 2020; Shinde et al., 2024).

5.3.1 Limitações metodológicas e necessidade de validação clínica

Apesar dos avanços tecnológicos, a aplicação clínica enfrenta obstáculos metodológicos críticos que limitam a comparabilidade e a reprodutibilidade dos resultados (Berg et al., 2020; Lima et al., 2020; Deo & Deshmukh, 2019; Fang et al., 2025; Shinde et al., 2024). A ausência de diretrizes universais no sentido de haver padronização de protocolos para a recolha (estimulada vs. não estimulada), armazenamento e processamento de amostras é identificada como a principal barreira (Costa et al., 2021; Fang et al., 2025; Shinde et al., 2024). A composição da saliva é bastante instável e é afetada pelo ritmo circadiano, pela dieta, pela idade e até pelo estado emocional do paciente (Fang et al., 2025; Kumari et al., 2024; Shinde et al., 2024). O microbioma oral é único para cada indivíduo e a presença de membros da microbiota em indivíduos saudáveis pode sobrepor-se à de pacientes com doença, dificultando a definição de um

microbioma *core* de saúde universal (Palmer, 2014; Zarco et al., 2012). Por outro lado, a predominância de estudos transversais não permite estabelecer relações causais definitivas entre as alterações do microbioma e a progressão de doenças como a periodontite ou a cardiomiopatia diabética (Fang et al., 2025; Scannapieco & Dongari-Bagtzoglou, 2021). É urgente realizar estudos longitudinais de larga escala e ensaios clínicos multicêntricos que validem a eficácia de biomarcadores específicos em populações diversas, antes da sua comercialização (Fang et al., 2025; Shinde et al., 2024). Para além destes desafios, existem também desafios técnicos, uma vez que a deteção de microrganismos de baixa abundância e a interpretação da “matéria escura” do microbioma (espécies ainda não cultivadas ou classificadas) constituem lacunas significativas (Deo & Deshmukh, 2019; Shinde et al., 2024).

5.3.2 Integração em medicina de precisão e cuidados personalizados

A integração de dados multi-ômicos com tecnologias de IA e ML abre caminho para uma nova era de cuidados personalizados em medicina dentária e em saúde geral (Fang et al., 2025; Patil et al., 2022). O desenvolvimento de algoritmos de ML permite analisar padrões complexos e identificar microcaracterísticas que podem prever o risco de cárie dentária ou cancro oral meses antes da manifestação de sintomas clínicos (Fang et al., 2025; Kumari et al., 2024). O objetivo é criar dispositivos POC portáteis e de fácil utilização, que permitam diagnósticos imediatos na cadeira do dentista, eliminando a necessidade de enviar amostras para laboratórios centrais e reduzindo custos (Kumari et al., 2024q; Paqué et al., 2020). No futuro, os biossensores incorporados nos dentes (o conceito de “dente conectado”) poderão monitorizar continuamente o estado metabólico, os níveis de glicose ou a presença de patógenos específicos em tempo real (Thomas et al., 2021). Esta abordagem permite um ajuste fino das intervenções terapêuticas e nutricionais, adaptando-as à identidade microbiana única de cada paciente (Bostanghadiri et al., 2024; Rajasekaran et al., 2024; Zarco et al., 2012).

A medicina de precisão necessita de uma abordagem holística por parte do médico, este necessita de olhar para além da cavidade oral, reconhecendo que as disbioses locais podem ser indicadores precoces de condições sistêmicas graves, como doenças cardiovasculares, diabetes ou distúrbios neurodegenerativos (Rajasekaran et al., 2024; Thomas et al., 2021).

Em conclusão, apesar dos desafios metodológicos consideráveis, as oportunidades oferecidas pela tradução clínica da salivaômica e da microbiologia de sistemas têm o potencial de transformar a medicina dentária em uma disciplina reativa numa ciência preditiva, preventiva e verdadeiramente personalizada (Deo & Deshmukh, 2019; Zarco et al., 2012).

6. PERSPECTIVAS FUTURAS E DESAFIOS

A transição do estudo do microbioma oral e da saliva para a sua aplicação clínica prática enfrenta um hiato significativo entre a descoberta de biomarcadores e a sua implementação no atendimento clínico (Shinde et al., 2024). Embora a saliva seja amplamente reconhecida pelo seu potencial como “biópsia líquida” e “espelho do corpo”, a plena exploração deste fluido requer a simplificação da complexidade dos dados ômicos em ferramentas diagnósticas, rápidas, económicas e fiáveis (Lima et al., 2020; Fang et al., 2025; Kumari et al., 2024).

6.1 Integração de dados multi-ômicos, *big data* e inteligência artificial

A mudança de uma visão centrada na taxonomia para uma abordagem centrada na funcionalidade microbiana é o que vai ditar o futuro do diagnóstico de precisão (Zielińska et al., 2025). A integração de várias camadas de dados, incluindo a metagenómica, a metatranscriptómica, a metaproteómica e a metabolómica, é essencial para compreender o “teatro de atividade” do microbioma, onde as interações metabólicas e a expressão génica são os

preditores de doença mais precisos do que a simples presença de espécies (Aggarwal et al., 2023; Baker et al., 2017; Berg et al., 2020; Zielińska et al., 2025).

Neste cenário de “*big data*”, a IA e ML assumem um papel imprescindível (Fang et al., 2025; Kumari et al., 2024; Patil et al., 2022). Contudo, o custo elevado destas tecnologias e a necessidade de lidar com metabolitos e espécies ainda não registadas em bases de dados constituem barreiras técnicas que exigem o desenvolvimento contínuo de bibliotecas moleculares geradas por IA (Aggarwal et al., 2023; Fang et al., 2025). Na Figura 11 podemos observar um esquema didático de como o fluxo de dados (input) passa pelas camadas de *deep learning* (redes neurais) para gerar um output de diagnóstico ou de prognóstico (Patil et al., 2022).

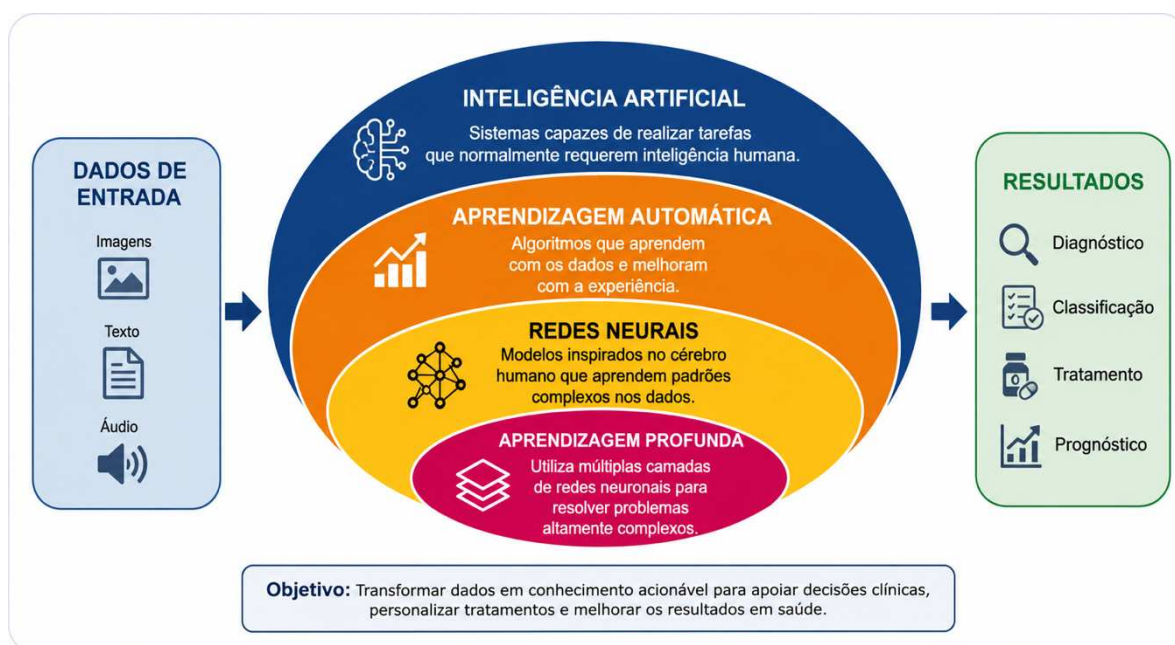


Figura 11: Esquema de funcionamento de IA. Imagem adaptada de (Patil et al., 2022). (Imagem elaborada com recurso ao ChatGPT).

6.2 Standardização de métodos de recolha e análise salivar

A falta de protocolos universalmente aceites é identificada como o principal obstáculo à reprodutibilidade e comparabilidade dos estudos, tornando difícil a reprodução dos resultados e dificultando a comparação entre eles (Berg et al., 2020; Fang et al., 2025; Shinde et al., 2024). Para garantir a fiabilidade dos biomarcadores, é imperativo estabelecer procedimentos operacionais padrão (SOPs) (Costa et al., 2021; Fang et al., 2025). Estes devem incluir, no ato da recolha, o uso de dispositivos como a Salivette® que é recomendado para padronizar a recolha e evitar a contaminação com secreções mucosas (Costa et al., 2021). No que diz respeito ao armazenamento, a preservação em gelo e o processamento no próprio dia da colheita são cruciais para manter a integridade proteica (Costa et al., 2021). É também, necessária a padronização das pipelines de análise metagenómica e técnicas de depleção de DNA humano para aumentar a profundidade das leituras microbianas (Armstrong et al., 2021; Berg et al., 2020; Perera et al., 2016).

6.3 Necessidade de estudos longitudinais e ensaios clínicos robustos

A literatura atual é denominada por estudos observacionais e transversais, que limitam a capacidade de estabelecer relações de causalidade entre as alterações do microbioma e a progressão das patologias (Fang et al., 2025; Hallang et al., 2021). É necessário realizar estudos longitudinais de larga escala que acompanhem os indivíduos ao longo do tempo, de modo a distinguir as variações normais das trajetórias de doença (Fang et al., 2025; Mark Welch et al., 2019; Shinde et al., 2024; Zielińska et al., 2025). Além disso, a validação de novos biomarcadores e algoritmos de IA requer ensaios clínicos multicêntricos em populações diversas, a fim de garantir a generalização dos resultados (Fang et al., 2025; Patil et al., 2022; Shinde et al., 2024). A monitorização contínua, em vez de medições pontuais, poderá proporcionar uma compreensão mais aprofundada da eficácia das intervenções terapêuticas personalizadas (Fang et al., 2025).

6.4 Questões éticas, de privacidade e gestão de dados microbiológicos

A integração de dados genómicos e pessoais em larga escala levanta desafios éticos e regulatórios sem precedentes nomeadamente no que diz respeito à privacidade dos indivíduos, à confidencialidade da informação e à segurança dos dados (Fang et al., 2025; Shinde et al., 2024). O cumprimento rigoroso de regulamentações, como o RGPD, aliado à implementação de medidas, como a anonimização e o controlo estrito dos acessos, constitui uma prioridade incontornável (Fang et al., 2025; Patil et al., 2022).

A estes desafios acresce a necessidade de processos de consentimento informado transparentes e flexíveis sobre a utilização dos dados biológicos em modelos de IA, bem como a adopção dos princípios FAIR (Findable, Accessible, Interoperable, and Reusable) – que preconizam que os dados sejam encontráveis, acessíveis, interoperáveis e reutilizáveis -. Combatendo a tendência de disponibilizar dados apenas sob pedido (Fang et al., 2025). Neste contexto, o desenvolvimento de infraestruturas de dados federados, como o Personal Health Train ou o DaraSHIELD, permite a análise colaborativa entre instituições sem necessidade de partilha física de dados sensíveis, reduzindo os riscos de segurança e contribuindo para a manutenção da confiança pública nestas novas tecnologias (Berg et al., 2020; Hornung et al., 2019; Armstrong et al., 2021; Patil et al., 2022).

III. CONCLUSÃO

A compreensão contemporânea do ecossistema oral reconhece a cavidade oral como um ambiente biológico complexo, no qual o hospedeiro e a sua microbiota estabelecem uma relação dinâmica e coevolutiva, característica do conceito de holobionte. Neste contexto, a eubiose corresponde ao estado de equilíbrio ecológico e funcional da microbiota oral, em que as interações entre os microrganismos, os tecidos orais e o sistema imunitário do hospedeiro contribuem para a manutenção da homeostase. Este equilíbrio favorece funções essenciais, incluindo a resistência à colonização por agentes patogênicos, a modulação da resposta imunitária e a preservação da integridade dos tecidos orais.

Contudo, a perturbação deste estado de equilíbrio, designada disbiose, conduz a alterações na composição e na atividade funcional das comunidades microbianas, favorecendo o desenvolvimento de patologias orais, como a cárie dentária e as doenças periodontais. Para além dos seus efeitos locais, a disbiose oral pode ter repercussões sistêmicas através do eixo oral-sistêmico, uma vez que a disseminação de microrganismos, dos seus produtos metabólicos e de mediadores inflamatórios pode contribuir para processos inflamatórios crônicos e para a fisiopatologia de diversas doenças sistêmicas, incluindo a diabetes mellitus, as doenças cardiovasculares e algumas patologias neurodegenerativas, como a doença de Alzheimer.

As evidências atuais consolidam a saliva como a matriz biológica de eleição para uma nova era de diagnóstico preventivo. Através da salivaômica, a integração de dados metagenômicos, proteômicos e metabolômicos permite que a saliva funcione como uma “biópsia líquida” capaz de refletir o estado fisiológico do indivíduo em tempo real. O potencial diagnóstico é maximizado pela aplicação de inteligência artificial e *machine learning*, que possibilitam o processamento de volumes massivos de dados para identificar assinaturas moleculares e perfis de risco antes mesmo do surgimento de sintomas clínicos. Paralelamente, assiste-se a uma mudança de paradigma terapêutico, onde a erradicação bacteriana indiscriminada dá lugar à modulação precisa do microbioma através de

estratégias inovadoras como probióticos específicos, prebióticos como a arginina, a terapia fágica e o transplante de microbiota oral.

Para o futuro, a plena tradução destas descobertas para a prática clínica exige a superação de desafios metodológicos críticos, nomeadamente a padronização de protocolos operacionais (SOPs) para a colheita e conservação de amostras, garantindo a reprodutibilidade dos resultados. É imperativo que as linhas de investigação futuras priorizem estudos longitudinais de larga escala que estabeleçam relações de causalidade definitivas e explorem a “matéria escura” do microbioma, incluindo fungos e vírus. Além disso, a gestão ética e segura dos dados genómicos, em conformidade com a regulamentação como o RGPD, será fundamental para manter a confiança dos pacientes.

Em conclusão, a saliva e o microbioma oral confirmam o seu potencial como uma verdadeira “janela para a saúde sistémica”, permitindo que o médico dentista desempenhe um papel central na medicina de precisão, tornando os cuidados de saúde mais preditivos, preventivos e personalizados.

IV. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Aggarwal, N., Kitano, S., Puah, G. R. Y., Kittelmann, S., Hwang, I. Y., & Chang, M. W. (2023). Microbiome and human health: Current understanding, engineering, and enabling technologies. *Chemical Reviews*, 123(1), 31–72. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.2c00431>

Armes, A. C., Schaefer, A. L., Hochanadel, L. H., Klingeman, D. M., Carper, D. L., Abraham, P. E., York, L. M., Carrell, A. A., Doktycz, M. J., & Pelletier, D. A. (2025). Quorum sensing modulates microbial community structure through regulation of secondary metabolites. *MSphere*, 10(7). <https://doi.org/10.1128/msphere.01050-24>

Armstrong, A. J. S., Parmar, V., & Blaser, M. J. (2021). Assessing saliva microbiome collection and processing methods. *Npj Biofilms and Microbiomes*, 7(1). <https://doi.org/10.1038/s41522-021-00254-z>

Atarashi, K., Suda, W., Luo, C., Kawaguchi, T., Motoo, I., Narushima, S., Kiguchi, Y., Yasuma, K., Watanabe, E., Tanoue, T., Thaïss, C., Sato, M., Toyooka, K., Said, H., Yamagami, H., Rice, S., Gevers, D., Johnson, R., Segre, J., ... Honda, K. (2017). Ectopic colonization of oral bacteria in the intestine drives TH1 cell induction and inflammation. *Science*, 358(6361), 359–365. <https://doi.org/10.1126/science.aan4526>

Baker, J. L., Bor, B., Agnello, M., Shi, W., & He, X. (2017). Ecology of the oral microbiome: Beyond bacteria. *Trends in Microbiology*, 25(5), 362–374. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2016.12.012>

Banavar, G., Ogundijo, O., Toma, R., Rajagopal, S., Lim, Y. K., Tang, K., Camacho, F., Torres, P. J., Gline, S., Parks, M., Kenny, L., Perlina, A., Tily, H., Dimitrova, N., Amar, S., Vuyisich, M., & Punyadeera, C. (2021). The salivary metatranscriptome as an accurate diagnostic indicator of oral cancer. *Npj Genomic Medicine*, 6(1). <https://doi.org/10.1038/s41525-021-00257-x>

Barboza-Solís, C., & Acuña-Amador, L. A. (2021). The oral microbiota: A literature review for updating professionals in dentistry-part II. *Odovtos - International Journal of Dental Sciences*, 23(3), 45–56. <https://doi.org/10.15517/IJDS.2021.45330>

Basilicata, M., Di Lauro, M., Campolattano, V., Marrone, G., Celotto, R., Mitterhofer, A. P., Bollero, P., Di Daniele, N., & Noce, A. (2022). Natural bioactive compounds in the management of oral diseases in nephropathic patients. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 19(3), 1665. <https://doi.org/10.3390/ijerph19031665>

Basilicata, M., Pieri, M., Marrone, G., Nicolai, E., Di Lauro, M., Paolino, V., Tomassetti, F., Vivarini, I., Bollero, P., Bernardini, S., & Noce, A. (2023). Saliva as biomarker for oral and chronic degenerative non-communicable diseases. *Metabolites*, 13(8), 889. <https://doi.org/10.3390/metabo13080889>

Berg, G., Rybakova, D., Fischer, D., Cernava, T., Vergès, M. C. C., Charles, T., Chen, X., Cocolin, L., Eversole, K., Corral, G. H., Kazou, M., Kinkel, L., Lange, L., Lima, N., Loy, A., Macklin, J. A., Maguin, E., Mauchline, T., McClure, R., ... Schlöter, M. (2020). Microbiome definition re-visited: Old concepts and new challenges. *Microbiome*, 8(1), 103. <https://doi.org/10.1186/s40168-020-00875-0>

Blöstein, F., Bhaumik, D., Davis, E., Salzman, E., Shedden, K., Duhaime, M., Bakulski, K. M., McNeil, D. W., Marazita, M. L., & Foxman, B. (2022). Evaluating the ecological hypothesis: early life salivary microbiome assembly predicts dental caries in a longitudinal case-control study. *Microbiome*, 10(1). <https://doi.org/10.1186/s40168-022-01442-5>

Bostanghadiri, N., Kouhzad, M., Taki, E., Elahi, Z., Khoshbayan, A., Navidifar, T., & Darban-Sarokhalil, D. (2024). Oral microbiota and metabolites: Key players in oral health and disorder, and microbiota-based therapies. *Frontiers in Microbiology*, 15, 1431785. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2024.1431785>

Bryan, N. S., Tribble, G., & Angelov, N. (2017). Oral microbiome and nitric oxide: The missing link in the management of blood pressure. *Current Hypertension Reports*, 19(4), 33. <https://doi.org/10.1007/s11906-017-0725-2>

Carrizales-Sepúlveda, E. F., Ordaz-Farías, A., Vera-Pineda, R., & Flores-Ramírez, R. (2018). Periodontal disease, systemic inflammation and the risk of cardiovascular disease. *Heart, Lung and Circulation*, 27(11), 1327–1334. <https://doi.org/10.1016/j.hlc.2018.05.102>

Chandra Nayak, S., Latha, P. B., Kandanattu, B., Pypmallil, U., Kumar, A., & Kumar Banga, H. (2025a). The Oral Microbiome and Systemic Health: Bridging the Gap Between Dentistry and Medicine. *Cureus*. <https://doi.org/10.7759/cureus.78918>

Chen, H., & Jiang, W. (2014). Application of high-throughput sequencing in understanding human oral microbiome related with health and disease. *Frontiers in Microbiology*, 5(SEP). <https://doi.org/10.3389/fmicb.2014.00508>

Cornejo Ulloa, P., van der Veen, M. H., & Krom, B. P. (2019). Review: modulation of the oral microbiome by the host to promote ecological balance. *Odontology*, 107(4), 437–448. <https://doi.org/10.1007/s10266-019-00413-x>

Costa, M. M., Benoit, N., Saby, F., Pradines, B., Granjeaud, S., & Almeras, L. (2021). Optimization and standardization of human saliva collection for MALDI-TOF MS. *Diagnostics*, 11(8). <https://doi.org/10.3390/diagnostics11081304>

Cunha, F. N. de L., Mendes, F. G. A., Cintrão, A. R. R., Teixeira, S. V., Vaz, T. R. P., Alcocer, E. Z., Acosta, E. W. A., Loza, D. M. B., Alves, A. C., Cançado, M. A. F., Borges, É. A. A. P., Souza, R. L. C. de, Daniel, A. V. B., Santos, B. de P., Vila, A. P. A., Machado, C. C. V. A., Oliveira, F. F. de, & Moraes, U. L. S. (2025). Relação Entre Microbioma Oral e Doenças Sistêmicas: Mecanismos Fisiopatológicos e Implicações Clínicas. *Brazilian*

Deo, P. N., & Deshmukh, R. (2019). Oral microbiome: Unveiling the fundamentals. *Journal of Oral and Maxillofacial Pathology*, 23(1), 122–128. https://doi.org/10.4103/jomfp.JOMFP_304_18

Dewhirst, F. E., Chen, T., Izard, J., Paster, B. J., Tanner, A. C. R., Yu, W. H., Lakshmanan, A., & Wade, W. G. (2010). The human oral microbiome. *Journal of Bacteriology*, 192(19), 5002–5017. <https://doi.org/10.1128/JB.00542-10>

Do, T., Devine, D., & Marsh, P. D. (2013). Oral biofilms: Molecular analysis, challenges, and future prospects in dental diagnostics. *Clinical, Cosmetic and Investigational Dentistry*, 5, 11–19. <https://doi.org/10.2147/CCIDE.S31005>

Dongiovanni, P., Meroni, M., Casati, S., Goldoni, R., Thomaz, D. V., Kehr, N. S., Galimberti, D., Del Fabbro, M., & Tartaglia, G. M. (2023). Salivary biomarkers: Novel noninvasive tools to diagnose chronic inflammation. *International Journal of Oral Science*, 15(1), 28. <https://doi.org/10.1038/s41368-023-00231-6>

Duran-Pinedo, A. E., & Frias-Lopez, J. (2015). Beyond microbial community composition: functional activities of the oral microbiome in health and disease. *Microbes and Infection*, 17(7), 505–516.

Fábián, T. K., Hermann, P., Beck, A., Fejérdy, P., & Fábián, G. (2012). Salivary defense proteins: Their network and role in innate and acquired oral immunity. *International Journal of Molecular Sciences*, 13(4), 4295–4320. <https://doi.org/10.3390/ijms13044295>

Fan, X., Peters, B. A., Min, D., Ahn, J., & Hayes, R. B. (2018). Comparison of the oral microbiome in mouthwash and whole saliva samples. *PLoS ONE*, 13(4). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0194729>

Fang, J., Wu, Y., Wang, H., Zhang, J., & You, L. (2025). Oral Health and Diabetic Cardiomyopathy: Mechanisms, Biomarkers, and Early Screening Approaches. *Journal of Inflammation Research*, 18, 8689–8704. <https://doi.org/10.2147/JIR.S521430>

Farnaud, S. J. C., Kostı, O., Getting, S. J., & Renshaw, D. (2010). Saliva: Physiology and diagnostic potential in health and disease. *TheScientificWorldJournal*, 10, 434–456. <https://doi.org/10.1100/tsw.2010.38>

Ferreira, J., Jimenez, M., Cerqueira, A., da Silva, J. R., Souza, B., Berard, L., Bachi, A. L. L., Dame-Teixeira, N., Coto, N., & Heller, D. (2024). Saliva as a diagnostic tool in soccer: A scoping review. *PeerJ*, 12, e18032. <https://doi.org/10.7717/peerj.18032>

Gau, V. & Wong, D. (2007). Oral fluid nanosensor test (OFNASET) with advanced electrochemical-based molecular analysis platform. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1098, 401–410. <https://doi.org/10.1196/annals.1384.005>

Graves, D. T., Corrêa, J. D., & Silva, T. A. (2019). The Oral Microbiota Is Modified by Systemic Diseases. *Journal of Dental Research*, 98(2), 148–156. <https://doi.org/10.1177/0022034518805739>

Guerra, F., Mazur, M., Ndokaj, A., Corridore, D., La Torre, G., Polimeni, A., et al. (2018). Periodontitis and the microbiome: a systematic review and meta-analysis. *Minerva Stomatologica*, 67(6), 250-258.

Guo, Z. L., Cui, M. W., Dong, Y. L., & Wang, S. (2026). The oral microbiome as a regulatory hub for systemic health: A systematic review of mechanistic links and clinical implications. *Journal of Oral Microbiology*, 18(1), 2635233. <https://doi.org/10.1080/20002297.2026.2635233>

Hall, M. W., Singh, N., Ng, K. F., Lam, D. K., Goldberg, M. B., Tenenbaum, H. C., et al. (2017). Inter-personal diversity and temporal dynamics of dental, tongue, and salivary microbiota in the healthy oral cavity. *NPJ Biofilms and Microbiomes*, 3, 2.

Hallang, S., Esberg, A., Haworth, S., & Johansson, I. (2021). Healthy oral lifestyle behaviours are associated with favourable composition and function of the oral microbiota. *Microorganisms*, 9(8). <https://doi.org/10.3390/microorganisms9081674>

Hansen, T. H., Kern, T., Bak, E. G., Kashani, A., Allin, K. H., Nielsen, T., Hansen, T., & Pedersen, O. (2018). Impact of a vegan diet on the human salivary microbiota. *Scientific Reports*, 8(1), Article 5847. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-24207-3>

Hornung, B. V. H., Zwartink, R. D., & Kuijper, E. J. (2019). Issues and current standards of controls in microbiome research. *FEMS Microbiology Ecology*, 95(5), Article fiz045. <https://doi.org/10.1093/femsec/fiz045>

Hu, L., Lai, C., Li, Y., Sun, R., Yang, H., Liu, X., & Peng, Y. (2025). The association of proton pump inhibitors and inflammatory bowel disease from the perspective of gut microbiota perturbation. *npj Biofilms and Microbiomes*, 11(1), Article 218. <https://doi.org/10.1038/s41522-025-00848-x>

Huang, R., Li, M., & Gregory, R. L. (2011). Bacterial interactions in dental biofilm. *Virulence*, 2(5), 435-444.

Humphrey, S. P., & Williamson, R. T. (2001). A review of saliva: Normal composition, flow, and function. *Journal of Prosthetic Dentistry*, 85(2), 162-169. <https://doi.org/10.1067/mpr.2001.113778>

Journal of Implantology and Health Sciences, 7(8), 1465-1483. <https://doi.org/10.36557/2674-8169.2025v7n8p1465-1483>

Kilian, M. (2018). The oral microbiome - friend or foe? *European Journal of Oral Sciences*, 126(Suppl. 1), 5-12

Lima, M. P., Dantas, R. V. F., Mendes, J. L., Costa Neto, R. E., Lima Júnior, J. A., & Souza, S. L. X. (2020). Biomarcadores salivares no diagnóstico e no monitoramento de patologias orais e sistêmicas. *Revista Cubana de Estomatología*, 57(1), e2139. <https://revestomatologia.sld.cu/index.php/est/article/view/2139>

Kaczor-Urbanowicz, K. E., Martin Carreras-Presas, C., Aro, K., Tu, M., Garcia-Godoy, F., & Wong, D. T. W. (2017). Saliva diagnostics – Current

views and directions. *Experimental Biology and Medicine*, 242(5), 459–472. <https://doi.org/10.1177/1535370216681550>

Kazarina, A., Kuzmicka, J., Bortkevica, S., Zayakin, P., Kimsis, J., Igumnova, V., Sadovska, D., Freimane, L., Kivrane, A., Namina, A., Capligina, V., Poksane, A., & Ranka, R. (2023). Oral microbiome variations related to ageing: possible implications beyond oral health. *Archives of Microbiology*, 205(4). <https://doi.org/10.1007/s00203-023-03464-5>

Kilian, M., Chapple, I. L. C., Hannig, M., Marsh, P. D., Meuric, V., Pedersen, A. M. L., Tonetti, M. S., Wade, W. G., & Zaura, E. (2016). The oral microbiome - An update for oral healthcare professionals. *British Dental Journal*, 221(10), 657–666. <https://doi.org/10.1038/sj.bdj.2016.865>

Kitamoto, S., Nagao-Kitamoto, H., Jiao, Y., Gilliland, M. G., Hayashi, A., Imai, J., Sugihara, K., Miyoshi, M., Brazil, J. C., Kuffa, P., Hill, B. D., Rizvi, S. M., Wen, F., Bishu, S., Inohara, N., Eaton, K. A., Nusrat, A., Lei, Y. L., Giannobile, W. V., & Kamada, N. (2020). The Intermucosal Connection between the Mouth and Gut in Commensal Pathobiont-Driven Colitis. *Cell*, 182(2), 447–462.e14. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.05.048>

Koopaie, M., Kolahdooz, S., Fatahzadeh, M., & Manifar, S. (2022). Salivary biomarkers in breast cancer diagnosis: A systematic review and diagnostic meta-analysis. *Cancer Medicine* (Vol. 11, Number 13, pp. 2644–2661). John Wiley and Sons Inc. <https://doi.org/10.1002/cam4.4640>

Krishnan, K., Chen, T., & Paster, B. J. (2017). A practical guide to the oral microbiome and its relation to health and disease. *Oral Diseases*, 23(3), 276–286.

Kumar, P. S., & Mason, M. R. (2015). Mouthguards: Does the indigenous microbiome play a role in maintaining oral health? *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 5(MAY). <https://doi.org/10.3389/fcimb.2015.00035>

Kumari, S., Samara, M., Ampadi Ramachandran, R., Gosh, S., George, H., Wang, R., Pesavento, R. P., & Mathew, M. T. (2024b). A review on saliva-based health diagnostics: Biomarker selection and future directions. *Biomedical Materials and Devices*, 2(1), 121–138. <https://doi.org/10.1007/s44174-023-00090-z>

Lamont, R. J., Koo, H., & Hajishengallis, G. (2018). The oral microbiota: Dynamic communities and host interactions. *Nature Reviews Microbiology*, 16(12), 745–759. <https://doi.org/10.1038/s41579-018-0089-x>

Li, X., Liu, Y., Yang, X., Li, C., & Song, Z. (2022). The oral microbiota: Community composition, influencing factors, pathogenesis, and interventions. *Frontiers in Microbiology*, 13, Article 895537. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.895537>

Lv, C., Wang, Z., Li, Z., Shi, X., Xiao, M., & Xu, Y. (2025). Formation, architecture, and persistence of oral biofilms: Recent scientific discoveries and new strategies for their regulation. *Frontiers in Microbiology*, 16, Article 1602962. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2025.1602962>

Lyngø Pedersen, A. M., & Belstrøm, D. (2019). The role of natural salivary defences in maintaining a healthy oral microbiota. *Journal of Dentistry*, 80, S3–S12. <https://doi.org/10.1016/j.jdent.2018.08.010>

Manos, J. (2022). The human microbiome in disease and pathology. *APMIS*, 130(12), 690–705. <https://doi.org/10.1111/apm.13225>

Marsh, P. D. (2018). In sickness and in health—What does the oral microbiome mean to us? An ecological perspective. *Advances in Dental Research*, 29(1), 60–65. <https://doi.org/10.1177/0022034517735295>

Mark Welch, J. L., Rossetti, B. J., Rieken, C. W., Dewhirst, F. E., & Borisy, G. G. (2016). Biogeography of a human oral microbiome at the micron scale. *PNAS*, 113(6), E791–E800. <https://doi.org/10.1073/pnas.1522149113>

Mark Welch, J. L., Dewhirst, F. E., & Borisy, G. G. (2019). Biogeography of the oral microbiome: The site-specialist hypothesis. *Annual Review of Microbiology*, 73, 335–358. <https://doi.org/10.1146/annurev-micro-090817-062503>

Moon, J. H., & Lee, J. H. (2016). Probing the diversity of healthy oral microbiome with bioinformatics approaches. *BMB Reports*, 49(12), 662–670

Nagi, M., Chapple, I. L. C., Sharma, P., Kuehne, S. A., & Hirschfeld, J. (2023). Quorum sensing in oral biofilms: Influence on host cells. *Microorganisms*, 11(7), Article 1688. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11071688>

Nonaka, T., & Wong, D. T. W. (2022). Saliva diagnostics. *Annual Review of Analytical Chemistry*, 15(1), 107–121. <https://doi.org/10.1146/annurev-anchem-061020-014704>

Palmer, R. J., Jr. (2014). Composition and development of oral bacterial communities. *Periodontology* 2000, 64(1), 20–39. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0757.2012.00453.x>

Paluszkiwicz, C., Pięta, E., Woźniak, M., Piergies, N., Koniewska, A., Ściarski, W., Misiółek, M., & Kwiatek, W. M. (2020). Saliva as a first-line diagnostic tool: A spectral challenge for identification of cancer biomarkers. *Journal of Molecular Liquids*, 307. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2020.112961>

Paqué, P. N., Herz, C., Jenzer, J. S., Wiedemeier, D. B., Attin, T., Bostanci, N., Belibasakis, G. N., Bao, K., Körner, P., Fritz, T., Prinz, J., Schmidlin, P. R., Thurnheer, T., Wegehaupt, F. J., Mitsakakis, K., & Peham, J. R. (2020b). Microbial analysis of saliva to identify oral diseases using a point-of-care compatible qPCR assay. *Journal of Clinical Medicine*, 9(9), 1–17. <https://doi.org/10.3390/jcm9092945>

Patil, S., Albogami, S., Hosmani, J., Mujoo, S., Kamil, M. A., Mansour, M. A., Abdul, H. N., Bhandi, S., & Ahmed, S. S. S. J. (2022). Artificial intelligence in the diagnosis of oral diseases: Applications and pitfalls. *Diagnostics*, 12(5), Article 1029. <https://doi.org/10.3390/diagnostics12051029>

Patini, R., Staderini, E., Lajolo, C., Lopetuso, L., Mohammed, H., Rimondini, L., et al. (2018). Relationship between oral microbiota and periodontal disease: a systematic review. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, 22(18), 5775–5788.

Perera, M., Al-Hebshi, N. N., Speicher, D. J., Perera, I., & Johnson, N. W. (2016). Emerging role of bacteria in oral carcinogenesis: A review with special reference to perio-pathogenic bacteria. *Journal of Oral Microbiology*, 8(1), Article 32762. <https://doi.org/10.3402/jom.v8.32762>

Pittman, T. W., Decsi, D. B., Punyadeera, C., & Henry, C. S. (2023). Saliva-based microfluidic point-of-care diagnostic. *Theranostics*, 13(3), 1091–1108. <https://doi.org/10.7150/thno.79355>

Polizzi, A., Donzella, M., Nicolosi, G., Santonocito, S., Pesce, P., & Isola, G. (2022). Drugs for the quorum sensing inhibition of oral biofilm: New frontiers and insights in the treatment of periodontitis. *Pharmaceutics*, 14(12), Article 2740. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics14122740>

Preidis, G. A., & Versalovic, J. (2009). Targeting the Human Microbiome With Antibiotics, Probiotics, and Prebiotics: Gastroenterology Enters the Metagenomics Era. *Gastroenterology*, 136(6), 2015–2031. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2009.01.072>

Proctor, D. M., Fukuyama, J. A., Loomer, P. M., Armitage, G. C., Lee, S. A., Davis, N. M., Ryder, M. I., Holmes, S. P., & Relman, D. A. (2018). A spatial gradient of bacterial diversity in the human oral cavity shaped by salivary flow. *Nature Communications*, 9, 681. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-02900-1>

Rajasekaran, J. J., Krishnamurthy, H. K., Bosco, J., Jayaraman, V., Krishna, K., Wang, T., & Bei, K. (2024). Oral microbiome: A review of its impact on oral and systemic health. *Microorganisms*, 12(9), Article 1797. <https://doi.org/10.3390/microorganisms12091797>

Rocha, V. A., Freitas, P., Silva, I. A., & Bueno, M. (2022). Salivary biomarkers in pain assessment: An integrative review. *ACTA Paulista de Enfermagem*, 35, Article eAPE03203. <https://doi.org/10.37689/acta-ape/2022AR03203>

Rosier, B. T., Marsh, P. D., & Mira, A. (2018). Resilience of the oral microbiota in health: Mechanisms that prevent dysbiosis. *Journal of Dental Research*, 97(4), 371–380. <https://doi.org/10.1177/0022034517742139>

Samaranayake, L., & Matsubara, V. H. (2017). Normal oral flora and the oral ecosystem. *Dental Clinics of North America*, 61(2), 199–215. <https://doi.org/10.1016/j.cden.2016.11.002>

Santacroce, L., Passarelli, P. C., Azzolino, D., Bottalico, L., Charitos, I. A., Cazzolla, A. P., Colella, M., Topi, S., Godoy, F. G., & D'Addona, A. (2023). Oral microbiota in human health and disease: A perspective. *Experimental Biology and Medicine*, 248(15), 1288–1301. <https://doi.org/10.1177/15353702231187645>

Scannapieco, F. A., & Dongari-Bagtzoglou, A. (2021). Dysbiosis revisited: Understanding the role of the oral microbiome in the pathogenesis of gingivitis and periodontitis: A critical assessment. *Journal of Periodontology*, 92(8), 1071–1078. <https://doi.org/10.1002/JPER.21-0120>

Segata, N., Haake, S. K., Mannon, P., Lemon, K. P., Waldron, L., Gevers, D., Huttenhower, C., & Izard, J. (2012). Composition of the adult digestive tract bacterial microbiome based on seven mouth surfaces, tonsils, throat and stool samples. *Genome Biology*, 13(6). <https://doi.org/10.1186/gb-2012-13-6-r42>

Shinde, D. B., Mahore, J. G., Giram, P. S., Singh, S. L., Sharda, A., Choyan, D., & Musale, S. (2024). Microbiota of saliva: A non-invasive diagnostic tool. *Indian Journal of Microbiology*, 64(2), 328–342. <https://doi.org/10.1007/s12088-024-01219-4>

Simon, J. C., Marchesi, J. R., Mougél, C., & Selosse, M. A. (2019). Host-microbiota interactions: From holobiont theory to analysis. *Microbiome*, 7(1). <https://doi.org/10.1186/s40168-019-0619-4>

Solbiati, J., & Frias-Lopez, J. (2018). Metatranscriptome of the oral microbiome in health and disease. *Journal of Dental Research*, 97(5), 492–500.

Song, M., Bai, H., Zhang, P., Zhou, X., & Ying, B. (2023). Promising applications of human-derived saliva biomarker testing in clinical diagnostics. *International Journal of Oral Science*, 15(1), Article 2. <https://doi.org/10.1038/s41368-022-00209-w>

Surdu, A., Foia, L. G., Luchian, I., Trifan, D., Tatarciuc, M. S., Scutariu, M. M., Ciupilan, C., & Budala, D. G. (2025). Saliva as a diagnostic tool for systemic diseases—A narrative review. *Medicina*, 61(2), Article 243. <https://doi.org/10.3390/medicina61020243>

Takahashi, N. (2015). Oral microbiome metabolism: from "who are they?" to "what are they doing?". *Journal of Dental Research*, 94(12), 1628–1637.

Thambugala, K. M., Daranagama, D. A., Phillips, A. J. L., Kannangara, S. D., & Promputtha, I. (2020). Fungi vs. fungi in biocontrol: An overview of fungal antagonists applied against fungal plant pathogens. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 10, Article 604923. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2020.60492>

Thomas, C., Minty, M., Vinel, A., Canceill, T., Loubières, P., Burcelin, R., Kaddech, M., Blasco-Baque, V., & Laurencin-Dalicioux, S. (2021). Oral microbiota: A major player in the diagnosis of systemic diseases. *Diagnostics*, 11(8), Article 1376. <https://doi.org/10.3390/diagnostics11081376>

Tian, S., Ding, T., & Li, H. (2024). Oral microbiome in human health and diseases. *mLife*, 3(3), 367–383. <https://doi.org/10.1002/mlf2.12136>

Tinahones Madueño, F. J. (2023). Nutrición y microbiota. *Nutricion Hospitalaria*, 40(2), 9–11. <https://doi.org/10.20960/nh.04946>

Tu, M., Cheng, J., Chen, Y. L., Jea, W. C., Chen, W. L., Chen, C. J., Ho, C. L., Huang, W. L., Lin, C. C., Su, W. C., Ye, Q., Deignan, J., Grody, W., Li,

F., Chia, D., Wei, F., Liao, W., Wong, D. T. W., & Strom, C. M. (2020). Electric field-induced release and measurement (EFIRM): Characterization and technical validation of a novel liquid biopsy platform in plasma and saliva. *Journal of Molecular Diagnostics*, 22(8), 1050-1062. <https://doi.org/10.1016/j.jmoldx.2020.05.005>

Wade, W. G. (2013). The oral microbiome in health and disease. *Pharmacological Research*, 69(1), 137–143. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2012.11.006>

Wang, K., Peng, Z., Lin, X., Nian, W., Zheng, X., & Wu, J. (2022). *Electrochemical Biosensors for Circulating Tumor DNA Detection*. *Biosensors*, 12(8). <https://doi.org/10.3390/bios12080640>

Xu, P., & Gunsolley, J. (2014). Application of metagenomics in understanding oral health and disease. *Virulence*, 5(3), 424-432.

Yonatan, Y., Amit, G., Friedman, J., & Bashan, A. (2021). *Complexity-stability relationship in empirical microbial ecosystems* [Preprint]. bioRxiv. <https://doi.org/10.1101/2021.07.29.454345>

Yue, Z., Li, C., Yan, F., Guan, S., Fan, Y., & Chen, X. (2025). The oral microbiome in aging: A window into health and longevity. *Journal of Oral Microbiology*, 17(1), Article 2589648. <https://doi.org/10.1080/20002297.2025.2589648>

Zaneveld, J., Turnbaugh, P. J., Lozupone, C., Ley, R. E., Hamady, M., Gordon, J. I., & Knight, R. (2008). Host-bacterial coevolution and the search for new drug targets. *Current Opinion in Chemical Biology*, 12(1), 109–114. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2008.01.015>

Zarco, M. F., Vess, T. J., & Ginsburg, G. S. (2012). The oral microbiome in health and disease and the potential impact on personalized dental medicine. *Oral Diseases*, 18(2), 109–120. <https://doi.org/10.1111/j.1601-0825.2011.01851.x>

Zhang, B., Liu, Y., Zhou, D., Lv, Y., Cao, M., Li, H., Yang, Z., Liu, Z., Yin, H., Wang, X., Huang, Z., & Meng, D. (2026). *The role of quorum sensing in rhizosphere community regulation during bacterial wilt pathogen invasion*. *Frontiers in Plant Science*, 17. <https://doi.org/10.3389/fpls.2026.1685007>

Zhang, X., Li, Q., Xia, S., He, Y., Liu, Y., Yang, J., & Xiao, X. (2024). Proton pump inhibitors and oral-gut microbiota: From mechanism to clinical significance. *Biomedicines*, 12(10), Article 2271. <https://doi.org/10.3390/biomedicines12102271>

Zhao, Z. Z., Shan, W., Guo, L., Chu, C. H., & Zhang, J. (2025). Quorum sensing in *Porphyromonas gingivalis* and oral microbial interactions: A scoping review. *Frontiers in Oral Health*, 6, Article 1573863. <https://doi.org/10.3389/froh.2025.1573863>

Zhou, S., Tu, D., Liu, Y., You, W., Zhang, Y., Zheng, W., & Chen, X. (2021). *Ultrasensitive Point-of-Care Test for Tumor Marker in Human Saliva Based on Luminescence-Amplification Strategy of Lanthanide Nanoprobes*. *Advanced Science*, 8(5). <https://doi.org/10.1002/adv.202002657>

Zhou, Y., & Liu, Z. (2023). Saliva biomarkers in oral disease. *Clinica Chimica Acta*, 548, Article 117503. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2023.117503>

Zielińska, K., Udekwu, K. I., Rudnicki, W., Frolova, A., & Łabaj, P. P. (2025). Healthy microbiome - Moving towards functional interpretation. *GigaScience*, 14. <https://doi.org/10.1093/gigascience/giaf015>

